

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ С КУРСОМ ПОВЫШЕНИЯ  
КВАЛИФИКАЦИИ И ПЕРЕПОДГОТОВКИ

**О. М. ВЕРГУН**

# **ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

Допущено Министерством образования Республики Беларусь  
в качестве учебного пособия для студентов учреждений  
высшего образования по специальности «Фармация»



Минск БГМУ 2025

УДК 615.9:54(075.8)

ББК 52.81+24я73

В31

Рецензенты: канд. биол. наук, доц., директор Национальной антидопинговой лаборатории Ю. Г. Походня; каф. фармации Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета

**Вергун, О. М.**

В31 Токсикологическая химия : учебное пособие / О. М. Вергун. – Минск : БГМУ, 2025. – 226 с.

ISBN 978-985-21-1981-8.

В основу учебного пособия легли основные разделы токсикологической химии и судебно-химического анализа.

Последовательность изложения материала определяется общепринятой классификацией токсических веществ по методам изолирования: «металлические» яды, «летучие» яды, лекарственные и наркотические средства, кислоты, щелочи, средства сельскохозяйственной химии и др. Особое внимание уделено биохимической токсикологии: процессам токсикодинамики, токсикокинетики, процессам биотрансформации чужеродных веществ, оказанию неотложной помощи при химической травме, антидотной терапии. Рассматриваются современные инструментальные методы исследования биологического материала на выявление, доказательство и количественную оценку содержания токсиканта в биологических средах человеческого организма.

Предназначено для студентов фармацевтического факультета, врачей лабораторной диагностики химико-токсикологических лабораторий, судебных медицинских экспертов-химиков.

УДК 615.9:54(075.8)

ББК 52.81+24я73

ISBN 978-985-21-1981-8

© Вергун О. М., 2025

© УО «Белорусский государственный медицинский университет», 2025

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Вся гордость учителя в учениках,  
в росте посеянных им семян.  
*Дмитрий Иванович Менделеев,*  
*русский ученый-химик, энциклопедист*

Несколько десятилетий назад планируемые результаты образования определялись на основе знаний, умений и навыков, которыми овладел студент к моменту окончания университета. В реальности основное внимание уделялось передаче знаний, и выпускник не всегда мог применить их на практике. С развитием информационных технологий, изменением требований рынка профессий этот подход к образованию себя изжил.

В последнее время в педагогической науке активно обсуждается вопрос о том, как улучшить качество образования. Нынешний студент не всегда может распознать реальные проблемы в ходе ежедневных дел, сформулировать, в чем заключается их суть, преобразовать сложные ситуации в задачи и искать решения, действовать на основе полученных им знаний, оценивать итоги своих действий. Все вышеперечисленное подчеркивает важность организации образовательного процесса.

Надеюсь, что данное учебное пособие доказывает компетентность — совокупность знаний, умений, навыков, необходимых для эффективного изучения токсикологической химии, развивает компетенцию — способность применять знания и умения, а также совершенствовать личностные качества и ценностные ориентиры. Именно такое равновесие обеспечивает способность эффективно находить и применять нужную информацию в ходе познавательной деятельности с учетом образовательной программы и методических рекомендаций; умение поставить учебную задачу, используя различные информационно-коммуникативные методы и приемы, качественно работать с имеющимися информационными ресурсами, повышать уровень профессионального мастерства с помощью самообразования.

Учебное пособие предназначено для студентов фармацевтического факультета, а также для всех, кто интересуется действием ядов, сильнодействующих лекарственных и наркотических средств на человеческий организм, исследованием биологического материала и объектов окружающей среды; может быть использовано специалистами в области химико-токсикологического и судебно-химического анализа.

Книга посвящается доктору медицинских наук, профессору Камышникову Владимиру Семеновичу, который впервые открыл курс обучения и повышения квалификации по дисциплине «Токсикологическая химия» для врачей химико-токсикологических лабораторий Министерства здравоохранения Республики Беларусь на кафедре лабораторной диагностики Белорусской медицинской академии последиplomного образования.

Доц. кафедры фармацевтической химии  
с курсом повышения квалификации  
Белорусского государственного медицинского университета,  
канд. биол. наук, доц. Ольга Михайловна Вергун

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ААС — атомно-абсорбционная спектроскопия  
АДГ — алкогольдегидрогеназа  
АЭС — атомно-эмиссионная спектроскопия  
ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография  
ГЖХ — газо-жидкостная хроматография  
ГХ — газовая хроматография  
ГХ/МС — газовая хроматография с масс-спектрометрией  
ГЭБ — гематоэнцефалический барьер  
ДТП — детектор по теплопроводности или катарометр  
ДХЭ — дихлорэтан  
ЖКТ — желудочно-кишечный тракт  
ИФА — иммуноферментный анализ  
ЛС — лекарственные средства  
НАА — нейтронно-активационный анализ  
ПГФ — парогазовая фаза  
ПДК — предельно допустимая концентрация  
ПВД — пламенно-ионизационный детектор  
ПФД — пламенно-фотометрический детектор  
ПФИА — поляризационный флюороиммуноанализ  
РИА — радиоиммуноанализ  
СФМ — спектрофотометрический метод в видимой, УФ- и ИК-областях  
СХИ — судебно-химические исследования  
СХЭ — судебно-химическая экспертиза  
ТВ — токсические вещества  
ТСХ — тонкослойная хроматография  
ФАА — фенилалкиламины  
ФОП — фосфоорганические пестициды  
ФОС — фосфоорганические соединения  
ХТА — химико-токсикологический анализ  
ЦНС — центральная нервная система  
ЧСС — частота сердечных сокращений  
ЭЗД — электроно-захватный детектор

## ВВЕДЕНИЕ

Токсикологическая химия — наука о химических превращениях токсических веществ и их метаболитов в организме, методах их выделения из объектов биологического происхождения, идентификации и количественного определения этих веществ.

С развитием химии, химической промышленности и фармации увеличилось число фармацевтических препаратов и веществ, применяемых в медицине и в различных отраслях народного хозяйства. Некоторые вещества, вырабатываемые химической промышленностью, могут загрязнять окружающую среду. Источником отравлений могут быть сточные воды промышленных предприятий, загрязняющие водоемы, вода которых употребляется населением и животными, вредные выбросы в атмосферу токсических веществ, поэтому напряженная для населения токсикологическая ситуация складывается вблизи индустриальных центров. Особое место занимает и сельскохозяйственная химия, применяемая для борьбы с сорняками и вредителями. Многие ядохимикаты, которыми обрабатывают растения, накапливаются в овощах, фруктах и других продуктах растительного и животного происхождения. Успехи в области синтеза химических соединений привели к пополнению ассортимента веществ, легальное использование которых ограничено или запрещено вообще. Не вызывает сомнений тот факт, что злоупотребление наркотическими средствами, психотропными и другими одурманивающими веществами в современном обществе является актуальной медицинской и социальной проблемой. Все это приводит к увеличению числа острых и хронических отравлений, которые могут закончиться летальным исходом.

Чаще всего предметом изучения токсикологической химии являются биологический материал человека, объекты окружающей среды, предметы бытовой и сельскохозяйственной химии, косметическая продукция, продукты питания, изделия медицинского назначения и прочее — все то, что может стать источником интоксикации или отравления.

Пособие предназначено для изучения основ токсикологической химии, с основными классами токсических соединений, их химико-токсикологической характеристикой, формирования ключевых знаний и навыков химико-токсикологического и судебно-химического анализа, необходимых для эффективного решения профессиональных задач и организации профессиональной деятельности на основе глубокого понимания законов функционирования органических систем.

Достижения в области токсикологической химии оказывают значительное влияние на успехи в диагностике и лечении интоксикаций, острых и хронических отравлений, состояний наркотического опьянения, в установлении причин смерти.

## ОБЩИЕ ВОПРОСЫ ПО ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

### Цели и задачи учебной дисциплины «Токсикологическая химия»

С развитием химии, химической промышленности и фармации увеличилось число фармацевтических препаратов и веществ, применяемых в медицине, быту и различных отраслях народного хозяйства. Некоторые вещества, вырабатываемые химической промышленностью, могут загрязнять окружающую среду и вызывать отравления.

Токсикологическая химия находится в тесной связи с развитием аналитической и физической химии, так как для определения токсических веществ в биологических объектах используются химические, физические и физико-химические методы.

**Целью изучения** дисциплины «Токсикологическая химия» является формирование знаний, умений и навыков проведения химико-токсикологических и судебно-химических исследований.

#### **Задачи дисциплины:**

1. Приобретение теоретических знаний о физических, химических и фармакологических свойствах лекарственных, наркотических средств и других токсических веществ.

2. Усвоение знаний о токсикологическом значении, токсикокинетике лекарственных, наркотических средств и других токсических веществ.

3. Приобретение знаний по общим правилам проведения судебно-химической экспертизы и химико-токсикологического анализа, правам и обязанностям судебных медицинских экспертов-химиков.

4. Формирование умения составлять план проведения исследования с применением комплекса химических и физико-химических методов исследования, изолировать токсические вещества из биологических объектов, проводить судебно-химическую экспертизу при направленном и ненаправленном анализе на токсические вещества, проводить химикотоксикологический анализ с целью диагностики острых отравлений, алкогольных и наркотических опьянений.

5. Развитие умения обрабатывать результаты качественного анализа и давать оценку положительным и отрицательным результатам анализа, проводить расчеты при использовании различных методов количественного определения токсических соединений, проводить интерпретацию полученных результатов, учитывая процессы биотрансформации токсических веществ.

Взаимосвязь токсикологической химии с фармацевтической химией обусловлена тем, что объектами химико-токсикологического анализа могут быть не только органы трупа, биологические жидкости, но и лекарственные средства, идентификация и количественный анализ которых проводится по методикам, описанным в Государственной фармакопее. Токсикологическая

химия является одним из разделов судебной медицины, так как при судебно-медицинской экспертизе биообъектов используются методы токсикологической химии.

### **История развития токсикологической химии**

В истории человечества при отравлении живых лиц или исследовании трупов часто возникала необходимость в проведении химического анализа ядовитых веществ, лекарств, частей растений. Производство таких исследований в XIX в. поручалось фармацевтам, и проводились они в аптеках.

В древности:

– Теофраст (372–287 гг. до н. э.) — ученик Аристотеля, описал ядовитые растения;

– Диоскорид (военный врач при дворе римского императора Нерона (37–68 гг.) классифицировал яды на животные, растительные и минеральные;

– Парацельс (1493–1541 гг.) изрек: «Все есть яд, одна лишь доза делает вещество или ядом, или лекарством».

В России в 1714 г. Петр I указал на необходимость судебно-медицинских вскрытий трупов лиц, погибших насильственной смертью; год становления судебной медицины в России. Узаконивание исследований в трупном материале в России произошло раньше, чем в других европейских странах и Америке. В 1797 г. учреждены врачебные управы и введена должность врачебного инспектора и штатного фармацевта, на которых возлагалось производство химических исследований и открытие ядов. Специализированных лабораторий при управе не было. С 1808 г. при медицинских факультетах университетов были созданы фармацевтические отделения для подготовки фармацевтов. В задачи фармации в то время входило и открытие ядов, т. е. судебная химия.

Необходимо отметить видных деятелей в области судебно-химической экспертизы: профессора А. А. Иовского, А. В. Степанова, А. П. Нелюбина, Ю. К. Траппа, А. П. Дианина, Г. Л. Драгендорфа, который впервые выделил судебную химию из фармации и читал ее как отдельный предмет. В 1920 г. на химико-фармацевтическом факультете 2-го Московского госуниверситета и в Петроградском химико-фармацевтическом институте были созданы первые кафедры судебной химии. Судебная химия вошла в план подготовки специалистов с высшим образованием. В 1932 г. в Москве создан Государственный НИИ судебной медицины МЗ СССР, который осуществлял и координировал всю научную работу по судебной медицине и судебной химии.

Значительный вклад в развитие токсикологической химии внесли ученые — авторы учебников «Судебная химия» (А. В. Степанов), «Токсикологическая химия» (М. Д. Швайкова), «Токсикологическая химия»

(В. Ф. Крамаренко). Современные учебники подготовили авторские коллективы под руководством профессора Т. В. Плетеновой (Токсикологическая химия, 2008) и профессора Н. И. Калетиной (Токсикологическая химия, 2008 г.). Издан учебник Т. Х. Вергейчик под редакцией профессора Е. Н. Вергейчика (Токсикологическая химия, 2009 г.), профессора А. И. Жебентяева (Токсикологическая химия (в двух частях), 2014). Научными центрами в области токсикологической химии являются кафедры (курсы) токсикологической химии фармацевтических университетов (академий).

## **ОСНОВНЫЕ РАЗДЕЛЫ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ: АНАЛИТИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ**

Основные направления:

1. Теоретическая токсикология (токсикокинетика, токсикодинамика).
2. Профилактическая токсикология (коммунальная, промышленная, бытовая, пищевая и др.).
3. Клиническая токсикология (химические, лекарственные болезни, токсикомания).
4. Экспертиза алкогольного, наркотического и лекарственного опьянения (лечение и профилактика алкоголизма, токсикоманий, наркоманий, метадонная заместительная терапия).
5. Судебная медицина (смертельные отравления, судебная медицинская токсикологическая химия).

*Биохимическая токсикология* — область науки о механизмах взаимодействия токсических веществ и живого организма, т. е. токсикокинетика и токсикодинамика ксенобиотиков и их метаболитов.

*Аналитическая токсикология* (химико-токсикологический анализ) — раздел токсикологической химии, в котором рассматриваются способы и методы аналитической химии в применении к биологическим объектам.

Основным этапом в химико-токсикологическом и судебно-химическом исследованиях является подготовка объекта к анализу. Для извлечения токсического вещества из биоматериала используют различные подходы: дистилляцию, минерализацию, экстракцию, сорбцию и другие методы.

Основные направления использования химико-токсикологического анализа:

1. Судебно-химическая экспертиза (в судебно-химических лабораториях).
2. Аналитическая химическая диагностика острых отравлений (в химико-токсикологических лабораториях).
3. Химико-токсикологическая диагностика наркомании и токсикомании (в химико-токсикологических лабораториях наркологических диспансеров).

4. Экотоксикологическое направление связано с исследованием влияния токсических веществ на организм человека в производственных условиях, а также с влиянием токсикантов, содержащихся в объектах окружающей среды (проводится в токсикологических лабораториях Центров санитарии и гигиены).

5. Химико-криминалистическая экспертиза вещественных доказательств проводится в управлении криминалистических экспертиз.

6. Наличие и содержание допинговых средств (не представляющих опасность для организма) в биологических пробах спортсменов — антидопинговая лаборатория. В Республике Беларусь в функции лаборатории включен контроль качества выполнения химико-токсикологических исследований для живых лиц.

7. Научно-исследовательские лаборатории при Академии Наук и других научно-практических центрах (изучение микроэлементарного состава организмов, токсинов растений, ядов животного происхождения и пр.).

## Яды и их классификации

*Ядовитым веществом, или ядом*, называют вещество, которое, будучи введено в организм в малых количествах и действуя при определенных условиях на организм, способно вызвать болезнь или смерть либо смерть потомства.

*Отравлением, или интоксикацией*, называют нарушение функций организма под влиянием токсиканта, что может закончиться расстройством здоровья или смертью.

**Классификации ядов.** В соответствии с **общей классификацией** яды разделяют на группы по критериям.

*По химической классификации* яды делят на:

1. Неорганические яды («металлические» яды, кислоты, щелочи, соли, соединения фтора, серы).

2. Яды органической природы:

а) органические кислоты, спирты алифатического ряда, галогенпроизводные углеводороды и др.;

б) лекарственные средства, наркотические вещества, пестициды.

3. Элементарноорганические яды (тетраэтилсвинец, этилмеркурхлорид и др.).

В основе *гигиенической классификации* лежит количественная оценка токсичности веществ в соответствии со значениями токсикологических параметров (полулетальная доза (DL 50), предельно допустимая концентрация (ПДК) и др.). Различают яды особо токсичные, высокотоксичные, умеренно токсичные, малотоксичные. Например, к особо токсичным относят зарин, кураре, пестициды дихлофос, метафос и др. Такая классификация носит условный характер.

*Токсикологическая классификация:*

- яды нервнопаралитического действия — боевые отравляющие вещества (группа фосфоорганических соединений (зарин, зоман и др.);
- кожно-резорбтивного действия — иприт, лоизит и др.;
- общетоксического действия — синильная кислота, этанол, хлорциан и др.;
- удушающего действия — фосген, оксиды азота, хлор и др.;
- слезоточивого и раздражающего действия — ирританты, полицейские газы: хлорпикрин, хлорацетофенон (CN, «черемуха»);
- психотропные — диэтиламид лизергиновой кислоты.

Классификация ядов по *избирательной токсичности* основана на взаимодействии ядов с рецепторами токсичности, расположенными в органах/системах-мишенях:

- кардиотоксическое действие оказывают сердечные гликозиды, трициклические антидепрессанты;
- нейротоксическое — транквилизаторы, снотворные, ФОСы, наркотические анальгетики, спирты и др.;
- гепатотоксическое — органические растворители, спирты;
- нефротоксическое — соли тяжелых металлов;
- гастроэнтеротоксическое — концентрированные кислоты и щелочи.

**Специальные классификации** отражают связь между отдельными свойствами (признаками) веществ и проявлениями их токсичности. Например, патоморфологическая — по типу развития гипоксии, патохимическая — по механизму взаимодействия с ферментными системами, биологическая — по характеру биологического последствия отравлений.

Большое значение для профилактики отравлений имеет практическая классификация *по цели применения*:

1. Промышленные яды (взаимодействие организма с органическими растворителями, химическими реактивами).
2. Ядохимикаты (взаимодействие с веществами, применяемыми для борьбы с вредителями сельского хозяйства).
3. Лекарственные средства.
4. Бытовые химикаты (средства санитарии, косметики, парфюмерии).
5. Боевые отравляющие вещества (иприт, зарин и др.).
6. Биологические растительные и животные яды, которые содержатся в растениях, грибах, животных и насекомых.

Все токсикологически значимые ядовитые вещества в токсикологической химии классифицируются *по методам изолирования*:

1. Вещества, определяемые после минерализации: «металлические» или «минеральные» яды (Sb, Pb, Ba, Mn, Cr, Ag, Cu, Cd, Bi, Zn, Tl, Hg).
2. Вещества, изолируемые перегонкой с водяным паром («летучие» яды).

3. Вещества, изолируемые полярными растворителями (подкисленным спиртом или подкисленной водой, спиртом): нейтральные органические соединения, органические кислоты и основания, амфолиты.

4. Вещества, изолируемые из биологического материала различными органическими растворителями (ядохимикаты).

5. Вещества, требующие особых методов изолирования (соли фторо- и кремнефтороводородной кислот).

6. Вещества, определяемые в биоматериале без выделения (метгемоглобинообразующие яды: анилин, карбоксигемоглобин — после действия оксида углерода (II), степень гемолиза (разрушения эритроцитов) — после действия токсинов грибов, укусов ядовитыми змеями, активность ферментов — после воздействия на организм фосфорорганических соединений (ФОСов)).

## **ОТРАВЛЕНИЯ И ИХ КЛАССИФИКАЦИИ. ХАРАКТЕР И ПРИЧИНЫ ОТРАВЛЕНИЙ. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИЯХ**

### **Классификация отравлений:**

1. По причине и месту возникновения:

– случайные (производственные или профессиональные, бытовые, медицинские ошибки). К бытовым отравлениям относятся отравления спирто-содержащей продукцией, лекарственными и одурманивающими веществами;

– преднамеренные (криминальные — с целью убийства или приведения в беспомощное состояние; суицидальные — с целью самоубийства; полицейские (слезоточивый газ); боевые (химическое оружие).

2. По способам поступления яда в организм: пероральные, ингаляционные, перкутаные (чрезкожные), инъекционные, полостные (через прямую кишку, влагалище), экзогенные (из окружающей среды), эндогенные (токсические метаболиты).

3. По тяжести: средней тяжести, тяжелые, крайне тяжелые, смертельные.

4. Различают также острые и хронические отравления. К острым отравлениям можно отнести случайные, криминальные, суицидальные отравления. Хронические отравления развиваются вследствие длительного воздействия токсических веществ, например, производственные.

**Характер отравлений.** Особую актуальность проблема острых и хронических отравлений приобрела в последние годы вследствие накопления огромного количества химических веществ (~6 млн). Возрастает число острых отравлений у детей (до 80 % из-за приема лекарственных средств (ЛС), оставленных в доступном месте, или передозировки ЛС). Ежегодно регистрируют отравления от укусов ядовитых насекомых, змей, употребление в пищу ядовитых растений, грибов.

**Причины отравлений.** Причины острых отравлений можно разделить на 2 категории: субъективные — непосредственно зависящие от поведения пострадавшего, объективные — вызванные сложившейся «токсической ситуацией». Субъективные связаны с самоотравлением в результате случайного или преднамеренного (самолечение или самоубийство) приема внутрь различных ядов.

Бытовые отравления — 98 % всех отравлений в мире. Профессиональные отравления, связанные с производством, имеют хронический характер, и число их уменьшается из-за введения и соблюдения правил техники безопасности и контроля. Криминальные случаи острых отравлений в настоящее время стали редкими в связи с достижениями судебно-химической экспертизы (СХЭ) и строгим юридическим контролем за хранением высокотоксичных веществ и сильнодействующих лекарственных средств.

Среди объективных причин возникновения отравлений и формирования наркотической и лекарственной зависимостей, во-первых, напряженность современных условий жизни, вызывающая у людей потребность в постоянном приеме успокоительных; во-вторых, плохо контролируемая продажа некоторых лекарственных средств (например, корвалол (фенобарбитал).

Особое место отводится алкоголизму и токсикоманиям, которые в этом отношении следует считать факторами риска. В числе прочих причин отравлений особое место занимает самолечение, неконтролируемый прием ЛС. А также, согласно материалам судебно-медицинской экспертизы, основное место среди причин смертельных отравлений занимают отравления угарным газом, спиртами, кислотами, средствами сельскохозяйственной химии.

**Диагностические мероприятия при острых отравлениях.** Диагностика складывается из 3 основных видов диагностических мероприятий:

1. Клиническая диагностика врачом, оказывающим помощь на догоспитальном этапе или в стационаре. Основана на данных анамнеза, результатах осмотра места происшествия и клинической картины заболевания для выделения специфических симптомов отравления.

2. Лабораторная токсикологическая диагностика — это идентификация и количественное определение токсикантов в биообъектах (кровь, моча, спинномозговая жидкость и др.) врачами лабораторной диагностики.

3. Патоморфологическая диагностика направлена на обнаружение специфических посмертных признаков отравления токсическими веществами, проводится судебно-медицинскими экспертами.

## ПЕРВАЯ ПОМОЩЬ ПРИ ОТРАВЛЕНИЯХ

Широкое применение методов искусственной детоксикации (гемодиализ, гемосорбция) в реанимационных отделениях приводит к тому, что непосредственной причиной смерти становятся не острые проявления, а различные проявления в позднем периоде (через 1–2 недели). В соответствии с этим изменяется патоморфологическая картина острых отравлений.

Методы усиления естественных процессов детоксикации: промывание желудка, очищение кишечника, форсированный диурез, лечебная гипервентиляция, регуляция ферментативной активности, гипербарическая оксигенация.

*Очищение желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).* Возникновение рвотного рефлекса при некоторых острых отравлениях можно рассматривать как защитную реакцию, направленную на выведение токсического вещества. Процесс может быть усилен применением рвотных средств, промыванием желудка через зонд. При отравлениях прижигающими жидкостями акт рвоты является нежелательным (повторное прохождение кислот или щелочей по пищеводу может усилить ожог). Этого можно избежать зондовым методом промывания желудка. От промывания желудка отказываются, если прошло более двух часов с момента перорального отравления. Однако при аутопсии трупа даже спустя 2–3 сут после отравления в кишечнике можно обнаружить некоторое количество яда, если желудок не промывали. При тяжелых отравлениях наркотиками и фосфорорганическими средствами (ФОС), хлорированными углеводородами рекомендуется промывать желудок каждые 4–6 ч — из-за того, что ядовитое вещество может повторно поступать в желудок из кишечника в результате обратной перистальтики.

После промывания желудка рекомендуется введение внутрь энтеросорбентов или слабительных — для уменьшения всасывания и ускорения прохождения токсиканта через ЖКТ. Более надежный способ очищения кишечника — промывание с помощью прямого зондирования и введение специальных растворов в брюшную полость (кишечный лаваж, который проводится только в условиях стационара).

*Метод форсированного диуреза* — это универсальный способ ускоренного выведения из организма токсинов. Однако эффективность снижается в случае, когда химические вещества активно вступают в прочную связь с белками и липидами крови (при отравлениях производными бензодиазепамина, фенотиазина и др.). Метод форсированного диуреза противопоказан при интоксикациях, осложненных острой сердечно-сосудистой недостаточностью, нарушением функции почек из-за низкого объема фильтрации. У больных старше 50 лет, а также у людей с хроническими заболеваниями печени эффективность метода форсированного диуреза по той же причине заметно снижена.

*Лечебная гипервентиляция* может быть вызвана подключением больного к аппарату искусственной вентиляции легких (ИВЛ). Метод является

эффективным при острых отравлениях токсическими веществами, которые в значительной степени поступают или удаляются через легкие. Доказана эффективность этого метода при острых отравлениях спиртами, ацетоном, сероуглеродом, хлорированными углеводородами, угарным газом, растворителями для красок, бензином и др.

*Регуляция ферментативной активности.* С целью снижения токсического действия применяются индукторы или ингибиторы ферментов, оказывающие влияние на биотрансформацию ксенобиотиков. Индукторы применяются при отравлении веществами, метаболиты которых менее токсичны. Применяют фенобарбитал, бензонал, зиксорин (гепатопротектор). В митохондриях печени под их влиянием увеличивается уровень и активность цитохрома Р-450. Показано применение индукторов при отравлениях стероидными гормонами, анальгетиками типа антипирина, витамином D, противоопухолевыми и др.

*Гипербарическая оксигенация.* Метод в токсикогенной фазе может служить для усиления естественной детоксикации в случае образования не токсичных метаболитов. Если окисление токсичных веществ идет с образованием более токсичных метаболитов (по типу летального синтеза), то гипербарическая оксигенация не применяется. Имеются рекомендации по применению метода при отравлении СО, нитритами, нитратами. Продолжительность оксигенации — 40–50 мин.

## **МЕТОДЫ ИСКУССТВЕННОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ: АФЕРЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ, ДИАЛИЗ И ФИЛЬТРАЦИЯ КРОВИ (ЛИМФЫ), СОРБЦИЯ, ФИЗИОТЕРАПИЯ**

Методы детоксикации подразделяются на следующие группы: методы усиления естественных процессов детоксикации, методы искусственной детоксикации, методы антидотной детоксикации.

*Методы усиления естественных процессов детоксикации организма:* промывание желудка, очищение кишечника, форсированный диурез, лечебная гипервентиляция легких, регуляция ферментативной активности, лечебная гипо- и гипертермии, гипербарическая оксигенация, магнитная терапия, ультрафиолетовая гемотерапия.

*Методы искусственной детоксикации организма:*

1. Физические методы:

а) аферетические — разбавление и замещение крови (плазмы): замещение крови, плазмаферез, лечебная лимфорея, лимфостимуляция, перфузия лимфатической системы;

б) диализ и фильтрация крови (лимфы):

– экстракорпоральные методы: гемо- (плазма-, лимфо-) диализ, ультрафильтрация, гемофильтрация;

– интракорпоральные методы: перитонеальный диализ, кишечный диализ;

в) сорбция:

– экстракорпоральные методы: гемо- (плазма-, лимфо-) сорбция;

– интракорпоральные методы: энтеросорбция.

2. Химические — связывание, деактивация, нейтрализация (антитоды, энтеросорбенты, антиоксиданты).

3. Биологические — введение вакцин и сыворотки крови.

Методы искусственной детоксикации основаны на 3 явлениях: диализе, сорбции, замещении крови.

*Методы разбавления крови* (аферетические методы) применяются для уменьшения концентрации токсикантов (обильное питье, парентеральное введение водно-электролитных и плазмозамещающих растворов). Обычно такой подход — основа для последующего форсированного диуреза, гемодиализа и гемосорбции.

*Перитонеальный или брюшинный диализ* наиболее простой и общедоступный. Еще в 1924 г. была доказана возможность удаления из крови токсических веществ при промывании брюшной полости. Но опасность развития перитонита долго препятствовала широкому распространению метода. С 50-х гг. в связи с использованием антибиотиков метод начал чаще применяться. В настоящее время это один из основных хирургических методов искусственного очищения организма от токсических веществ. В клинической практике операция перитонеального диализа проводится как экстренное дезинтоксикационное мероприятие при любом виде острых отравлений, если получено достоверное лабораторное подтверждение наличия токсической концентрации химического вещества.

*Гемодиализ* проводится в ранней фазе острого отравления. Эффективность обусловлена способностью токсического вещества свободно проходить из крови через поры полимерной мембраны диализатора в диализирующую жидкость. Таким аппаратом является «искусственная почка». Широко применяется при отравлениях барбитуратами, уксусной кислотой, тяжелыми металлами, алифатическими спиртами (метанолом), ФОС, алкалоидами и др. Наблюдается значительное снижение концентрации веществ в крови и улучшение клинического состояния.

В 60-х гг. разработан *метод гемосорбции* — адсорбции токсикантов на поверхности твердой фазы. Практическое применение нашли ионообменные смолы, активированный уголь. Проводят с помощью детоксикатора, который представляет собой портативный передвижной аппарат с насосом для крови и набором колонок вместимостью 50–300 см<sup>3</sup>. Его подключают к кровотоку. Эффективность оценивают по динамике клинического состояния и данным лабораторно-токсикологического анализа. В зависимости от тяжести

состояния и скорости снижения концентрации вещества в крови производят от одного до трех подключений колонок на 15–30 мин для естественных сорбентов и до 3–4 ч — для синтетических. Наименьшее число осложнений при использовании синтетических сорбентов, так как характерна меньшая кинетика сорбции и, соответственно, меньше агрессивное влияние на кровь. Метод обладает рядом преимуществ по сравнению с методами гемо- и перитонеального диализа. Отличается технической простотой, высокой скоростью детоксикации, возможностью эффективного использования при отравлениях веществами, которые плохо или практически не диализируются в аппарате «искусственная почка» (фенотиазины, бензодиазепины, гликозиды наперстянки, салицилаты и др.).

Операция *замещения крови* является методом активной искусственной детоксикации. Но для полного замещения необходимо 10–15 л, то есть количество, в 2–3 раза превышающее объем циркулирующей крови (ОЦК). Учитывая трудности получения такого количества крови и опасность иммунологического конфликта, в практике замена крови используется в меньших размерах (1500–2500 мл), что приводит к удалению 10–15 % токсического вещества.

Метод *обменного плазмафереза* позволяет удалить токсические вещества, находящиеся в плазме крови. Основные этапы: сепарация плазмы с помощью центрифуги, возвращение форменных элементов в организм, переливание плазмозамещающих растворов или очищенной плазмы. Метод имеет как недостатки (многие токсические вещества могут сорбироваться на эритроцитах и возвращаться в организм), так и достоинства (малая опасность иммунологических конфликтов по сравнению с операцией замещения крови), однако этот метод оказался одним из наиболее эффективных при отравлении токсинами бледной поганки (альфа- и бета-аманитинами, фаллоидином, фаллоцидином), практически исключаям пересадку печени пострадавшим пациентам.

К новым способам искусственной детоксикации относится *детоксикационная лимфорея* (выведение из организма большого количества лимфы с последующим возмещением потери). В результате исследований установлено, что концентрация токсических веществ в лимфе и плазме крови примерно одинакова. Лимфу удаляют с помощью катетеризации грудного лимфопотока на шее (лимфодренаж). Возмещение потери лимфы (до 3–5 л в сутки), проводят с помощью в/в введения плазмозамещающих растворов.

Методы воздействия на систему крови физических факторов (лучевых, электромагнитных и др.) относят к *методам физиогемотерапии*. Наиболее доступным является метод УФ-облучения крови, предложенный еще в 1928 г. Применение улучшает реологические показатели крови и ее микроциркуляцию, повышается активность некоторых ферментов, насыщение крови

кислородом и ее антиоксидантная активность, что способствует общей детоксикации организма.

Выбор метода проводится с учетом физико-химических свойств токсических веществ, их концентрации в средах, клинической картины отравления и возможных отрицательных влияний на деятельность сердечно-сосудистой системы организма.

## **МЕТОДЫ АНТИДОТНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ. ОСОБЕННОСТИ АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ**

Детоксикация — обезвреживание токсических веществ и выведение их из организма. Методы детоксикации направлены на прекращение контакта токсического вещества с определенными функциональными системами организма.

При оказании неотложной помощи при острых отравлениях лечебные мероприятия направлены на ускоренное выведение токсических веществ и применение специфической (антидотной) фармакотерапии. Наибольший лечебный успех достигается в том случае, когда методы активной детоксикации применяются до полного распределения яда в организме при максимальной его концентрации в крови.

*Методы антидотной детоксикации:*

1. Химические противоядия и адсорбенты (токсикотропные):
  - контактного действия (активированный уголь и др.);
  - парентерального действия (унитиол, ЭДТА, тетацин и др.).
2. Биохимические (токсико-кинетические): реактиваторы холинэстеразы, налорфин, этиловый спирт, метиленовый синий, антиоксиданты и др.
3. Фармакологические антагонисты (симптоматические), например, атропин при отравлении фосфорорганическими веществами.
4. Антиоксидантная иммунотерапия.

Методы детоксикации производятся в клиниках специалистами-медиками. Эксперты-химики должны знать принципы методов, направленных на удаление токсикантов и их метаболитов из организма, так как в процессе детоксикации необходимо исследовать рвотные массы, промывные воды, мочу и другие жидкости для оценки распределения, метаболизма и элиминации токсиканта в организме.

**Антидот (противоядие)** — вещество либо лекарственное средство, способное ослаблять или устранять специфические эффекты чужеродного вещества (ксенобиотика), возникающие при его воздействии на организм.

*Особенности антидотной терапии:*

1. Антидотная терапия эффективна только в ранней токсикогенной фазе острых отравлений, длительность которой зависит от особенностей

токсического вещества. Наибольшая продолжительность этой фазы (следовательно, и сроков терапии) — при отравлении тяжелыми металлами, наименьшая — при отравлении высокотоксичными и быстрометаболизируемыми соединениями (цианиды, алкилгалогениды).

2. Антидотная терапия отличается высокой специфичностью и может применяться только при достоверности клинико-лабораторного диагноза.

3. Эффективность антидотной терапии значительно снижена при развитии тяжелых нарушений системы кровообращения и газообмена.

4. Антидотная терапия играет существенную роль в профилактике состояний необратимости при острых отравлениях (метанол — антидот: этанол).

Основные группы антидотов: химические, биохимические противоядия, фармакологические антагонисты, антиоксиданты, антиоксиданты, антиоксиданты сыворотки.

#### *Химические (токсикотропные) антидоты:*

1. Антидоты, оказывающие влияние на физико-химическое состояние токсического вещества в ЖКТ (химические противоядия контактного действия) — магнезия оксид, таннин, активированный уголь. Этот метод относят к методам искусственной детоксикации (энтеросорбция).

2. Антидоты, оказывающие специфическое физико-химическое действие на токсическое вещество в гуморальной среде (химические противоядия парентерального действия). К таким антидотам относятся тиоловые соединения (унитиол, меркаптамин), применяемые при отравлении тяжелыми металлами и мышьяком, и хелатообразователи для образования с солями свинца, кобальта, кадмия и других металлов нетоксичных соединений.

Среди химических антидотов выделяют специфические и неспецифические антидоты. К неспецифическим относятся вещества (активированный уголь, лигнин гидролизный и др.), способные адсорбировать токсиканты. Действие специфических химических антидотов основано на реакциях осаждения, комплексообразования, окислительно-восстановительных и кислотно-основных.

*Биохимические антидоты*, обеспечивающие выгодное изменение метаболизма токсических веществ в организме или направление биохимических реакций, в которых они участвуют (специфические метаболические антидоты) не влияют на физико-химическое состояние яда. Наибольшее применение находят реактиваторы холинэстеразы (оксимы) — при отравлениях ФОС, метиленовый синий (тетраметилтионина хлорид) — при отравлении метгемоглобинообразователями, этиловый спирт применяют при отравлениях метанолом и этиленгликолем, антиоксиданты — при отравлениях тетрахлолметаном. Метиленовый синий (тетраметилтионина хлорид) окисляет железо (II) гемоглобина, и образуется метгемоглобин, который с цианидами (метгемоглобинообразователи) образует прочный комплекс. Затем этот комплекс метаболизируется в печени до нетоксичных соединений. При

отравлениях соединениями меди вводят ионы цинка, которые катализируют синтез металлотионенинов, образующих прочные комплексы с ионами меди.

*Фармакологические противоядия* оказывают лечебный эффект в силу фармакологического антагонизма с действием токсических веществ на одни и те же функциональные системы организма. При отравлениях ФОС используется антагонизм между атропином и ацетилхолином. Атропин также применяется при отравлениях сердечными гликозидами, клофелином, пилокарпином. В качестве фармакологических антидотов применяются налоксон и налтрексон при отравлении наркотиками (блокаторы опиатных рецепторов), флумазенил (блокатор бензодиазепиновых рецепторов). Налтрексон является универсальным антагонистом опиоидных анальгетиков. Он в 2 раза активнее налоксона и действует более продолжительно (24–48 ч).

Применение фармакологических антагонистов позволяет купировать многие опасные симптомы отравления токсическими веществами, но редко приводит к ликвидации всей картины интоксикации, так как антагонизм обычно оказывается неполным. Кроме того, фармакологические антагонисты в силу их конкурентного действия должны применяться в больших дозах, чтобы превысить концентрацию токсического вещества, а это зачастую может быть тоже опасно для организма.

*Антитоксическая иммунотерапия* — применение антитоксических сывороток при отравлении животными ядами (противозмеиная сыворотка, противоякарующая и др.). Недостаток — малая эффективность при позднем применении и возможность развития у больных анафилактики.

## **Особенности химико-токсикологического анализа.**

### **Подходы и методы токсикологической химии.**

#### **Этапы химико-токсикологического исследования**

Химико-токсикологический анализ (ХТА) имеет ряд особенностей. Для предварительного качественного обнаружения токсических веществ в подготовленных извлечениях из биологического материала используется ряд реакций и методов из аналитической и фармацевтической химии. Однако многие эти реакции и методы, ввиду малой чувствительности или неспецифичности, недостаточны для выставления диагноза или заключения эксперта, необходимо проведение подтверждающих методов, более чувствительных и специфичных.

ХТА характеризуется разнообразием объектов исследования, содержащих незначительные количества токсических веществ. Они являются микрокомпонентами в большом количестве биоматериала. Прежде чем приступить к обнаружению и количественному определению, необходимо выделить их объекты. Выбор методов выделения зависит от характера объекта исследования. При использовании неподходящего метода вещество может быть

частично или полностью потеряно. Причем в ряде случаев для выделения одного и того же вещества из различных объектов необходимо применять разные методы.

Наряду с исследованием веществ, вызвавших отравление, необходимо выделять из биологического материала и определять их активные метаболиты.

Учитывая, что в трупном материале содержится незначительное количество вещества, вызвавшего отравление, для обнаружения необходимы чувствительные реакции. Но при использовании высокочувствительных реакций можно обнаружить не только вещество, вызвавшее отравление, но и некоторые сопутствующие вещества (соединения металлов, которые являются частью клеток и тканей, а также ЛС, принятые перед смертью в терапевтических дозах с лечебной целью. Поэтому эксперт-химик должен уметь правильно оценить результаты применяемых им реакций обнаружения исследуемых веществ.

Этапы химико-токсикологического исследования включают:

- 1) изолирование ядовитых и сильнодействующих веществ из биологического материала;
- 2) очистку и концентрирование выделенных из биологического материала веществ;
- 3) качественное обнаружение, подтверждение наличия;
- 4) количественное определение выделенных соединений.

Особенностью ХТА, в том числе наркотических веществ, является то, что он должен быть системным, то есть сопровождаться контролем каждой стадии анализа:

1. Отбора и хранения проб, предотвращающих попадание или потерю токсикантов.
2. Подготовки пробы к анализу для качественного открытия токсикантов.
3. Предварительных и подтверждающих методов анализа.
4. Количественной оценки. Обработки и выдачи результатов.

**Отбор образцов биологических объектов** (кровь, моча, слюна, промывные воды и др. биологические объекты) для ХТА производится с соблюдением правил:

- непосредственный отбор проб для исследования с учетом распределения токсических веществ (ТВ): в каком материале вероятнее всего можно обнаружить искомое вещество;
- правильность опечатывания объектов и оформление соответствующих сопроводительных документов;
- правильность доставки объектов: осуществляется медработником или курьером непосредственно после отбора проб с соблюдением условий, исключающих возможность механических повреждений флаконов или их подмены;

– в лабораторию биообразцы передаются в печатанном виде с письменным направлением, в котором должны быть указаны ФИО пациента, его возраст, вид биосреды, порядковый номер биосреды, количество, дата и время отбора, цель отбора;

– исследование образцов проходит сразу (или не позднее 3 сут с момента доставки);

– оставшаяся после исследования на этиловый спирт часть биообразца хранится в лаборатории в течении 35 сут при температуре не больше 4 °С.

**Подготовка пробы к анализу.** Специфической особенностью ХТА является необходимость проведения исследования в большинстве случаев не химически индивидуальных веществ, а их смесей с посторонними веществами. Это требует выделения токсического вещества из исследуемого объекта (с целью его изолирования и концентрирования) для последующего анализа и выдачи заключения. Методами преданалитической подготовки образца являются:

а) жидкость-жидкостная экстракция (ЖЖЭ);

б) твердофазная экстракция (ТФЭ);

в) твердожидкостная экстракция (ТЖЭ).

**Анализ пробы.** Скрининг — система методических приемов, позволяющая выбрать научно обоснованную последовательность операций, в результате которых поэтапно «отсеиваются» группы соединений и/или отдельные вещества. Этапы:

– проведение предварительных методов (для уменьшения ложноотрицательных результатов);

– проведение подтверждающих методов (для удаления ложноположительных результатов).

Основные методы скрининга: химические, иммунохимические, метод тонкослойной хроматографии (ТСХ), инструментальные методы исследования (газовая хроматография (ГХ), газовая хроматография с масс-спектрометрией (ГХ/МС), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией (ВЭЖХ/МС), спектральные методы).

Предварительные и подтверждающие методы должны быть различны. Подтверждающие должны обладать большей чувствительностью и специфичностью для открывшихся на предварительном исследовании веществ.

**Обработка результатов.** Количественное определение открывшихся веществ. Различные методы количественного определения токсического вещества в различных объектах (кровь, моча, волосы, ногти) позволят определить токсикогенную или соматогенную стадию и степень отравления, процессы метаболических превращений в организме. Используя полученные результаты, можно не только констатировать обнаружение или необнаружение

токсического вещества, но и по возможности определить время приема токсина, различить случаи хронического и разового приема и т. д.

Результаты исследований фиксируются в лаборатории (рабочие журналы или электронные базы); результаты химико-токсикологического лабораторного исследования биологических образцов выдаются лицам, назначившим эти исследования. Хранение данных составляет 25 лет.

### **ОБЪЕКТЫ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ИЛИ СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА. ОТБОР И ХРАНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕД. ОФОРМЛЕНИЕ ДОКУМЕНТАЦИИ**

Объектами ХТА для живых лиц являются биожидкости (кровь, моча, слюна, ликвор), смывы с рук и губ, промывные воды желудка, диализаты после перитонеального диализа, волосы, ногти, а также связанные с отравлением вещественные доказательства: ЛС, остатки пищи, растительные объекты, бытовая химия, пестициды и т. д. Исключение составляют продукты питания.

**Кровь:** отбирается пункцией из вены шприцом при соблюдении асептических условий и медленно помещается в подготовленный флакон. Дезинфекция кожи спиртом, эфиром, настойкой йода для исследования на наличие спиртов не допускается. Для обнаружения и количественного определения спиртов (этиловый спирт, этиленгликоль) сухой стеклянный флакон предварительно обрабатывают антикоагулянтом.

**Слюна:** один из объектов исследования при определении этанола. Установлено, что неионизированные формы токсических веществ, находящиеся в плазме крови, пассивно диффундируют в слюну, и есть прямая зависимость между концентрацией анализируемого вещества в крови и в слюне.

**Моча:** для исследований с целью определения этилового спирта, его суррогатов, лекарственных наркотических средств отбирается в чистый сухой флакон, который сразу укупоривается и опечатывается.

**Смывы с рук и губ** (например, при подозрении на курение гашиша): отбор пробы происходит путем обтирания ватными или марлевыми отдельными тампонами, смоченными этиловым спиртом (70 %), поверхности рук и лица вокруг губ курильщика. Спирт из тампонов испаряется при комнатной температуре. Тампоны упаковываются в отдельные полиэтиленовые пакеты, маркируются и опечатываются.

#### **Особенности доставки:**

– для судебно-химического исследования внутренние органы помещают в сухие широкогорлые емкости из полимерного материала и герметично закрывают;

– биологические жидкости допускается помещать в стеклянные флаконы. Нельзя использовать металлическую и керамическую посуду;

– сухие биологические материалы (волосы, ногти) помещают в конверты из кальки или пергаментной бумаги, в исключительных случаях — из писчей бумаги.

Каждую емкость опечатывают, прикрепляют бирку (№ емкости, наименование объекта, ФИО умершего (пострадавшего), № и дата регистрации материалов исследования, ФИО, должность направившего объект на исследование). Этикетку помещать внутрь емкости нельзя, можно только между крышками, если крышка двойная. Всю информацию следует продублировать в направлении на исследование с указанием кратких обстоятельств дела, если пациенту (умершему) вводились лекарственные средства. Этикетка не является направлением на исследование!

Доставку следует осуществить максимально быстро! Хранить биологические объекты необходимо в холодильнике 0 – ±5 °С.

Транспортировка только нарочным в специально опечатанных контейнерах (коробках, пакетах). Главное, ничего не повредить. По почте и в общественном транспорте транспортировка запрещена. Если транспортировка займет более 3 часов, нужен термоконтейнер.

## **ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВА СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКИХ ЭКСПЕРТИЗ**

Судебно-медицинская и судебно-химическая экспертиза имеет стройную организацию и в состоянии обеспечить выполнение всех требований, предъявляемых прокуратурой и судом к медицине и химии.

Организация судебной медицинской экспертизы определяется УК (уголовным кодексом) и УПК (уголовно-процессуальным кодексом) Республики Беларусь, а также рядом постановлений. До 1998 г. Государственная служба медицинских судебных экспертиз входила в состав МЗ Республики Беларусь. В 1998 г. в соответствии с Указом Президента Республики Беларусь № 532 от 06.11.1998 г. организована Белорусская Государственная служба судебно-медицинских экспертиз, которая в 2001 г. (Указ Президента Республики Беларусь № 808 от 29.12.2001 г.) преобразована в Государственную службу судебно-медицинских экспертиз (ГС МСЭ), затем 22.04.2013 г. указом президента № 202 образован Государственный комитет судебных экспертиз Республики Беларусь, куда вошли экспертные подразделения органов внутренних дел, служба судебно-медицинских экспертиз, экспертные отделы Министерства обороны и Министерства по чрезвычайным ситуациям, центр судебных экспертиз и криминалистики Министерства юстиции.

Государственный комитет судебных экспертиз (ГКСЭ) состоит из региональных управлений. В состав регионального управления ГКСЭ входят управления судебно-медицинских экспертиз, судебно-психиатрических экспертиз, лабораторных исследований вещественных доказательств биологического характера, криминалистических экспертиз, специальных и технических экспертиз и др. (рис. 1).



Рис. 1. Структура подчиненных лабораторий регионального управления ГКСЭ

Отдел судебно-химических экспертиз входит в состав Управления лабораторных исследований вещественных доказательств биологического характера (рис. 2).



Рис. 2. Управления лабораторных исследований вещественных доказательств биологического характера (эксперты-химики)

Деятельность управлений Государственного комитета судебных экспертиз направлена в основном на оказание помощи органам дознания, следствия и прокуратуры в осуществлении ими определенных задач.

Анализ биологических объектов на наличие токсических, в том числе и наркотических, веществ проводится в отделе судебно-химических экспертиз.

Определение токсикантов в различных биологических объектах и объектах окружающей среды проводится также в химико-токсикологических лабораториях (диагностика острых отравлений), токсикологических лабораториях, центрах гигиены и санитарии, аналитических лабораториях экологического направления.

## **Порядок проведения судебно-медицинской химической экспертизы, основания для ее проведения**

Эксперт-химик должен быть уверен в том, что исследуемый объект является тем, который был направлен на анализ с данными сопроводительными документами. Порядок проведения экспертизы:

1. Эксперт-химик должен ознакомиться с документами, представленными по делу, тщательно сверить надписи на банках с данными сопроводительных документов, проверить целостность печатей. Произвести наружный осмотр упаковки, вскрыть и осмотреть объекты исследования. При вскрытии химик должен соблюдать осторожность, чтобы не повредить тару объектов, не занести в объект части печати, упаковки, не утерять объекты исследования. Все свои наблюдения, полученные при осмотре вещественных доказательств, он подробно записывает в рабочий журнал и отражает в заключении. Следующий шаг — подробно описать содержимое каждой упаковки. Отмечается внешний вид, цвет, запах, консервирование объекта, наличие посторонних включений и т. д. Консервирование объектов исследования этанолом допускается в исключительных случаях (длительная, свыше 5 сут, транспортировка, жаркое время). При этом в обязательном порядке прилагается в отдельном флаконе с соответствующей пояснительной этикеткой чистый использованный консервант (для исключения заноса токсических веществ в биологический объект с консервантом).

2. После ознакомления с документацией и вещественными доказательствами химик составляет план анализа. При составлении плана химикотоксикологического анализа учитывают результаты предварительных испытаний: если это биологические жидкости — рН, растворимость образцов в воде; если порошки, таблетки — природа порошка (органические или неорганические вещества). Проводят предварительные пробы, имеющие отрицательное судебно-химическое значение и позволяющие сузить круг поиска токсического вещества (например, проба с дифениламином на наличие окислителей).

3. Экспертиза на анализ летучих и быстроразлагающихся органических веществ (растворители, синильная кислота, кокаин, атропин) должна быть начата в день поступления вещественных доказательств. В регистрационном и рабочем журналах отмечается дата поступления вещественных доказательств в лабораторию и дата начала и окончания судебно-химического исследования.

4. Для производства экспертизы расходуется  $\frac{2}{3}$  биологического объекта ( $\frac{1}{3}$  — для обнаружения яда,  $\frac{1}{3}$  — для количественного анализа). Одна треть может быть израсходована (в случае необходимости) для проверочного исследования или хранения в лаборатории.

При малых количествах материала эксперт имеет право израсходовать его полностью, указывая об этом в заключении. При отравлениях все органы исследуются раздельно (головной мозг, легкое, желудок с содержимым, тонкий кишечник, печень с желчным пузырем, почка с мочой и другие биологические жидкости).

5. Все проделанные операции, реакции, итоги наблюдений, расчеты эксперт-химик записывает в рабочем журнале.

6. С момента получения эксперт несет ответственность за сохранность вещественных доказательств:

– от преступных посягательств со стороны лиц, заинтересованных в подмене объектов исследования, их уничтожении, введении в них ядовитых или сильнодействующих веществ (для этого не должно быть посторонних лиц в помещении, где ведется экспертиза, комнату закрывает и опечатывает эксперт-химик);

– от попадания в объекты исследования искомым веществ (чистота посуды, реактивов);

– от ошибок, связанных с перепутыванием объектов или проб, от смешения различных объектов между собой.

Излишняя поспешность может привести к неправильной оценке результатов и направить следствие по ложному пути.

Документация судебно-химических экспертиз оформляется в соответствии с уголовно-процессуальным законодательством Республики Беларусь и инструктивно-методическими документами и приказами. Все вещественные доказательства, поступающие в лабораторию, и сопроводительные документы регистрируются по строго определенной форме. Регистрация проводится в специальной книге, пронумерованной и скрепленной печатью.

## **Объекты для проведения судебно-химической экспертизы.**

### **Правила изъятия, направления и доставки трупного материала на лабораторные исследования**

Отбор объектов для судебно-химических экспертиз регламентируется правилами судебно-медицинской экспертизы:

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

2. Органы нельзя обмывать водой и загрязнять химическими веществами или механическими примесями. Органы помещают в пластиковую посуду (сухие широкогорлые банки). Использование стеклянной, металлической или керамической посуды запрещается.

3. Внутренние органы извлекают после наложения двойных лигатур на пищевод, желудок, кишечник для предотвращения перемещения их содержимого.

4. Эксперт должен следить за тем, чтобы яд не был удален из трупа и не попал в него извне. Поэтому до вскрытия необходимо тщательно вымыть секционный стол, инструменты и во время вскрытия не пользоваться водой и другими жидкостями.

5. При отравлении яды распределяются в органах и тканях по-разному. При подозрении на отравление неизвестным ядом, а также при комбинированных отравлениях в лабораторию могут доставить:

- $\frac{1}{3}$  головного мозга;
- легкое или селезенку — не менее  $\frac{1}{4}$  наиболее полнокровных участков;
- желудок с содержимым;
- 20,0 мл крови;
- печень, желчный пузырь и его содержимое — не менее  $\frac{1}{3}$  наиболее полнокровных участков;
- 1 м тонкой кишки с содержимым из наиболее измененных отделов;
- одну почку и всю мочу.

При подозрении на введение яда через влагалище или матку необходимо взять в отдельные банки матку и влагалище, при подозрении на подкожное или внутримышечное введение яда — участок кожи и мышц из области предполагаемого введения. При подозрении на ингаляционное отравление —  $\frac{1}{4}$  легкого из наиболее полнокровных участков,  $\frac{1}{3}$  мозга. При обнаружении в содержимом желудка крупинок, кристаллов, таблеток, они также должны быть направлены на судебно-химическое исследование.

Дополнительные объекты исследования при подозрении:

- на отравление соединениями ртути — прямую кишку, волосы, ногти;
- хроническое отравление соединениями свинца — плоские кости;
- хроническое отравление соединениями таллия — плоские кости и волосы;
- хроническое отравление соединениями мышьяка — волосы, ногти и плоские кости;
- отравление тетраэтилсвинцом — мозг и легкое.

Кровь берут пипеткой или шприцем из крупных вен конечностей или синусов твердой мозговой оболочки. При невозможности направить кровь, мочу или органы берут мышечную ткань (~100 г). При комбинированных отравлениях необходимо взять не менее 200 мл крови, весь объем мочи и комплекс внутренних органов.

Объекты исследования консервируют только при подозрении на отравление сердечными гликозидами, производными фенотиазина, фосфорорганическими пестицидами, алкалоидами и трициклическими антидепрессантами. Для фиксации используют спирт-ректификат, уровень которого над внутренними органами в банках должен быть выше не менее 1 см. Одновременно в судебно-химическое отделение управления направляют контрольную пробу спирта в количестве около 30,0 мл, взятую из той же тары, что и для консервирования.

Банки с объектами экспертизы герметически закрывают полиэтиленовыми крышками. На каждую банку наклеивают этикетку, соответствующую утвержденной типовой форме, и делают на ней необходимые записи. Немедленно пересылают для исследования в судебно-химическое отделение (лабораторию) управления. Допускается опечатывание объектов от одного трупа (не каждой емкости отдельно) если они помещены в отдельный пакет, коробку, контейнер. Опечатывают шпагатом или прочной ниткой так, чтобы их нельзя было открыть без нарушения печати.

Для пересылки объектов емкости с биологическим материалом помещают в ящик, чтобы обеспечить полную сохранность от механических повреждений. В ящик вкладывают опись с перечислением номеров банок и их содержимого, которую подписывает лицо, направляющее объекты. У него остается копия описи.

Одновременно в управление направляют:

- копию постановления о назначении судебной медицинской (химической) экспертизы трупа;

- направление медицинского судэксперта с кратким изложением обстоятельств наступления смерти и основных данных исследования трупа с диагнозом, ФИО и возрастом умершего; с указанием вопросов, подлежащих разрешению экспертом-химиком, с указанием, каким ядом могло быть вызвано отравление;

- копию заключения первичной судебно-медицинской экспертизы, если объекты направляются на повторный анализ.

При исследовании эксгумированного трупа на судебно-химическую экспертизу (СХЭ) обязательно направляют землю, взятую по 500 г из шести мест (над и под гробом, возле боковых его поверхностей, в головном и ножном отделах гроба), а также кусочки одежды, обивки, подстилки, нижней доски гроба (около 500 см<sup>2</sup>).

## **КВАЛИФИКАЦИЯ ЭКСПЕРТА. ОБЯЗАННОСТИ И ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО ЭКСПЕРТА-ХИМИКА**

На должность государственного медицинского судебного эксперта назначаются лица, имеющие соответствующее высшее образование, специальную подготовку и прошедшие аттестацию в экспертно-квалификационной комиссии при Главном государственном судебно-медицинском эксперте Республики Беларусь.

Назначение на должность государственного медицинского судебного эксперта и освобождение от занимаемой должности производит начальник управления по согласованию с Главным государственным судебно-медицинским экспертом Республики Беларусь. Медицинский судебный эксперт подчинен начальнику управления, заведующему отделом, и проводит работу под его руководством.

Государственный медицинский судебный эксперт осуществляет свою деятельность в соответствии с законодательством Республики Беларусь, нормативными актами, инструкциями, правилами Государственного комитета судебных экспертиз, а также указаниями начальника управления, его заместителя по экспертной работе и заведующего отделом (лабораторией, отделением). Государственный медицинский судебный эксперт на время производства экспертизы и оформления Заключения эксперта, а также участия в следственном действии является должностным лицом, несущим в соответствии с законодательством дисциплинарную, административную и уголовную ответственность.

Права, обязанности и ответственность государственного медицинского судебного эксперта в процессе производства судебно-медицинской экспертизы определяются и регулируются соответствующими статьями уголовно-процессуального (гражданско-процессуального) и уголовного кодексов Республики Беларусь.

Государственный медицинский судебный эксперт обязан:

- производить порученные ему экспертизы и другие виды экспертной работы на высоком профессиональном уровне и в установленные сроки;
- объяснять причину превышения сроков производства экспертиз лицу, назначившему экспертизу;
- овладевать рекомендованными новыми методами исследования и применять их на практике;
- систематически работать над повышением своего теоретического уровня и профессиональной квалификации как самостоятельно, так и путем активного участия (доклады, выступления) в судебно-медицинских совещаниях, конференциях, заседаниях обществ судебных медиков и врачей других специальностей, а также в иных мероприятиях;
- своевременно доводить до сведения соответствующих следственных и судебных органов данные, выявленные при производстве экспертизы и не отраженные в деле, а также в порядке личной инициативы обращать внимание лиц, назначивших экспертизу, на обстоятельства и факты, имеющие значение для расследования и судебного разбирательства;

- своевременно составлять планы работы и отчеты;
- проводить анализ качественных показателей своей работы;
- принимать участие в педагогическом процессе с молодыми специалистами на базе структурных подразделений;
- проводить работу по повышению квалификации средних и младших медицинских работников, требуя от них точного и своевременного выполнения своих обязанностей, соблюдения служебной (профессиональной) тайны, аккуратного обращения с аппаратурой, инструментарием, лабораторной посудой, бельем и другим имуществом;
- соблюдать санитарно-гигиенический режим и правила противопожарной безопасности, правила техники безопасности и внутреннего трудового распорядка, требуя этого также от среднего и младшего медицинского персонала;
- оказывать консультативную помощь работникам органов внутренних дел, прокуратуры и суда;
- передавать заведующему отделом (лабораторией, отделением) при уходе в отпуск или отъезде в длительную командировку все числящиеся за ним документы, в том числе и по неоконченным экспертизам, а также объекты, подлежащие исследованию;
- выполнять служебные задания заведующего отделом (лабораторией, отделением), начальника управления и его заместителя по экспертной работе.

## **ПРАВА И ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО ЭКСПЕРТА-ХИМИКА**

- Государственный медицинский судебный эксперт имеет право:
- знакомиться с материалами, относящимися к предмету экспертизы;
  - заявлять ходатайства о предоставлении ему дополнительных материалов, необходимых для дачи заключения;
  - с разрешения органа, ведущего уголовный процесс, участвовать в производстве следственных и других процессуальных действий, задавать допрашиваемым и другим лицам, участвующим в этих действиях, вопросы, относящиеся к предмету экспертизы;
  - давать заключения как по поставленным вопросам, так и по входящим в его компетенцию обстоятельствам, выявившимся при производстве экспертизы;
  - знакомиться с протоколом следственного или другого процессуального действия, в котором он участвовал, а также заседания, и делать подлежащие внесению в протокол замечания относительно полноты и правильности записи его действий и заключения;

– ходатайствовать перед начальником управления, заведующим отделом (лабораторией, отделением) о поощрении подчиненных ему лиц среднего и младшего медицинского персонала, равно как о наложении на них взысканий за нарушение трудовой и производственной дисциплины и невыполнение своих обязанностей;

– проходить специализацию и периодически повышение квалификации.

Государственный медицинский судебный эксперт несет ответственность:

– за квалифицированное и своевременное выполнение судебно-химических экспертиз и других видов экспертной работы в соответствии со своевременными достижениями науки и техники;

– качественное и своевременное ведение документации в соответствии с установленными правилами;

– сохранность и своевременное возвращение по принадлежности уголовных и гражданских дел, медицинской документации, вещественных доказательств и других материалов, присланных ему для производства экспертизы;

– своевременное информирование заведующего отделом или начальника управления, либо заместителя по экспертной работе о чрезвычайных происшествиях, грубых нарушениях правил внутреннего распорядка, должностных инструкций, трудовой дисциплины со стороны подчиненных ему лиц медицинского персонала;

– сохранность закрепленного за ним жесткого и мягкого оборудования, аппаратуры и приборов, технически правильное и рациональное его использование, за чистоту и противопожарную безопасность на рабочем месте;

– сохранение врачебной и государственной тайны.

Эксперт не имеет права:

– разглашать данные предварительного следствия, вести переговоры с участниками уголовного процесса по вопросам, связанным с проведением экспертизы;

– самостоятельно собирать материалы для исследования;

– проводить исследования, могущие повлечь полное или частичное уничтожение объектов.

За разглашение данных предварительного расследования или закрытого судебного заседания без разрешения органа, ведущего уголовный процесс, эксперт несет ответственность в соответствии со статьей 61 уголовного кодекса Республики Беларусь. За дачу заведомо ложного заключения, а также за отказ либо уклонение без уважительных причин от исполнения возложенных на него обязанностей эксперт несет ответственность в соответствии со статьями 401 и 402 уголовного кодекса Республики Беларусь.

## **ОФОРМЛЕНИЕ ЗАКЛЮЧЕНИЯ ЭКСПЕРТА ПРИ ЭКСПЕРТИЗЕ ТРУПА, ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ И МАТЕРИАЛОВ ДЕЛА**

Заключение эксперта оформляется по определенной форме. Оно состоит из вводной, исследовательской (описание объектов исследования и химическое исследование) частей и выводов. Форма заключения эксперта утверждается приказом службы ГКСЭ в соответствии с требованиями процессуального законодательства Республики Беларусь.

В *вводной части* заключения должны быть указаны:

1. Сведения о медицинском судебно-экспертном учреждении.
2. Наименование экспертизы и номер заключения эксперта.
3. Время и место проведения экспертизы.
4. На каком основании проведена экспертиза (дата и номер постановления о назначении экспертизы с указанием сведений об органе, назначившем экспертизу).
5. Сведения об эксперте, которому поручено проведение экспертизы (ФИО, занимаемая должность, образование, специальность, стаж работы, квалификация, ученая степень, ученое звание и др.).
6. Отметка, удостоверенная личной подписью каждого эксперта о том, что он предупрежден об ответственности за дачу заведомо ложного заключения, за отказ либо уклонение без уважительных причин от исполнения возложенных на него обязанностей, а также о разъяснении ему процессуальных прав и обязанностей эксперта.
7. Условия проведения экспертизы, имеющие значение для экспертного исследования (освещение, температура, воздух).
8. Сведения об участниках процесса и иных лицах, присутствовавших при проведении экспертизы, и о данных ими пояснениях.
9. Вопросы, поставленные перед экспертом.
10. Объекты экспертизы, предоставленные эксперту для проведения экспертизы, с указанием даты поступления в лабораторию.
11. Ходатайства эксперта с указанием даты их заявления и получения ответов, результатов их рассмотрения.
12. Обстоятельства дела (на данный момент этот пункт исключен из заключения эксперта).

Кроме того, в вводной части заключения эксперта указанию подлежат:

- при экспертизе трупа — ФИО, возраст умершего (если такие сведения известны);
- при экспертизе физических лиц — ФИО, возраст, место жительства, документ, удостоверяющий личность, при необходимости и иные сведения;
- при экспертизе вещественных доказательств — объект исследования, с указанием ФИО, возраста лица, которому он принадлежал (если такие сведения имеются);

– при экспертизе по делам и материалам: наименование и номер материала или дела, количество томов, листов материала или дела, перечень объектов экспертизы и образцов для сравнительного исследования, поступивших для проведения исследования.

В обстоятельствах дела, указываемых в вводной части заключения, излагаются сведения, которые необходимы эксперту при проведении исследований и составлении выводов, в случае:

– экспертизы трупа — установленные органом (лицом), назначившим экспертизу, факты и содержание медицинских документов;

– экспертизы физических лиц — жалобы и медицинский опрос лица, в отношении которого проводится экспертиза (опрос детей проводится в присутствии родителей или педагогов), установленные органом (лицом), назначившим экспертизу, факты и содержание медицинских документов;

– экспертизы вещественных доказательств — установленные органом (лицом), назначившим экспертизу, факты и содержание медицинских документов;

– экспертизы по материалам и делам — установленные органом (лицом), назначившим экспертизу, факты, изложенные в постановлении о назначении экспертизы.

В *исследовательской части* заключения эксперта должно быть указано подробное описание хода исследования и всех выявленных при этом фактических данных. В ней излагаются примененные методы исследования и используется объективная регистрация (фотоснимки, контурные схемы с обозначением повреждений и др.). Структура исследовательской части заключения эксперта определяется видом проводимой экспертизы.

Вводная и исследовательская части заключения эксперта составляют вместе протокольную часть заключения, которую подписывает эксперт. Лица, присутствующие при проведении экспертизы, подписывают только вводную часть.

*Выводы* в заключении эксперта являются научно-обоснованным мнением эксперта, сформулированным на основании результатов произведенной им экспертизы. В выводах указывают, в каких органах и в каком количестве (на 100 г органов) обнаружены или не обнаружены токсические вещества. Выводы оформляются в соответствии с поставленными вопросами. Их следует излагать ясно и конкретно.

В выводах сначала пишут: «обнаружено» (перечислить в строчку обнаруженные вещества), затем — «не обнаружено» (перечислить остальные вещества, которые не обнаружены).

Заключение эксперта должно иметь подпись государственного медицинского судебного эксперта, печать, дату окончания оформления. Заключение эксперта и приложение к нему (таблицы, схемы, рисунки и др.) составляют

не менее чем в двух экземплярах, один из которых передается органу, назначившему экспертизу, а другой остается на хранении в архиве.

Экспертиза вещественных доказательств оформляется в процессе производства экспертных исследований записями в рабочем журнале, на основании которых после окончания экспертных исследований составляется заключение эксперта.

Заключение эксперта должно быть направлено органу, назначившему экспертизу, не позднее чем через три дня после окончания всех экспертных исследований. Срок проведения судебно-медицинской экспертизы со всеми экспертизами, проводимыми в лаборатории, не должен превышать одного месяца со дня получения от органа или лица, назначившего экспертизу, всех необходимых материалов и объектов исследования. В случае возможного или фактического превышения этого срока государственный медицинский судебный эксперт должен своевременно предупредить об этом орган, назначивший экспертизу, и руководителя управления, мотивированно указав причину.

Запрещается подменять заключение эксперта краткими выписками и справками, а также применять неутвержденные формы и бланки. В целях единого подхода учета экспертной работы в отделе разработаны условные единицы пересчета судебно-химических исследований неизвестных веществ в соответствии с коэффициентами пересчета судебно-химических исследований.

### **Пути поступления токсических веществ в организм. Основные виды транспорта токсических веществ через мембрану. Механизмы повреждения мембран**

Пути поступления токсических веществ в организм представлены на рис. 3. Токсические вещества поступают в организм энтеральным (сублингвально, перорально, ректально, вагинально) и парентеральным (внутримышечно, внутривенно, подкожно) путями.

Наиболее распространенным способом поступления является пероральный. Ряд токсических веществ (жирорастворимые соединения — фенолы, некоторые соли, цианиды, нитроглицерин и др.) всасываются и поступают в кровь уже в полости рта. Такие вещества не подвергаются воздействию желудочного, кишечного соков, и биодоступность их около 80 %.

Для ЖКТ характерны значительные градиенты pH, определяющие различную скорость всасывания токсических веществ. Например, все слабые кислоты в желудке (pH 1,5) находятся в неионизированном состоянии и легко всасываются. Ионизированные основания (алкалоиды и синтетические органические основания) попадают из желудка в кишечник и в виде неионизированных соединений всасываются уже из кишечника. Резорбция (всасывание)

веществ в основном идет в молекулярной форме. Токсические вещества в желудке могут сорбироваться пищевыми массами, при этом уменьшается их контакт со слизистой и всасываемость. Всасывание происходит в основном в тонком кишечнике. Следует отметить, что при энтеральном попадании веществ практически полная абсорбция в системный кровоток происходит при сублингвальном всасывании или при поступлении токсиканта через прямую кишку (ректально).

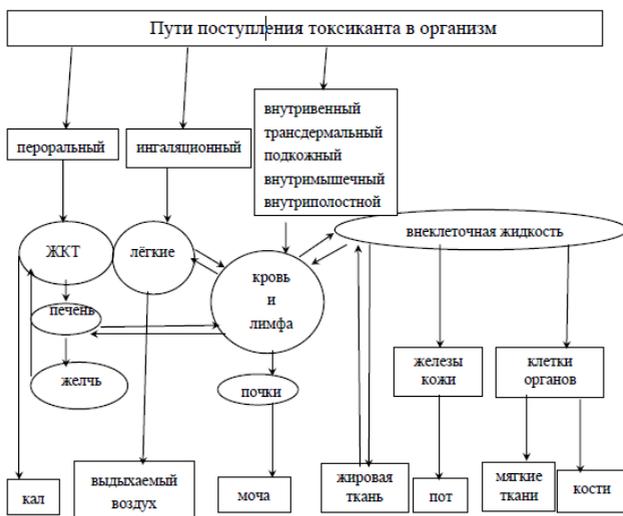


Рис. 3. Пути поступления ксенобиотиков в организм

Наиболее быстрое поступление яда в кровь характерно при ингаляционных отравлениях. Это объясняется большой поверхностью всасывания легочных альвеол (90–100 м<sup>2</sup>), малой толщиной альвеолярных мембран, интенсивным током крови по легочным капиллярам и отсутствием условий депонирования ядов. Всасывание летучих соединений начинается уже в верхних дыхательных путях, но наиболее полно осуществляется в легких. Некоторые пары и газы (HCl, SO<sub>2</sub> и др.) подвергаются химическим превращениям непосредственно в дыхательных путях. При многих производственных операциях образуется аэрозоль, пыль, которые легко проникают в дыхательные пути. Ингаляционный путь поступления характерен для алкилгалогенидов, спиртов, ацетона, бензина, эфиров, формальдегида, летучих соединений азота, серы, фосфора, мышьяка и др.

Другие пути поступления (через плаценту, влагалище, прямую кишку, с молоком матери) токсикантов в организм встречаются редко.

Действие ядовитого вещества на организм может быть местным и общим, резорбтивным и элективным.

Резорбтивное действие проявляется после всасывания в кровь и вызывается поражением большинства органов и тканей. Примером элективного действия служит действие наркотиков на нервную систему. Совместное действие токсичных веществ на организм может приводить к суммарному (аддитивному) эффекту, может усиливать свое действие (синергисты) или ослаблять (антагонисты).

**Всасывание токсикантов.** Поступление чужеродных веществ в организм, их распределение между органами и тканями, биотрансформация (метаболизм) и выделение предполагают их проникновение через ряд биологических мембран. Механизм прохождения веществ через мембраны достаточно сложный, так как при этом следует учитывать не только функциональные особенности самих мембран, но и определенную роль протоплазмы и клеточных белков. Выделяют 4 основных типа транспортировки различных веществ:

**Первый тип транспорта (простая диффузия)** характерен для нейтральных молекул. Быстрее всего диффундируют молекулы веществ, обладающих липофильными свойствами (высокий коэффициент распределения масло/вода). Растворимые в липидах вещества могут свободно проходить через клеточные мембраны по законам диффузии. Скорость диффузии зависит от коэффициента диффузии, толщины мембраны и других факторов. Коэффициент диффузии лекарственного вещества в свою очередь зависит от молекулярной массы, ионизации, степени растворимости в липидах, пространственной конфигурации молекулы.

Через мембраны проникают в клетки липофильные вещества и малые молекулы неполярных соединений: ацетон, этанол, фенолы, сероуглерод, галогенпроизводные углеводов и др. Перенос более крупных молекул в клетки путем диффузии происходит через поры в мембранах или путем пиноцитоза (мембрана обволакивает молекулу, которая в виде пузырька переносится внутрь клетки).

**Второй тип транспорта (облегченная диффузия)** связан с определенными структурами, которые обеспечивают веществам более интенсивную диффузию. Такими свойствами обладают некоторые участки мембраны. В этом случае транспортируемая молекула обратимо связывается с носителем в мембране, который свободно движется между внутренней и наружной ее поверхностью. В качестве переносчиков могут быть ферменты, белковые компоненты мембран и др. Образующиеся комплексы растворяются в мембранах и диффундируют в клетки. Перенос субстрата осуществляется в соответствии с градиентом концентрации и не требует затрат энергии. Таким путем молекула глюкозы проникает в эритроциты крови.

**Третий тип транспорта** связан с потреблением энергии, которая образуется в результате метаболизма аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в самой мембране. При этом «активном» транспорте молекула вещества соединяется с носителем, который претерпевает определенные химические превращения (примером служит всасывание и выведение веществ в ионизированной форме почечными канальцами). В качестве носителей служат ферменты, обеспечивающие активный транспорт ионов. Примером активного переноса является проникновение ионов калия в эритроциты (в эритроцитах концентрация ионов калия в 35 раз выше по сравнению с плазмой крови, то есть в этом случае ионы калия переходят из среды с меньшей концентрацией).

**Транспорт четвертого типа** (пассивный транспорт) осуществляется по принципу фильтрации. Пропускная способность мембран зависит от величины пор, через которые проходят токсические вещества. Через поры мембран проникают молекулы воды и небольшие анионы. Катионы не проникают через поры, так как в порах имеются положительно заряженные частицы. Через поры в почечных клубочках могут проходить молекулы с молекулярной массой меньше молекулярной массы альбумина.

Изучение функции клеточных и внутриклеточных мембран позволило выделить группу веществ, оказывающих специфическое мембранотоксическое действие (так называемые мембранотоксины). К мембранотоксинам относят вещества, обладающие фосфолипазной активностью. По классификации различают экзогенные и эндогенные мембранотоксины:

1. Эндогенные: активаторы фосфолипаз, фосфолипазы, лизолецитины, гемолизины, активаторы и продукты перекисного окисления, желчные кислоты.
2. Экзогенные: некоторые жирорастворимые витамины, некоторые синтетические детергенты, некоторые микотоксины, яды змей, насекомых и микроорганизмов, сапонины.

При острых отравлениях наиболее распространенной причиной повреждения является перекисное окисление липидов в мембранах митохондрий, липосом и пр., в результате чего происходит увеличение проницаемости мембран для ионов. Следствие этого — осмотические эффекты и разрывы мембран с выходом ферментов. При дальнейшем окислении липидов идет разрушение мембран и гибель клеток.

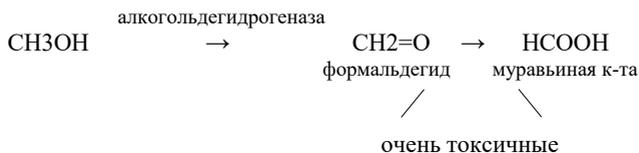
Большинство органических и неорганических соединений являются электролитами, поэтому скорость транспорта электролитов через мембраны будет определяться степенью ионизации молекулы в данных условиях. Процессы диссоциации электролитов и законы «неионной диффузии» весьма важны для практической токсикологии, так как биологическое действие ионизированной и неионизированной форм часто бывает несравнимо. Например, установлено, что действие барбитуратов на миокард прямо пропорционально концентрации в нем неионизированной формы, а ионизированные молекулы барбитурата вообще не вызывают токсического эффекта.

## ТОКСИЧНОСТЬ МЕТАБОЛИТОВ. ФАЗЫ МЕТАБОЛИЗМА ЧУЖЕРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ. ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ, ТОКСИЧЕСКИЕ И ЛЕТАЛЬНЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ

Метаболизм или биотрансформация — совокупность ферментативных реакций, в которые вступают эндогенные и экзогенные вещества в организме. Продукты называются метаболитами.

Метаболизм ксенобиотиков происходит под влиянием ферментов. В основном метаболизм происходит в печени, которая содержит ферменты, катализирующие реакции биотрансформации.

В большинстве случаев метаболиты более полярные соединения и менее токсичны, чем ксенобиотики. Однако известны случаи, когда метаболиты более токсичны: метаболит гексаметилентетрамина (уротропина) формальдегид более токсичен; формальдегид более токсичен, чем метанол. Из тетрахлолорметана в печени образуется свободный радикал, вызывающий некроз печени. Более токсичными по сравнению с исходными веществами являются продукты летального синтеза.



Ксенобиотики и их метаболиты действуют на организм по-разному. Различают:

- дезактивацию (детоксикацию): из цианида образуется нетоксичный тиоцианат; фенол — токсичное вещество, фенилсульфат — не токсичен;
- усиление токсичности (активацию): из кодеина в результате метаболизма образуется морфин, из паратиона в результате десульфирования образуется токсичный параоксон (ингибитор холинэстеразы).

Места метаболизма ксенобиотиков (макросомальный уровень):

1. Печень.
2. Кровь.
3. Слизистые ЖКТ и кишечника.
4. Почки, легкие, сердце, мозг.
5. Другие ткани организма (кожа, слизистая оболочка носа, ткани глаза).

В результате метаболизма идет окисление, восстановление, разрыв связей, замена радикалов, синтез (ацетилирование) — при этом снижается или утрачивается фармакологическая активность. При конъюгации ЛС и его метаболитов с глюкуроновой, серной, фосфорной и другими кислотами увеличивается растворимость в воде и ускоряется выведение их из организма.

Скорость метаболизма ЛС зависит от организма. У ослабленных и пожилых людей обезвреживание идет медленнее. Замедляется обезвреживание токсических веществ при заболеваниях печени. Поэтому понижается скорость процессов метаболизма и повышается уровень ЛС в крови.

#### **Фазы метаболизма:**

1. Фаза модификации или несинтетическая: превращение ксенобиотиков в метаболиты (окисление, восстановление, гидролиз).

2. Фаза конъюгации или синтетическая: метаболиты взаимодействуют с веществами в организме с образованием конъюгатов. Образуются гидрофильные соединения, которые выводятся.

Конъюгация включает реакции двух типов:

1. Активируется конъюгирующее вещество, которое затем взаимодействует с ксенобиотиком. К реакциям первого типа конъюгации относятся таковые с глюкуроновой кислотой, сульфатами, глютатионом, ацетильная, метильная, тиосульфатная конъюгации.

2. Активируется ксенобиотик, взаимодействующий затем с конъюгирующим веществом. Встречается редко, происходит в печени и почках. Второй тип реакций конъюгации включает реакции с аминокислотами. После предварительной активации ксенобиотиков (ароматические и гетероциклические карбоновые кислоты) образуются глициновые конъюгаты (гиппуровые кислоты).

Некоторые ксенобиотики (диэтиловый эфир, фталевая кислота) выделяются неизменными и рассматриваются как биохимически инертные. Но метаболическая инертность относительна, применение более чувствительных методов анализа обнаруживает, что метаболизм происходит в незначительной степени. Например, барбитал, меченый  $C^{14}$ , вводили крысам: 95 % барбитала выделялось с мочой в неизменном виде, но 5 % — в составе различных метаболитов барбитала.

**Терапевтические, токсические и летальные дозы.** Терапевтическая доза — доза ЛС, вызывающая нужный терапевтический эффект. Токсическая доза (*dosis toxica*) — доза ЛС, которая вызывает в организме патологические изменения, не приводящие к летальному исходу. Токсическая доза может быть:

- минимальной;
- средней;
- максимальной.

Летальная доза — доза ЛС, которая вызывает смертельный исход. Смертельная доза бывает 3 видов:

1. Минимальная (LD 5 — вызывает гибель 5 % экспериментальных животных).

2. Средняя (LD 50 — вызывает гибель 50 % животных). Та доза, после поступления которой (в желудок, брюшную полость, на кожу) в течение

3 сут наступает гибель 50 % животных. Иногда наблюдают в течение 14 сут. LD 50 выражается в мг вещества на кг массы животного (мг/кг).

3. Абсолютная (LD 100 — вызывает гибель 100 % экспериментальных животных).

### **КЛАССИФИКАЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ. ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА МЕТАБОЛИЗМ КСЕНОБИОТИКОВ В ОРГАНИЗМЕ**

Метаболические превращения ксенобиотиков делят на превращения, которые катализируются ферментами эндоплазматического ретикулама (микросомальная фракция) печени, а также микросомальными ферментами других тканей, и превращения, которые катализируются ферментами, локализованными в других местах (немикросомальные). Микросомальные ферменты обычно метаболизируют липидорастворимые ксенобиотики с образованием менее липидорастворимых продуктов, хотя микросомальными ферментами могут метаболизироваться и полярные соединения.

Ксенобиотики, всосавшиеся в кровь из ЖКТ, поступают в печень по воротной вене, проходят через печеночные синусоиды и возвращаются в систему циркуляции по центральной вене. Ксенобиотики всасываются из крови печеночных синусоидов в паренхиматозные клетки печени и затем в виде метаболитов или конъюгатов транспортируются в желчь или возвращаются в кровь синусоидов печени для окончательного выделения почками (пресистемная элиминация).

Многие вещества (например, опиные алкалоиды) содержатся в желчи в концентрациях, близких к таковым в крови, так как клетки паренхимы печени обладают высокопроницаемыми мембранами. Однако такие высокополярные соединения, как соли желчных кислот и конъюгаты чужеродных соединений, выделяются в желчь в значительно более высоких, чем в крови, концентрациях путем активного транспорта.

В зависимости от ферментов и типов реакций метаболические превращения классифицируют:

#### 1. Окисление:

##### а) микросомальное:

- алифатическое или ароматическое гидроксילирование;
- эпоксидирование;
- N-гидроксילирование;
- N, S-окисление;
- дезалкилирование;
- дезаминирование;
- десульфирование;

- б) немикросомальное:
  - окислительное дезаминирование;
  - окисление спиртов, альдегидов;
  - ароматизация алициклических соединений.

## 2. Восстановление:

а) восстановление нитросоединений, азотсоединений немикросомальными ферментами;

- б) немикросомальное восстановительное галогенирование;
- в) немикросомальное восстановление.

## 3. Гидролиз с участием немикросомальных ферментов.

### 4. Синтез (реакции конъюгирования):

- а) образование конъюгатов с глюкуроновой кислотой;
- б) образование сложных эфиров с серной и фосфорной кислотами;
- в) метилирование;
- г) ацетилирование;
- д) пептидная конъюгация.

Прочие реакции: разрыв гетероциклического кольца, окислительное расщепление арсеносоединений, окислительная циклизация, дегидроксилирование гидроксамовых кислот, дегалогенирование, восстановление дисульфидов в тиолы и др.

Продукты метаболических превращений могут затем подвергаться:

- а) выделению без дальнейших изменений;
- б) конъюгации с последующим выделением.

Процессы окисления ксенобиотиков катализируют различные ферменты: цитохромы P450 (окисление гетероатомов S, N, O, Si, O-, N-, S-, Si-деалкилирование, окислительное дезаминирование и десульфирование, дегидрирование, образование эпоксидов, гидролиз), алкогольдегидрогеназа (АДГ) (окисление алифатических и ароматических спиртов), моноаминоксидаза (окислительное дезаминирование аминов) и др. ЛС, ингибирующие цитохром P450, тем самым нарушают биотрансформацию других ЛС. Обнаружена активация некоторых проканцерогенов и протоксикантов в присутствии цитохрома P450.

Чужеродные соединения метаболизируются и немикросомальными ферментами, которые присутствуют в митохондриях и растворимых фракциях тканевых гомогенатов.

Ферментативное восстановление идет с участием никотинамидадениндинуклеотида (НАД<sup>+</sup>/НАДН, НАДФ<sup>+</sup>/НАДФН) и флавинадениндинуклеотида (ФАД/ФАДН<sub>2</sub>) характерно для азо- и нитрозосоединений, альдегидов, кетонов, сульфоксидов, дисульфидов и др.

Производные карбоновых кислот, липиды, пептиды и другие соединения, сложные эфиры и амиды гидролизуются с участием немикросомальных

и немикросомальных ферментов (эстераз, амидаз), находящихся в печени и плазме крови. В организме находится ряд эстераз (карбоксилэстераза, ацетилхолинэстераза, псевдохолинэстераза, арилэстераза и др.).

**Факторы, влияющие на метаболизм.** К основным факторам относятся генетические, физиологические, факторы внешней среды.

*Генетические факторы:* при дефектах ферментов может быть нарушена глюкуронидная конъюгация, поэтому прием салицилатов, сульфаниламидов, производных фенола вызывает отрицательное действие на организм даже в обычных дозах. Влияние генетических факторов на метаболизм изучает фармакогенетика.

*Физиологические факторы:* возраст, пол, состояние питания, беременность, различные заболевания. У новорожденных (до 8 нед.) слабо развит ферментативный аппарат метаболизма ксенобиотиков, у них быстрее от меньшей дозы проявляются побочные эффекты. В пожилом возрасте снижена активность ферментных систем, катализирующих метаболизм экзогенных химических соединений. В результате повышается чувствительность организма ко многим лекарственным веществам. У мужчин ЛС обезвреживаются быстрее, так как андрогены являются индукторами микросомального окисления и ферментов конъюгации.

Голодание угнетает ферменты микросомального окисления большинства ЛС, что повышает вероятность интоксикации. Белковое голодание приводит к нарушению синтеза ферментов эндоплазматического ретикулума и снижению скорости микросомального окисления и конъюгации ксенобиотиков. Поэтому при недостатке белка в питании могут наблюдаться признаки лекарственной интоксикации. Дефицит липотропных факторов также может быть причиной нарушения процессов биотрансформации ксенобиотиков.

Основной орган, где вещества подвергаются метаболизму — печень. При патологии печени нарушается естественный метаболизм.

## **РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЯДОВ В ОРГАНИЗМЕ.**

### **ЭКСКРЕЦИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ МЕТАБОЛИТОВ**

Отравления ядовитыми веществами могут изучаться с точки зрения их токсикодинамики и токсикокинетики. Под термином токсикодинамика подразумевают механизм действия ядовитых веществ на организм. Токсикокинетика изучает процессы, происходящие с ядовитыми веществами в организме (всасывание, распределение, превращения, выделение из организма). Знание токсикокинетики ядов позволяет специалисту правильно проинформировать химико-токсикологическое исследование и оценить его результаты.

Поступившие в кровь ядовитые вещества разносятся по всему организму. Содержание яда в органе зависит от его кровоснабжения: через сердце,

легкие, мозг и печень протекает значительно больше крови, чем через другие органы.

Распределение в организме зависит от их физических и химических свойств (растворимость в воде и липидах, диссоциация и др.). Так, хорошо растворимые в жирах вещества (анестетики, снотворные, седативные, хлорсодержащие инсектициды) хорошо проникают через биологические мембраны, быстро и селективно распределяются в богатых липидами, хорошо снабжаемых кровью органах — головном и костном мозге. Другие жирорастворимые яды депонируются в жировой ткани (органические растворители, хлорпроизводные углеводов).

Неэлектролиты накапливаются в тканях, сорбционная емкость которых наибольшая. Так, при хлороформном наркозе в продолговатом и спинном мозге содержится хлороформа на 50 % больше, чем в головном мозге. Это объясняется тем, что в головном мозге находится меньше липидов, чем в продолговатом и спинном. Растворимые в липидах вещества медленно выводятся и медленно превращаются в нем. Место локализации токсических веществ зависит и от характера отравления: при остром отравлении ртуть и мышьяк локализуются в печени и почках, а при хроническом могут откладываться в ногтях, костях, волосах, нервной ткани. Знание распределения ядов в организме необходимо для проведения судебно-химического и химико-токсикологического их исследования (влияет на выбор объекта исследования).

**Выделение яда из организма.** Токсические вещества, поступившие в организм, оказывают определенное действие, а затем выделяются в неизменном виде или в виде метаболитов преимущественно через почки, печень, легкие, кишечник, или одновременно несколькими путями (как этиловый спирт).

Почки выводят хорошо растворимые в воде и способные диссоциировать на ионы соединения. Чем меньше молекулярная масса этих соединений, тем легче они выводятся с мочой. Фактором, влияющим на выделение слабых органических кислот и оснований, является рН мочи, от которой зависит их диссоциация. Слабые органические основания (хинин, амитриптилин, кофеин, теofilлин, антипирин и др.) лучше переходят в мочу, если она имеет более кислую реакцию, чем плазма крови. Слабокислые лучше переходят в мочу щелочной реакции: это барбитураты, сульфаниламиды, антикоагулянты, салициловая кислота и др.

Некоторые металлы в виде ионов или комплексов с органическими веществами также выделяются через почки.

Липофильные вещества не выделяются из организма почками, однако большинство их метаболитов являются растворимыми в воде и выделяются с мочой.

Моча, наряду с кровью, — важный объект химико-токсикологических и судебно-химических исследований.

В печени происходит метаболизм большого числа токсинов, которые выводятся затем с желчью преимущественно в виде конъюгатов. Желчь доставляет токсины в кишечник, которые либо выделяются через кишечник, либо снова всасываются здесь в кровь и выделяются почками.

Легкие являются главным органом выведения летучих жидкостей и газообразных веществ. Эти вещества легко проникают из крови в альвеолы через их мембраны и выделяются с выдыхаемым воздухом. В неизменном виде так выделяются СО, этанол, сероводород, диэтиловый эфир, ацетон, бензол, бензин, хлорпроизводные углеводов.

Ряд веществ частично выводится через потовые железы кожи: соединения мышьяка и некоторых тяжелых металлов, бромиды, йодиды, хинин, камфора, этанол, ацетон, фенол, хлорпроизводные углеводов.

С молоком матери в организм грудного ребенка могут попадать этиловый спирт, аспирин, барбитураты, никотин, морфин, кодеин. Коровье молоко может содержать отдельные пестициды.

### **ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ТОКСИЧНОСТЬ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ**

Токсичность обусловлена взаимодействием организма, токсического вещества и окружающей внешней среды. Токсичность ядовитых веществ зависит от множества факторов: дозы или концентрации, физических и химических свойств, путей и скорости проникновения в организм, возраста и пола, индивидуальной предрасположенности к яду и т. д.

Действие зависит и от **времени пребывания в организме**. Срок пребывания яда в организме можно выражать промежутком времени от начала его резорбции (всасывания) до момента полной элиминации. Период резорбции продолжается от момента поступления яда в организм до момента достижения максимальной его концентрации в крови. Период элиминации начинается от момента достижения максимальной концентрации вещества в крови до полного исчезновения его из крови.

Для сравнительной оценки токсичности ядов пользуются величиной LD 50 — средняя доза.

Важнейшим параметром токсичности газообразных веществ является ПДК — наименьшая концентрация соединений, которая при ежедневном воздействии на организм в течение длительного времени не вызывает каких-либо патологических изменений или заболеваний.

**Возраст.** Лицам старше 60 лет рекомендуются меньшие дозы ЛС, чем лицам более молодого возраста, поскольку процессы метаболизма и скорость выведения из организма ЛС, ядов и их метаболитов замедлены. Дети имеют меньшую массу тела, поэтому для достижения эффекта назначают относительно меньшие дозы. Кроме этого, для детей характерны возрастные особенности чувствительности к ЛС.

**Физические и химические свойства веществ.** На токсичность химических соединений влияет их агрегатное состояние, растворимость в воде и жирах, диссоциация на ионы и т. д. Газообразные вещества и пары летучих жидкостей, поступившие через дыхательные пути, проявляют действие значительно быстрее, чем жидкости или твердые вещества, попавшие на кожу или в желудочно-кишечный тракт.

Токсичность твердых веществ зависит от **размера частиц**. Тщательно размельченные — более токсичны. Это объясняется неодинаковой скоростью поступления их в кровь.

Токсичность зависит от **растворимости** их в жирах и воде. Жирорастворимые вещества легко проникают в организм через кожу и легко проникают из крови в клетки через мембраны. Токсичность водорастворимых веществ зависит от их диссоциации. Так, например, хлорид и нитрат бария хорошо диссоциируют в воде и обладают высокой токсичностью, а сульфат бария не растворяется в воде и не оказывает токсического действия на организм. Нерастворимый в воде хлорид ртути (I) менее токсичный, чем растворимый в воде хлорид ртути (II), а металлическая ртуть, поступившая в желудочно-кишечный тракт, вообще не оказывает токсического действия на организм.

**Видовая чувствительность.** Этот фактор можно показать на примерах действия красавки, наперстянки пурпуровой и шерстистой на людей и на некоторых животных. Красавка содержит алкалоиды тропанового ряда, а наперстянка — сердечные гликозиды. Травоядные животные могут поедать эти растения без проявления признаков отравления. При введении определенной дозы гистамина морским свинкам, в организме которых этот препарат метаболизируется довольно медленно, указанные животные погибают, а при введении таких же доз гистамина белым крысам токсический эффект не наблюдается.

**Пути и скорость поступления в организм.** При вдыхании большого количества паров гексана через 1–3 мин у человека может наступить потеря сознания. Если такое же или даже большее количество гексана поступит в организм человека через желудочно-кишечный тракт, то токсическое действие его будет проявляться значительно слабее. При стенокардии больным назначают нитроглицерин в таблетках или в виде нескольких капель спиртового раствора сублингвально. Такое же количество нитроглицерина, принятое внутрь, всасывается медленнее, и его действие замедляется.

**Химическое строение.** Закономерности этой зависимости для ряда веществ еще не установлены. Показано, что токсичность химических веществ обусловлена наличием в их молекулах определенных функциональных групп или двойных связей. Многие ненасыщенные соединения являются более токсичными, чем близкие к ним по составу насыщенные вещества. Так, аллиловый спирт более токсичен, чем насыщенный пропиловый спирт.

Токсичными являются вещества, в молекулах которых содержатся следующие группы атомов:  $=C=O$ ,  $S=$ ,  $=C=C$ ,  $-N=C$ ,  $-NO_2$  и др. Токсичность некоторых веществ обусловлена введением атомов хлора, фтора, мышьяка, ртути и др. Изомеры некоторых соединений имеют неодинаковую токсичность.

### **ИЗМЕНЕНИЯ В БИОМАТЕРИАЛЕ ПОСЛЕ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ**

После смерти происходит разложение тканей трупов, в результате чего образуются вещества, мешающие обнаружению ядов, которые вызвали отравление. Кроме этого, в процессе разложения химическим изменениям подвергаются и вещества, вызвавшие отравление. При выборе методов выделения и обнаружения необходимо это учитывать.

После наступления смерти под влиянием специфических клеточных ферментов, лизосомальных катепсинов (их много в клетках поджелудочной железы, печени, почек, селезенки) происходит аутолиз клеток, в результате чего белковые вещества разлагаются на более простые соединения.

При жизни катепсины и другие гидролитические ферменты обладают незначительной активностью. После смерти активность катепсинов значительно возрастает. При жизни ткани организма имеют рН 6,8–7,2, а после рН сдвигается в более кислую область, благоприятную для активности катепсинов. Аутолизу в первую очередь подвергаются ткани трупов, наиболее богатые катепсинами.

Уже через 3–4 ч после смерти бактерии кишечника проникают через их стенки и по кровеносным сосудам распространяются почти по всему трупу. В результате этого под влиянием ферментов микроорганизмов наступает процесс гниения (путрификации) органов и тканей трупов. О начале гниения свидетельствует появление специфического гнилостного запаха. Интенсивность и состав образующихся продуктов зависят от видового состава микрофлоры, температуры, влаги, доступа воздуха и других факторов.

При гниении белков образуются пептиды, разлагающиеся с образованием аминокислот, которые, в свою очередь, могут подвергаться дезаминированию с выделением аммиака. Аминокислоты, содержащие серу, разлагаются с выделением сероводорода.

Описанное выше гниение происходит в основном без доступа воздуха. Однако в отдельных случаях трупы могут находиться и на поверхности или в местах, в которые хорошо проникает кислород. В этих случаях гниение трупов происходит под влиянием ферментов аэробных бактерий. Такие процессы называются тлением, оно происходит значительно быстрее, чем гниение трупов в анаэробных условиях.

В зависимости от условий может происходить образование жировоска или мумификация трупов.

*Жировоск* — это состояние тканей трупов, возникающее в результате взаимодействия жирных кислот с солями щелочноземельных и щелочных металлов в условиях повышенной влажности (в воде, во влажной почве), при недостаточности или отсутствии воздуха. При указанных условиях происходит процесс мацерации, при котором отслаивается эпидермис, а затем через лишенную эпидермиса кожу в труп проникает вода. Она вымывает кровь и ряд веществ из тканей, а затем происходит омыление жиров в трупах. Жиры разлагаются на глицерин и жирные кислоты. Глицерин и олеиновая кислота вымываются из тканей трупов водой, а пальмитиновая и стеариновая кислоты с солями щелочноземельных и щелочных металлов образуют мыла, которые и составляют жировоск (твердая мылообразная или творожистая масса). В результате образования жировоска труп сохраняет внешнюю форму. Внутренние органы отсутствуют. На их месте обнаруживаются комки воскообразной массы. При судебно-медицинской экспертизе трупов или их частей, находящихся в составе жировоска, можно обнаружить следы причиненных повреждений (огнестрельных ран, порезов и др.). В жировоске долгое время могут сохраняться некоторые яды. Жировоск является одним из видов естественной консервации трупов.

*Мумификация* — полное высыхание трупов. Этот процесс происходит при сухом воздухе, повышенной температуре и хорошей вентиляции. В этих условиях прекращаются процессы гниения и происходит высыхание трупов. В результате мумификации уменьшается объем и масса трупов, их мягкие ткани уплотняются и сморщиваются, кожа приобретает буровато-коричневую окраску и пергаментный вид. Трупы взрослых мумифицируются в течение 3–6 мес., а трупы новорожденных — за 3–4 нед. В мумифицированных трупах длительное время могут сохраняться некоторые яды, вызвавшие отравления.

В результате разных видов разложения трупов под влиянием специфических клеточных ферментов, так называемых катепсинов, происходит аутолиз клеток, при этом может образоваться около 1300 различных соединений, которые значительно влияют на результаты химического исследования и затрудняют установление причин смерти при отравлениях. Образуются катепсины и птомаины.

Безусловно, такое большое число продуктов разложения трупов никогда не может одновременно содержаться в разлагающемся биологическом материале. Образование этих веществ в трупах происходит поэтапно. Химический состав соединений, образующихся на данном этапе, зависит от времени разложения трупного материала, температуры, наличия влаги, доступа воздуха, бактериальной флоры, состава органов и тканей, подвергающихся разложению, и от ряда других факторов.

Учитывая, что со временем число продуктов разложения трупного материала увеличивается, анализ этого материала на наличие ядов должен производиться через 1–2 сут после наступления смерти.

В гниющих трупах органические вещества разлагаются быстрее, чем неорганические яды. Из органических ядов наиболее быстро разлагаются сложные эфиры. Значительное число представителей этой группы ядов не обнаруживается в трупах уже через несколько суток или недель после смерти. Однако некоторые ядовитые вещества, являющиеся сложными эфирами, еще можно обнаружить в трупах через несколько месяцев или лет после смерти (атропин, кокаин и др.).

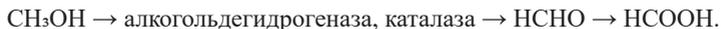
Большинство органических ядовитых веществ в трупах подвергается окислению, восстановлению, дезаминированию, декарбоксилированию, десульфированию и другим превращениям.

В трупном материале более стойкими являются неорганические ядовитые вещества. Большинство этих веществ восстанавливаются при гниении трупов. Соединения мышьяка и таллия могут сохраняться в трупах около 8–9 лет, соединения бария и сурьмы — около 5 лет, соединения ртути сохраняются в трупах несколько месяцев. После этого неорганические яды проникают в почву и не всегда могут быть обнаружены в остатках гниющих или сгнивших трупов. Поэтому при эксгумации трупов и проведении судебного медицинского химического исследования необходимо отбирать образцы почвы (у изголовья, ног, над и под, сверху и снизу гроба) для исключения попадания некоторых веществ из внешней среды.

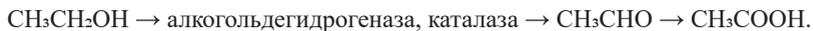
## **ЛЕТАЛЬНЫЙ СИНТЕЗ. ЭНДОГЕННАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ.**

### **ПОНЯТИЯ, ПРИМЕРЫ**

Летальный синтез — метаболический процесс, в результате которого нетоксичное или малотоксичное вещество превращается в соединение более токсичное. Метаболизм метанола, токсичность которого полностью определяется продуктами его окисления — формальдегидом и муравьиной кислотой:



Метаболизм этанола начинается с образования ацетальдегида, который по крайней мере на порядок токсичнее исходного продукта:



Несмотря на дальнейшее окисление альдегида в уксусную кислоту, он циркулирует в свободном состоянии, что приводит к хронической алкогольной интоксикации во многих тканях, включая мозг.

Тяжесть отравления этиленгликолем прямо пропорциональна степени его окисления до щавелевой кислоты, а нетоксичная фторуксусная кислота F-CH<sub>2</sub>-COOH в организме превращается в токсичную фторлимонную кислоту.

Метаболизм известного инсектицида паратиона (тиофоса) связан с тем, что в организме происходит замещение атома серы на атом кислорода, в результате чего образуется параоксон — мощный ингибитор холинэстеразы (сокращаются мышцы и возникает судорога).

**Эндогенная интоксикация.** Накопление в организме чрезмерного количества экзо- и эндотоксинов приводит к возникновению состояния, известного как эндогенная интоксикация организма. Как правило, это состояние сопровождается фоновым течением разного рода воспалительных процессов в тканях.

Эндогенные токсины, оказывающие разлагающее действие и провоцирующие достаточно опасный синдром эндогенной интоксикации, одинаково быстро распространяются по всем органам брюшной полости. Последовательно под влияние чуждой субстанции попадает пораженный орган, печень, почки, миокард, нервная система. При несвоевременном обнаружении эндогенное отравление токсинами может провоцировать необратимые токсико-дистрофические процессы разложения тканей.

Само явление представляет собой многоэтапный процесс, строящийся вокруг источника токсемии. В процессе принимают участие одновременно ряд систем, среди которых биологические барьеры, призванные предотвратить прорыв токсинов из источника, механизмы переноса токсинов к незагрязненным клеткам, а также нейтрализаторы, чья задача обезвреживать прорвавшие барьер заведомо вредные вещества. Иными словами, в целостном организме со здоровой иммунной системой развитие эндогенного синдрома интоксикации практически исключается, посему в группе риска по расстройству находятся люди со слабым здоровьем, перенесшие операции, тяжелые отравления, воспаления, опухоли в стадии распада.

*Клиническая картина.* От причины возникновения эндогенной токсической патологии клиническая картина практически не зависит. Как правило, в первичной симптоматике присутствуют следующие признаки:

- общая слабость, разбитость, апатия;
- головные и мышечные боли ноющего и давящего характера;
- тошнота, позывы к рвоте, рвота;
- тахикардия;
- пересыхание слизистых оболочек.

Развитие фаз происходит стремительно и при отсутствии лечения приводит к энцефалопатии, коматозному сну, катаlepsии и проблемам с гемодинамикой.

*Стадии.* Выделяются три основные стадии течения синдрома эндогенной интоксикации. *Первичным* считается реактивно-токсический процесс, возникающий на фоне изначального очага воспаления или травматического повреждения, в том числе операционного разреза. Выявление интоксикации возможно только посредством клинического анализа крови. *Вторая стадия*, именуемая этапом выраженной токсемии, проявляет себя после того, как токсины проходят гематологический барьер кровеносной системы. Кровь насыщается токсинами, которые через кровоток равномерно разносятся по всем органам и системам. Длительное прогрессирование интоксикации эндотоксинами приводит к наступлению *третьей фазы* патологии — мультиорганной дисфункции. В клинической картине, в отличие от предыдущих стадий, мультиорганная дисфункция явно выказывает себя олигурией, гипоксией, непроходимостью кишечника, нарушениями сознания и пр.

*Причины возникновения.* Эндогенные интоксикации в хирургии встречаются гораздо чаще. Причиной тому основные болезни — источники возникновения самоотравлений, а именно:

- перитонит;
- острый панкреатит;
- ожоговая болезнь;
- синдром сдавливания.

Это далеко не полный перечень первичных источников синдрома, но наиболее часто встречающиеся случаи приходятся именно на вышеупомянутые патологии.

*Источники эндогенных токсинов.* Под источниками заболевания можно подразумевать как непосредственно заболевания, вызывающие рождение чуждых клетке отравляющих соединений, так и сами соединения токсической природы. Причем внутри единой системы человеческого организма перекалифицироваться в яды могут даже полезные элементы, такие, как продукты обмена веществ: мочевины, креатинин, пируват, лактат и пр.

Помимо этого, разрушающее действие характерно для производных нарушенного метаболизма, а именно, альдегидов, кетонов, аммиака и карбоновых кислот. Далее, по степени риска проявления токсических свойств следуют продукты распада тканей на клеточном уровне, выделяемые при наличии тканевой деструкции или проблемах в барьерных функциях мембран. В списке таковых липазы, катионные белки, скатол, индол, фенол и т. д.

К тому же перечню относятся микробные токсины всех типов, активные соединения, рождающиеся в процессе перекрестного окисления липидов, антигены и иммунные комплексы-агрессоры.

*Терапия при синдроме эндогенной интоксикации.* В целом лечение эндогенной интоксикации, как и борьба с отравлением экзогенной природы, строится на удалении и обезвреживании первичного источника токсических

веществ, мешающих нормальному функционированию организма. После нейтрализации источника проводится обязательное очищение крови. Для этих целей оптимальной процедурой является гемодилюция, которая подразумевает капельное введение препаратов, обладающих диуретическими свойствами и улучшающих перфузию тканей и органов кровью. В особенно тяжелых случаях интоксикации может быть применена интенсивная терапия. В условиях реанимации больному проводится гемодиализ с обязательным переливанием крови.

### **Первичная обработка различных объектов исследования в зависимости от используемого метода анализа. Особенности подготовки проб крови и проб мочи (гидролиз, дегидратация)**

Результаты предварительных проб имеют большое значение для составления плана судебно-химического исследования.

Предложен ряд хромогенных (цветных) тестов при исследовании мочи: аналитические реакции на восстановители (спирты и другие восстановители — дихроматный тест), окислители (дифениламинный тест), алкилгалогениды (тест Фудживара), производные фенотиазина (тест FPN), йодоформная проба (этанол, ацетон), флуоресцентный тест на хинин, реактив Марки на производные морфина, реакция Витали-Морена для обнаружения атропина и скополамина, мурексидная проба на алкалоиды пуринового ряда, ферро-феррицианидный тест и др.

Цветные тесты, применяемые при предварительном исследовании дистиллятов и экстрактов, полученных из кислых и щелочных растворов, неспецифичны, но имеют отрицательное судебно-химическое значение. В биообъектах наряду с токсическими веществами и метаболитами присутствуют фоновые соединения (белки, жиры, пептиды, пигменты и др.).

Подготовка биопроб для исследования состоит из нескольких этапов:

1. Измерение массы (объема) пробы.
2. Высвобождение токсиканта (метаболитов) из клеток пробы.
3. Добавление внутреннего стандарта.
4. Отделение белков.
5. Грубая очистка пробы (центрифугирование, фильтрация).
6. Контроль pH или изменение pH-пробы.
7. Экстракция, реэкстракция.
8. Концентрирование.
9. Химическое превращение исследуемых веществ в удобные для анализа производные.

Предварительная обработка биопроб имеет решающее значение для получения правильных результатов. Обработка должна быть как можно проще,

это облегчает и ускоряет анализ, а также снижает возможность ошибок, так как любая операция сопровождается потерями. Обработка при этом должна быть достаточно полной для создания оптимальных условий анализа с соблюдением двух условий:

- 1) необходимо удалить все эндогенные соединения, которые могут мешать количественному анализу;
- 2) обработка должна защищать аналитический объект от веществ, которые могли бы загрязнить его (липиды, белки, взвешенные частицы).

**Обработка проб крови.** Определение ЛС в цельной крови не всегда дает нужный результат, так как для многих веществ отмечено накопление в форменных элементах (в большей степени в эритроцитах). Наиболее удовлетворительным следует считать анализ сыворотки или плазмы, большая часть ЛС не связывается с фибрином, поэтому результаты анализа оказываются практически одинаковыми. Для определения таких веществ удобнее работать с сывороткой.

Получение устойчивых в отношении свертывания образцов плазмы требует добавления к пробе антикоагулянтов (гепарин, агенты, связывающие ионы кальция, ЭДТА, цитраты или фториды). Добавление этих веществ создает ряд проблем: необходимо учитывать разбавление образца, особенно при малых объемах крови, взятой, например, из пальца; добавленные реагенты могут влиять на результаты. Фториды могут служить консервантами плазмы, они ингибируют сывороточную холинэстеразу, которая при хранении образцов может гидролизовать ЛС (например, кокаин, АСК, новокаин).

Многие ЛС связываются (иногда на 90 % и более) с белками сыворотки крови, в основном с альбумином, реже — с глобулинами. В то же время большинство методов определяет общую концентрацию в виде суммы связанного и несвязанного с белками ЛС в крови (плазме, сыворотке). Для веществ, слабо связанных (до 30 %) с белками, суммарная концентрация в сыворотке близка к уровню свободного вещества. При использовании большинства методов обработки образцов создаются условия для разрушения комплекса с белками и в результате определяется общее количество ЛС (метаболита). Необходимо, чтобы высвобождение вещества из комплекса было либо полным, либо постоянным от опыта к опыту.

Все этапы должны быть тщательно проверены в предварительных контрольных опытах, чтобы вовремя выявить неблагоприятные факторы и избежать ошибок в анализе, изменив технику обработки проб.

**Обработка проб мочи.** С мочой выделяются в разной степени почти все ЛС и их метаболиты. Во многих случаях это основной путь очищения от чужеродных соединений и продуктов их биотрансформации.

Величина рН зависит от получаемой пищи (при белковой диете рН снижается, при растительной — повышается), от физической нагрузки (при

повышенной нагрузке моча становится кислой), от принимаемых ЛС, патологических процессов (при гипервентиляции, гипокалиемии происходит подщелачивание мочи, а при голодании, тяжелой диспепсии, ацидозе, напротив, отмечается кислая реакция).

При определении ЛС необходимо контролировать или менять рН для анализа в стандартных условиях, например, подщелачивая пробу или добавляя к ней буферный раствор с большой буферной емкостью. Эндогенные вещества, растворенные в моче, могут затруднять проведение ХТА. Минеральные соли и мочевины загрязняют колонки при использовании методов газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ). Некоторые эндогенные вещества поглощают свет в УФ области, осложняя применение спектрофотометрии (СФМ) для определения концентрации в моче.

Одним из распространенных методов обработки мочи при определении липофильных веществ является экстракция органическими растворителями, не смешивающимися с водой. В большинстве случаев добиваются возможно более полного перевода определяемого вещества в органическую фазу, а соли, мочевины, мочевая кислота, аминокислоты, глюкуроныды и др. гидрофильные вещества остаются в основном в водной фазе.

Многие гидрофильные вещества невозможно достаточно полно экстрагировать из пробы мочи. Эта проблема особенно остро встает при определении метаболитов многих ЛС, поскольку при биотрансформации полярность обычно резко увеличивается. Обработка проб тогда зависит от применяемого аналитического метода. Наиболее пригодными в этом случае являются методы, позволяющие проводить исследование в водной или водно-органической фазе. Это ВЭЖХ, полярография, СФМ, иммунохимические методы и некоторые другие, позволяющие избежать экстракции анализируемых веществ из мочи.

Другим методом обработки является химическая трансформация определенного вещества (метаболита) с образованием соединения, которое можно извлечь жидкостной экстракцией. Это в первую очередь относится к определению некоторых конъюгатов (глюкуроныды, сульфаты и др.). Гидролиз конъюгатов можно проводить нагреванием с кислотами (соляная, серная). Однако такая жесткая обработка может привести не только к ожидаемому гидролизу, но и к более глубокой деструкции определяемого вещества, и поэтому *кислотный гидролиз* имеет ограниченное применение — лишь для термо- и кислотоустойчивых веществ. Более универсальным является *ферментативный гидролиз* с применением глюкуроныдазы и сульфатазы, причем часто используют смесь ферментов для одновременного гидролиза сульфатной и глюкуроныльной группы. В последние годы ферментативный гидролиз конъюгатов почти полностью вытеснил кислотную обработку.

Для перевода веществ в удобную для определения форму применяют также препаративные хроматографические методы: колоночную

адсорбционную, ТСХ и бумажную хроматографию. В последних двух случаях после высушивания определяют зоны, в которых находятся анализируемые вещества, и элюируют их специально подобранным органическим полярным растворителем. При использовании колоночной хроматографии один из таких растворителей применяют для элюирования веществ из колонки, собирают нужные фракции и, если необходимо, концентрируют элюат в вакууме.

Дериватизация — это получение производных анализируемого вещества, обладающих иными (лучшими с точки зрения используемого аналитического метода) аналитическими свойствами (например, иным УФ-спектром, флуоресценцией, термической стабильностью, летучестью и пр.).

Анализ органов и тканей требует предварительной обработки с целью разрушения целостности тканей и клеточных структур. Гомогенизация производится с помощью гомогенизаторов, ультразвуков (высокоскоростные турбины), ультразвука. Измельчение волос проводят путем растирания в ступке с песком, стеклом.

Для обезвоживания (лиофилизации) используют безводные сульфаты натрия, кальция в эксикаторах под вакуумом или лиофильные сушки. Для удаления липидов используют экстракцию, вымораживание, сепарационные и другие методы. При судебно-химических исследованиях биообъектов проводят удаление белков с применением растворителей (этанол, ацетон, ацетонитрил), кислот и солей. Осадки белков затем отделяют центрифугированием или фильтрованием.

### **Предварительные пробы на наличие токсических веществ в биологических жидкостях. Хроматографический иммуноферментный анализ (тест-полоски)**

#### **Предварительные пробы на наличие токсических веществ.**

Результаты предварительных проб являются особо важным для правильного составления плана ХТА. Отрицательный результат предварительных проб указывает на отсутствие исследуемых веществ в пробе. Статистические данные свидетельствуют, что в ряде стран в результате самолечения, сопровождающегося передозировками, особенно часто наблюдаются отравления снотворными, болеутоляющими, антидепрессантами и другими ЛС.

Для обнаружения исследуемых веществ в крови, моче требуются экспрессные методы анализа, так как результаты необходимы как химикам, так и врачам для решения вопроса об оказании помощи. В настоящее время предложен ряд реакций и методов, позволяющих быстро определять токсические вещества непосредственно в биожидкостях. Это «предварительные пробы» или «скрининг-тесты».

Предварительные пробы чувствительны, но не всегда специфичными. Ввиду высокой чувствительности предварительных проб они пригодны для обнаружения как токсических, так и терапевтических доз принятых лекарств. При положительных результатах проводят подтверждающие исследования другими качественными реакциями или методами (ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ, СФМ).

Предварительные пробы классифицируют на химические, хроматографические и белоксвязывающие. Химические пробы (цветные реакции) используют в неспециализированных лабораториях.

#### **Химические предварительные пробы:**

1. Этанол и метанол: с  $K_2Cr_2O_7$  в 50%-ной серной кислоте. Дополнительная реакция на этанол (после перегонки) — с салицилатом натрия, образование йодоформа; дополнительная на метанол: окисляют перманганатом калия до формальдегида и проводят реакцию с хромотроповой кислотой (*красная* или *фиолетовая* окраска).

2. Хлороформ и другие хлорпроизводные: проба с мочой, а если кровь или содержимое желудка, то перегонка с водяным паром и анализ дистиллята (реакция Фудживара — с NaOH и свежеперегнанным пиридином — *розовая* (*красная*) окраска).

3. Барбитураты: извлечение из мочи эфиром при pH 4–5, выпаривание, сухой остаток растворяют в  $CHCl_3$  и проводят реакцию с ацетатом кобальта (*голубая* окраска).

4. Ацетилсалициловая кислота (АСК) и салициловая кислоты: к моче прибавляют  $FeCl_3$  (*фиолетовое* окрашивание), либо тест Триндера (смесь хлорида ртути (II) и нитрата железа (III)) — *фиолетовое* окрашивание.

5. Хинин: извлечение  $CHCl_3$  из щелочной среды, реэкстракция  $H_2SO_4$  и флуоресценция.

6. Производные фенотиазина (в моче):

а) реакция с FPN (смесь р-ров  $FeCl_3$ , хлорной кислоты, азотной кислоты) — наблюдается *розовое, красное, красно-фиолетовое* или *голубое* окрашивание в зависимости от структуры и количества производных);

б) прибавление раствора  $FeCl_3$  (*розовое* окрашивание).

7. Имипрамин и близкие соединения: тест Форреста ( $K_2Cr_2O_7$ ,  $H_2SO_4$ ,  $HClO_4$ ,  $HNO_3$ ) — *желто-зеленая* окраска.

8. Парацетамол, фенацетин: о-крезол — аммиачный тест (*синяя* окраска).

9. Окислители (броматы, хлораты, гипохлориты, иодаты, нитриты, нитраты): дифениламинный тест (*синяя* окраска).

Технология производства различных вариантов тест-систем для определения наиболее распространенных наркотиков основана на твердофазном иммуноферментном методе анализа (ИФА).

Проводится с помощью специальных тест-полосок, панелей или тест-кассет. Основной реагент — антитела на каждую группу наркотических,

полученных иммунизацией кроликов конъюгированных антигенов, синтезированных методом смешанных ангидридов из модифицированного производного наркотического соединения, который содержит спейсер со свободной карбоксильной группой и белком (БСА).

В тестах чаще всего используют кровь и мочу. Менее распространены являются пот, слюна, волосы и ногти. Также различают моно- и мульти-тесты (только одно вещество или сразу несколько). Существуют специальные экспресс-тесты, которые можно провести в домашних условиях, и тесты, которые проводят в медицинских учреждениях.

Принцип действия теста состоит в том, что при погружении теста в физиологическую жидкость она начинает мигрировать вдоль полоски по принципу ТСХ. Подвижной фазой в данном случае является физиологическая жидкость. Вместе с жидкостью движутся и антитела с красителем. Если в этой жидкости присутствует исследуемый антиген (гормон, инфекционный или онкологический маркер), то происходит его связывание, как с первым, так и со вторым типом антител, что является уже иммунологическим методом анализа. При этом происходит накопление антител с красителем вокруг антител, жестко иммобилизованных в тест-зоне ИХА-полоски, что проявляется в виде окрашенной полосы.

Несвязавшиеся антитела с красителем мигрируют далее вдоль полоски и неизбежно взаимодействуют со вторичными антителами в контрольной зоне, где и наблюдается вторая окрашенная полоса. Взаимодействие в контрольной зоне (окрашенная полоса) должны проявляться всегда (если анализ проведен правильно), независимо от присутствия исследуемого антигена в физиологической жидкости. Результаты определяются визуально или компьютерной обработкой отсканированного изображения (рис. 4).

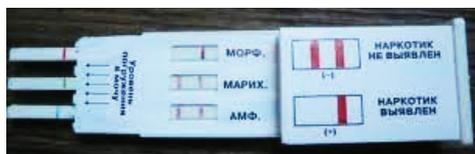


Рис. 4. Иммунохимический тест

#### **ПОДТВЕРЖДАЮЩИЕ МЕТОДЫ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ, СОВОКУПНАЯ ОЦЕНКА ВСЕХ ДАННЫХ**

Основной задачей судебно-химической экспертизы является выбор оптимального метода изолирования веществ. Для обнаружения и идентификации применяются как предварительные методы (цветные реакции,

тонкослойная хроматография, иммуноферментные методы и т. д.), так и подтверждающие инструментальные (СФМ в видимой, УФ- и ИК-областях, атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС), ГЖХ, хромато-масс-спектрометрия). Подтверждающие методы исследования должны быть более чувствительными и специфичными по сравнению с предварительными методами.

При применении прямой УФ-спектрометрии следует учитывать влияние метаболитов и других загрязняющих соэкстрактивных веществ, а также чувствительность и недостаточную специфичность метода. При применении газовой и жидкостной хроматографии для уменьшения ошибок, связанных с адсорбцией на поверхности, потерь в процессе экстракции, при выпаривании растворителей, дериватизации и невоспроизводимости, обусловленной различной техникой ввода пробы, следует использовать метод внутреннего стандарта, который должен обладать физико-химическими свойствами, сходными с анализируемым веществом.

Физико-химические свойства внутреннего стандарта должны быть такими, чтобы он элюировался с анализируемым веществом и отличался от остальных веществ, которые могут присутствовать в образце. По возможности нужно использовать гомолог анализируемого вещества, который должен также растворяться и равномерно смешиваться с анализируемой пробой.

Многие ЛС и другие токсикологически важные вещества метаболизируются в организме и превращаются в полярные и конъюгированные метаболиты, которые ввиду низкой летучести *плохо поддаются газохроматографической идентификации*. Кроме того, конъюгаты трудно изолируются обычными экстракционными методами, поэтому предпочтительно разрушать конъюгаты с помощью гидролиза (кислотного, щелочного, энзимного) перед экстракцией, а затем экстрагировать метаболиты, подвергать дериватизации для улучшения термической стабильности и увеличения их летучести. Однако следует учитывать, что некоторые вещества подвергаются изменениям во время упомянутых аналитических процедур (кислотный гидролиз, дериватизация, термические превращения при газохроматографическом процессе и т. д.), и это может быть дополнительным признаком для идентификации нативных веществ и их метаболитов.

Исследование может быть произведено на определенное соединение, группу веществ или на неизвестное вещество в зависимости от вопросов, поставленных в сопроводительном документе.

Если возникает необходимость в анализе на другие вещества, то эксперт обязан расширить исследование.

Для исследования всегда нужно применять лишь те методы и процедуры, с которыми эксперт ранее ознакомился, владеет ими, знает все условия воспроизведения, сможет учесть все ошибки, которые возникают при их применении. Любые изменения метода или процедуры должны быть четко

документированы, объяснены причины их изменения, согласованы с методическими рекомендациями, приказами, научными статьями.

В зависимости от поставленных задач разрабатывается соответствующая схема анализа. Если анализ направлен на обнаружение одного яда или группы веществ, то применяют специально разработанные частные методики. По возможности должно быть применено не менее двух независимых методов, каждый из которых основан на различных принципах для надежной идентификации.

Если потребуется обнаружить или исключить широкий круг ядов (на неизвестное вещество), то необходимо применить комплексный подход. Для этого следует провести скрининг-анализ с последующим применением подтверждающих методов, основанных на различных аналитических принципах. Результаты каждого сравнивают, что позволяет ограничить круг подозреваемых веществ. В случае обнаружения какого-либо соединения, для надежной идентификации последнего необходимо произвести сравнительный анализ предполагаемого вещества с соответствующим стандартом подлинного вещества или применить метод добавок к биоматериалу, а также учесть результаты контрольного опыта.

Каждое судебно-химическое исследование следует проводить как количественное исследование, в которое оно и может быть превращено на любой стадии работы. Объекты для всех испытаний берут по массе, а получаемые при анализе дистилляты, диализаты, фильтраты — по объему.

Все методы количественного определения должны быть апробированы на той биоматрице, которая будет использоваться для анализа (кровь, моча, ткани органов), к которой добавляют заведомо известное количество вещества и подвергают исследованию по данной схеме анализа. Для повышения точности определения обнаруживаемого вещества проводится не менее двух определений для каждого объекта, учитывают средний результат.

Следует убедиться в химической чистоте используемых для анализа реактивов, при этом на чистоту реактивы проверяют в тех максимальных количествах, в которых они будут употреблены, и теми же методами и реакциями, которые будут применены в ходе судебно-химического исследования.

Для обеспечения высокого качества экспертизы рекомендуется производить внутрилабораторный и внешний контроль качества, ориентированный как на метод, так и на определяемое вещество.

## **ВЫДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ МЕТОДОМ ТВЕРДО-ЖИДКОСТНОЙ ЭКСТРАКЦИИ**

Выбор способа изолирования определяется в основном характером исследуемого объекта и физико-химическими свойствами определяемого вещества. На исследование могут поступать биожидкости (кровь, моча, слюна),

промывные воды и содержимое желудка, паренхиматозные органы (печень, почки) и др. В общем, процесс изолирования токсических веществ органической природы из твердых биологических объектов можно рассматривать как 2-этапный:

1) 1-й этап: твердожидкостная экстракция (используют растворители, называемые *извлекаателями*);

2) 2-й этап: концентрирование (жидкостно-жидкостная экстракция, сорбция, хроматографические методы).

Жидкости, полученные при извлечении токсических веществ из биоматериала полярными растворителями (подкисленной водой или подкисленным спиртом), называют *вытяжками*.

Извлечение веществ из внутренних органов трупа зависит как от качественных (природа объекта, анализируемого вещества, экстрагента, добавление электролита), так и количественных факторов (навеска органа, рН среды, время экстракции, объем экстрагента и др.). На степень экстракции влияет состояние объекта (свежий или находящийся в стадии разложения).

В качестве извлекателей на 1 этапе изолирования применяют в основном воду и этанол, так как они в большей степени удовлетворяют предъявляемым требованиям (растворяют исследуемые вещества, незначительно извлекают эндогенные вещества, малотоксичны, легко диффундируют в клетки тканей).

Вода хорошо извлекает соединения, ионизированные при определенных значениях рН. Извлечение водой гидрофобных соединений (барбитураты) при рН 1–3 можно объяснить действием эндогенных поверхностно-активных веществ (жирные кислоты, фосфолипиды), находящихся в тканях и способствующих солюбилизации молекул веществ кислотного характера.

Применение этанола имеет некоторые преимущества по сравнению с водой: хорошо извлекает ионизированные и неионизированные формы веществ; в меньшей степени извлекает белки, так как обладает депротенизирующим действием; большие объемы экстрактов можно концентрировать упариванием. Методики извлечения экзогенных веществ спиртом также не являются идеальными. Они длительны (8–10 дней), при осаждении белков наблюдаются потери определяемых веществ, при нагревании разрушаются термолabile соединения.

Для создания необходимого значения рН применяются как органические (щавелевая, уксусная, трихлоруксусная), так и разбавленные минеральные (серная, хлороводородная) кислоты и основания (гидроксид натрия, аммиак). Введение кислот способствует ионизации веществ основного характера и повышению их экстрагируемости полярным растворителем. Применение таких кислот — сильных электролитов, как трихлоруксусная и щавелевая кислоты не только поддерживает определенное значение рН, но и способствует осаждению белковых веществ.

Добавление электролитов (сульфаты аммония, натрия) способствует разрушению комплекса «белок-алкалоид» и повышает выход определяемого соединения, а также получаются более чистые извлечения. Однако следует иметь в виду, что электролиты могут сорбировать определяемые вещества, что приведет к их потере. Электролиты могут изменять pH среды, что также повлияет на полноту извлечения определяемых соединений.

На полноту извлечения влияют и *количественные факторы*. Считают оптимальным соотношением навески органа и извлекателя 1 : 2. Хотя в некоторых случаях установлено, что степень извлечения увеличивается при изменении этого соотношения до 1 : 7. При соотношении 1 : 1 в присутствии кислот из тканей выделяются вещества, влияющие на растворимость определяемых веществ в воде. Обычно для изолирования берут 100 г биоматериала, в настоящее время имеются рекомендации об анализе 10–20 г.

Оптимальное время извлечения зависит как от природы определяемого вещества, так и от вида и количества извлекателя. При извлечении веществ водой равновесие наступает через 0,5–2 ч (метод Васильевой), этанолом — около 24 ч (метод Стаса-Отто, используемый при гнилостных процессах в биологическом материале).

В зависимости от кислотно-основных свойств определяемого вещества для извлечения его требуется определенное значение pH среды. Пользуясь уравнением Гендерсона–Хассельбаха, можно рассчитать необходимое значение pH для изолирования веществ полярными растворителями:

$$\text{pH} = \text{pK}_a - \lg \frac{C_{\text{к}}}{C_{\text{осн}}} .$$

В условиях максимальной ионизации наблюдается лучшая растворимость вещества в воде и, соответственно, более полное извлечение. В кислых растворах алкалоиды практически полностью ионизированы. Для веществ кислотного характера максимальная ионизация наблюдается в щелочной среде. При  $\text{pH} = \text{pK}_a$  в растворе устанавливается равновесие между ионной и молекулярной формами.

Для извлечения токсических органических веществ, при расчете оптимальных значений pH пользуются зависимостью  $\text{pH}_{\text{опт}} = \text{pK}_a \pm 2$ .

Расчитанные значения pH не всегда являются оптимальными. Например, значения pH 5–7 соответствуют области максимального взаимодействия веществ основного характера с белками. Поэтому извлечение веществ основного характера проводят при pH 2–3 (метод Крамаренко), а веществ кислотного характера — из щелочной среды (частный метод Валова). Для извлечения слабых оснований целесообразно создавать  $\text{pH} \leq 1$  и, соответственно, при общем анализе извлечения (1 этап) рекомендуется проводить при pH 1–2.

Следующим этапом ХТА органических веществ является концентрирование, которое проводится разными способами (жидкость-жидкостная экстракция, сорбция, тонкослойная препаративная хроматография и др.) Применение трехкратной жидкость-жидкостной экстракции позволяет увеличить концентрацию токсических веществ, провести их разделение и очистку.

### **ОБЩИЕ МЕТОДЫ ИЗОЛИРОВАНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ: МЕТОДЫ СТАСА-ОТТО, ДРАГЕНДОРФА, ШВАЙКОВОЙ-ВАСИЛЬЕВОЙ**

При общем анализе биологических объектов используются общие (универсальные) методы изолирования подкисленным спиртом или водой. В случае направленного анализа используют частные методы, выбор которых определяется константой ионизации вещества.

Изолирование экзогенных веществ при общем анализе из твердых биообъектов состоит из 3 стадий:

1. Извлечение полярным растворителем (спирт, ацетон, вода и др.), то есть твердожидкостная экстракция.

2. Жидкость-жидкостная экстракция веществ кислотного характера из кислого раствора.

3. Жидкость-жидкостная экстракция веществ основного характера из щелочной среды.

**Изолирование лекарственных веществ подкисленным спиртом (рис. 5):**

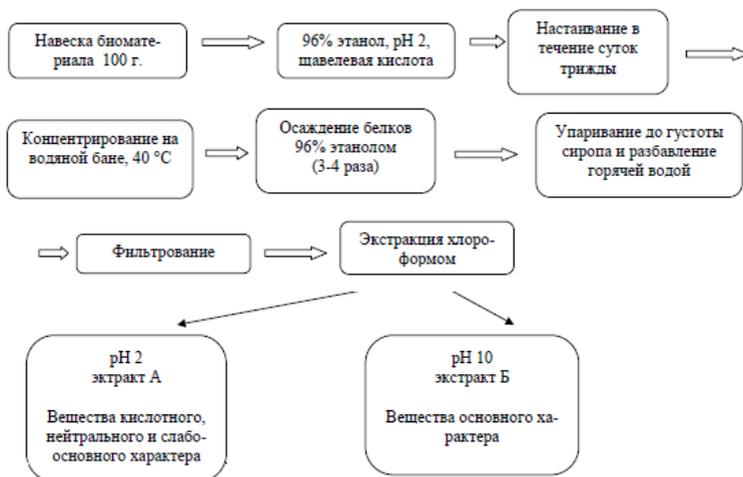


Рис. 5. Общий метод изолирования токсических веществ подкисленным спиртом (современная модификация метода Стаса-Отто)

Этот метод применяется при выделении токсических веществ из гни- лостного биоматериала.

*Достоинства метода:* способность спирта свертывать, переводить в нерастворимое состояние белки — главную составную часть большинства объектов судебно-химического исследования.

*Недостатки метода:*

- длительность настаивания, упаривания и осаждения белков (2–5 дней);
- большое количество операций;
- возможность потери малых количеств алкалоидов как вследствие ад- сорбции их белками и фильтровальной бумагой, так и в результате продолжи- тельного нагревания в кислом растворе (гидролиз кокаина, атропина и др.);
- дороговизна метода (около 500 мл 96%-ного этанола на одно исследо- вание).

**Изолирование лекарственных веществ подкисленной водой.** По мето- ду Драгендорфа (рис. 6) алкалоиды и другие вещества извлекали 2–3 раза при температуре 40–50 °С водой, содержащей серную кислоту. Водные вы- тяжки упаривали и настаивали с 3–4-кратным объемом 96%-ного спирта в течение суток и фильтровали.

Из кислого фильтрата последовательно извлекали токсические вещества петролевым эфиром (салициловая, бензойная кислоты), бензолом (кофеин, фенол, антипирин), хлороформом (папаверин, теобромин). Фильтрат под- щелачивали раствором аммиака и экстрагировали алкалоиды петролевым эфиром (никотин, стрихнин, хинин), бензолом (атропин, кокаин, стрихнин, кодеин), хлороформом (папаверин), амилловым спиртом (морфин).



Рис. 6. Общий метод изолирования токсических веществ водой, подкисленной серной кислотой (метод Драгендорфа)

*Метод имеет недостатки:* при упаривании сернокислой вытяжки происходит гидролиз некоторых веществ (атропин, скополамин, кокаин и др.); в результате применения нескольких растворителей наблюдаются по- тери веществ.

**Изолирование лекарственных веществ водой, подкисленной ща- велевой кислотой (метод Швайковой–Васильевой).** Сущность мето- да А. А. Васильевой состоит в том, что тщательно измельченный трупный

материал (100 г) заливают 200 мл дистиллированной воды, подкисляют 10%-ным раствором щавелевой кислоты до кислой реакции на лакмус и оставляют на 2 ч при частом взбалтывании. После 2 ч вытяжку процеживают через марлю. Остаток на марле несколько раз промывают водой.

Вытяжку и промывные воды объединяют и 3–4 раза извлекают токсические вещества сначала хлороформом из кислого, а затем из подщелоченного раствора. Анализируют хлороформные вытяжки из кислого раствора, потом — из щелочного. В настоящее время этот метод несколько усовершенствован: экстракцию веществ из кислой среды проводят эфиром, так как коэффициент распределения веществ кислотного характера для систем эфир/вода значительно больше, чем для системы хлороформ/вода. Такой метод носит название «метод Швайковой–Васильевой» (рис. 7).



Рис. 7. Общий метод изолирования токсических веществ подкисленной водой (метод Швайковой–Васильевой)

*Недостаток метода:* образование стойкой эмульсии при экстракции алкалоидов хлороформом. Во избежание образования стойкой эмульсии к водному извлечению добавляют растертый хлорид натрия до насыщения, этиловый или амиловый спирт (до 2 мл) и другие приемы. Для разрушения эмульсий применяется центрифугирование.

## ОСНОВЫ ЖИДКОСТЬ-ЖИДКОСТНОЙ ЭКСТРАКЦИИ.

### КОНСТАНТА И КОЭФФИЦИЕНТ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ.

### СВОЙСТВА И ЭКСТРАГИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ РАСТВОРИТЕЛЕЙ.

### ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ.

### ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ЭКСТРАКЦИИ

Жидкость-жидкостная экстракция (ЖЖЭ) основана на различной растворимости веществ в двух несмешивающихся между собой жидких фазах и является самым распространенным способом выделения лекарственных и наркотических веществ из биологических объектов.

Количественной характеристикой экстракции является коэффициент распределения (D) — отношение растворимости вещества в двух фазах.

Коэффициент распределения D — отношение общей концентрации компонента (если вещество присутствует в различных химических формах) в органической и водной фазах при установившемся равновесии:

$$D = \frac{\sum C_{\text{орг.}}}{\sum C_{\text{водн.}}}$$

Чем больше коэффициент распределения D, тем больше вещества переходит в экстрагент.

**Константа распределения.** Отношение концентрации (активности) вещества в одной определенной форме (например, ML<sub>n</sub>) в фазе органического растворителя к его концентрации (активности) в той же форме в водной фазе называют константой распределения.

Коэффициент и константа распределения связаны с растворимостью вещества. В простейшем случае, когда вещество в обеих фазах существует в одной и той же форме (например, в виде недиссоциированных мономерных молекул), константа и коэффициент распределения равны отношению растворимостей вещества в органическом растворителе и воде.

Еще одной важной количественной характеристикой экстракции является фактор (или степень) извлечения (R):

$$R = \frac{n(A)}{n(A)_\text{и}}$$

где n(A) — количество вещества в органической фазе; n(A)<sub>и</sub> — исходное его количество в водном растворе. Фактор извлечения связан с коэффициентом распределения и отношением объемов водной и органической фаз ( $r = V_0/VB$ ) следующим образом:

$$R = \frac{D}{D+1/r} \text{ — уравнение однократной экстракции.}$$

К экстрагенту (органическому растворителю, используемому для экстракции) предъявляются определенные требования: высокая селективность к определяемому веществу, плотность органического растворителя должна значительно отличаться от плотности воды (CHCl<sub>3</sub>, CCl<sub>4</sub>, эфир), низкая температура кипения, несмешиваемость с водой, не токсичность, отсутствие необратимых реакций между растворителем и растворенным веществом, он не должен образовывать эмульсий.

При использовании растворителей с плотностью меньшей, чем у воды, меньше образуется пены. Очистка растворителей производится с использованием *перегонки, ректификации, сорбции* и других методов.

Степень экстракции зависит от свойств определяемого вещества (растворимость,  $pK_a$ , липофильность), природы экстрагента,  $pH$  водной фазы, соотношения фаз, продолжительности экстракции.

В органический растворитель переходят, как правило, неионизированные формы органических веществ. В качестве органических растворителей в ЖЖЭ наиболее часто применяются эфир и хлороформ, так как эти растворители хорошо взаимодействуют с растворенными веществами, то есть сольватируют их.

Вещества кислотного характера чаще экстрагируют эфиром, так как они лучше растворяются в эфире, чем в хлороформе (например, у барбитала  $D = 5,2$  для эфир – вода и  $D = 0,7$  для хлороформ – вода). Хлороформ чаще используется для экстракции веществ основного характера. Применение смеси органических растворителей в ряде случаев позволяет повысить степень извлечения определяемого вещества. В этом случае к тому же уменьшается степень сорбции вещества на стекле и объекте.

Экстракция определяемого вещества в значительной степени зависит от его физико-химических свойств и в первую очередь от его липофильности (липофильность вещества определяется наличием в нем заместителей, их количеством и видом), то есть от коэффициента распределения. В органическую фазу переходят вещества с большей липофильностью. Переход вещества из водной фазы в органическую зависит от его кислотно-основных свойств, что выражается уравнением Гендерсона–Хассельбаха.

На первом этапе изолирования степень экстракции зависит от степени ионизации вещества, так как в полярный растворитель переходят ионизированные формы веществ. На втором этапе необходимо создать условия, при которых вещество будет находиться в недиссоциированной (молекулярной) форме.

Поэтому экстракцию веществ кислотного характера проводят при  $pH = pK_a - 2$ , а основного —  $pH = pK_{BH^+} + 2$ .

Для веществ слабоосновного и нейтрального характера не требуется строгое соблюдение  $pH$  водной фазы, так как такие вещества хорошо экстрагируются органическими растворителями как из кислого, так и из щелочного растворов (производные пурина, пиразола). При изолировании амфотерных соединений (морфин, теобромин), имеющих кислотные и основные центры, оптимальное значение  $pH$  водной фазы соответствует изоэлектрической точке, в которой такие соединения не имеют электрического заряда. Применение смеси растворителей (полярный и неполярный) повышает степень экстракции амфотерных соединений. Для полноты экстракции экзогенных веществ необходимо учитывать и другие факторы. Обычно применяется трехкратная экстракция при соотношении водной и органической фаз 3 : 1, а при экстракции эфиром — 1 : 1. Продолжительность экстракции определяется

экспериментально, обычно равновесие устанавливается в первые 3–5 мин. При резком встряхивании образуются трудноразделимые эмульсии. При центрифугировании происходит четкое разделение фаз.

Выделение ионных соединений возможно в виде ионных ассоциатов. При экстракции анионных соединений в раствор вводят соль органического основания с большой молекулярной массой и проводят экстракцию. Катионы органических оснований образуют ионные ассоциаты с солями органических кислот. Различают также экстрагенты полярные (с высокой диэлектрической проницаемостью, например, спирты, эфиры) и неполярные (с малой диэлектрической проницаемостью, например, углеводороды, четыреххлористый углерод).

По теплоте испарения экстрагенты делят на легко- и малолетучие.

### **ОСНОВЫ МЕТОДА ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ. ЭТАПЫ ПРОВЕДЕНИЯ**

Процесс пробоподготовки, как правило, является наиболее трудоемкой и сложной стадией анализа реальных образцов для большинства химико-аналитических лабораторий. Неудачный выбор методов подготовки и очистки пробы может привести к неверным результатам.

В настоящее время широко используется метод выделения и очистки веществ, известный как твердофазная экстракция (ТФЭ). Метод основан на распределении целевого компонента между подвижной и неподвижной фазами в результате сорбционных и/или ионнообменных процессов, протекающих в специальной колонке (картридже) для ТФЭ.

Различают два основных раздела твердофазной экстракции. При проведении удерживающей ТФЭ целевой компонент сначала удерживается на сорбенте, при этом мешающие примеси сорбентом не удерживаются, а затем происходит элюирование (смывка) целевого компонента. При неудерживающей ТФЭ на сорбенте сразу оседают мешающие примеси, а целевой компонент проходит через колонку, не удерживаясь. Таким образом достигается его очистка от мешающих примесей.

Пробы большого объема могут быть обработаны с использованием сравнительно малых количеств твердой фазы, что в свою очередь требует малого объема растворителей для последующей десорбции сконцентрированных соединений, снимает необходимость дополнительного выпаривания и существенно уменьшает риск загрязнения образца.

ТФЭ наиболее часто используется при проведении пробоподготовки жидких образцов, для экстрагирования слаболетучих и нелетучих образцов, а также при пробоподготовке твердых образцов, которые предварительно подверглись экстракции растворителем. ТФЭ находит широкое применение в области анализа фармацевтических препаратов, пищевых продуктов, при мониторинге экологических объектов.

Последовательность действий при подготовке пробы методом ТФЭ:

1. Проведение экстракции образцов.
2. Отделение исследуемого объекта от мешающих примесей.
3. Концентрирование образца.

Преимущества ТФЭ в сравнении с жидкостно-жидкостной экстракцией: селективность и специфичность, более глубокое разделение, высокое количественное извлечение исследуемого образца (> 75 %), отличная воспроизводимость, легкость в обращении, возможность оптимизации, экономия дорогих растворителей.

Сорбция органических веществ из водных систем основана на распределении веществ между сорбентом и водой. Степень сорбции и десорбции органических веществ определяется состоянием веществ в растворе. В ряде случаев сорбция имеет преимущества перед жидкостно-жидкостной экстракцией, при которой образуется эмульсия, получаются разбавленные растворы, необходимо выпаривание. Сорбцией можно выделить гидрофильные соединения и их метаболиты.

Выбор условий сорбции и десорбции является решающим при выделении экзогенных веществ из биожидкостей. Удачный выбор элюента позволяет достичь максимального выхода определяемых веществ и чистых элюатов. Для веществ кислотно-основного характера сорбция зависит от величины рН. Например, для барбитуратов создают рН 2, морфина — 8–9, амфетамина и его аналогов — 9–12. При исследовании крови необходима предварительная обработка крови (отделить сгустки фибрина центрифугированием или фильтрованием, разбавить кровь водой или буферным раствором в соотношении 1 : 2 или 1 : 5). Для мочи не требуется предварительная подготовка.

Методика изолирования экзогенных веществ, например, из мочи, состоит из нескольких этапов (рис. 8).

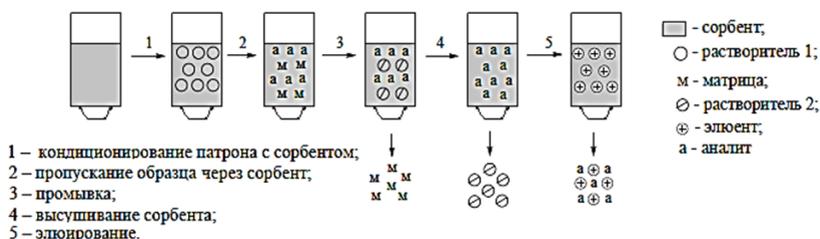


Рис. 8. Этапы изолирования экзогенных веществ

## **СОЧЕТАНИЕ МЕТОДОВ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ С МЕТОДАМИ ОЧИСТКИ И АНАЛИЗА. СПОСОБЫ И МЕТОДЫ ОЧИСТКИ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ И ЭКСТРАКТОВ**

Извлечения из биологического материала всегда загрязнены жирами, белками, красящими, дубильными и другими веществами, что в значительной степени затрудняет дальнейшее исследование и требует проведения дополнительной очистки. Используемые методы делят на грубые методы очистки и методы тонкой очистки.

К **грубым методам очистки** относятся:

1. *Процеживание* (методы Васильевой, Драгендорфа).

2. *Фильтрация и центрифугирование*.

3. *Осаждение белков* трихлоруксусной кислотой, этанолом, высаливанием электролитами. Высаливание эффективно при очистке из гнилостного биоматериала. Для осаждения примесей применяют также таннин, вольфрамную, фосфорно-вольфрамную и фосфорно-молибденовую кислоты. Эти методы приводят к значительным потерям определяемых веществ, связанных с белками.

4. *Вымораживание жира* из экстракта с последующим его механическим удалением.

К **методам тонкой очистки** относят различные виды хроматографии (ТСХ, колоночная, ВЭЖХ), диализ, электрофорез, экстракцию, реэкстракцию, сорбцию. Наиболее доступными, простыми и эффективными методами очистки являются экстракция, реэкстракция и сорбция. Хроматографические методы и электрофорез требуют специального оборудования и материалов.

Сочетание методов концентрирования с методами очистки и анализа. Например, в общем методе изолирования Стаса–Отто: способность спирта свертывать, переводить в нерастворимое состояние белки — главную составную часть большинства объектов судебно-химического исследования.

Экстрагирование хлороформом в этом же методе из кислого водного раствора способствует очистке жидкости от жира, красящих, дубильных и других веществ, мешающих дальнейшему качественному обнаружению, главным образом, алкалоидов.

Гель-хроматография в методе Поповой для выделения и очистки барбитуратов и др.

## МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ (НОРМАЛИЗАЦИИ, АБСОЛЮТНОЙ ГРАДУИРОВКИ, ВНУТРЕННЕГО СТАНДАРТА)

В методе **нормировки** (внутренней нормализации) сумму хроматографических параметров (площадей или высот пиков) принимают за 100 %. Массовую долю ( $\omega_i$ , %) определяемого компонента рассчитывают, как отношение высоты или площади одного пика ( $S_i$ ) к сумме высот или площадей всех пиков ( $\Sigma S$ ):

$$\omega_i = (S_i \cdot 100 \%) / \Sigma S.$$

В связи с различной чувствительностью детектора к компонентам пробы предварительно для каждого компонента рассчитывают калибровочные (поправочные) коэффициенты: к площадям ( $K_{Si}$ ) или высотам ( $K_{hi}$ ) пиков. Определение поправочных коэффициентов проводится при последовательном хроматографировании серии бинарных смесей, составленных из определяемого компонента (i) и стандарта (ст):

$$K_{Si} = (S_{ст} C_i) / (S_i C_{ст});$$
$$K_{hi} = (h_{ст} C_i) / (h_i C_{ст}).$$

Формула для расчета массовой доли определяемого компонента с учетом поправочных коэффициентов имеет вид:

$$\omega_i = (K_{Si} \cdot S_i \cdot 100 \%) / \Sigma = n_{i1} (K_{Si} \cdot S_i).$$

*Достоинство метода* нормировки заключается в том, что искажения, имеющиеся у всех пиков, не влияют на точность результатов. Погрешности метода связаны с постепенным изменением режима в процессе выполнения анализа.

В методе **абсолютной калибровки** (или методе градуировочного графика) строят графическую зависимость высоты (h) или площади (S) пика от содержания определяемого вещества в пробе.

Расчет массовой доли i-го компонента в % и концентрации в г/л проводят по формулам:

$$\omega_i = (g_i \cdot 100 \%) / a = (A_s \cdot S_i \cdot 100 \%) / a \quad (7,50) \quad C_i = (1000 \cdot g_i) / V_i \quad (\text{г/л}),$$

где a — масса пробы;  $g_i$  — содержание i-го компонента, найденное по градуировочному графику;  $V_i$  — объем пробы;  $A_s = g_i / S_i$  (7,52) или  $A_h = g_i / h_i$  (7,53) (угловой калибровочный коэффициент).

Необходимыми условиями работы по методу градуировочного графика являются: точность и воспроизводимость дозирования пробы, соблюдение постоянства режима хроматографирования при калибровке прибора и при

выполнении анализа пробы. Это простой и наиболее точный метод, который применяют при определении одного или нескольких компонентов смеси.

**Метод внутреннего стандарта:** анализируют смесь неизвестного количественного состава, в которую введено известное количество не содержащегося в ней вещества — внутреннего стандарта. Внутренний стандарт должен быть инертен по отношению к компонентам анализируемой смеси, стабильным при температуре опыта, физико-химические свойства его должны быть близки к свойствам большинства компонентов анализируемой смеси.

Метод внутреннего стандарта основан на сравнении параметра пика анализируемого вещества с тем же параметром вещества сравнения, введенного в пробу в известном количестве, и пик которого хорошо разделяется с исследуемыми компонентами.

Рассчитывают количество определяемого вещества по формуле:

$$C = f \cdot h_{\text{иссл.}} / h_{\text{станд.}},$$

где  $f$  — поправочный коэффициент, характеризующий чувствительность детектора.

Например, количественное определение спиртов выполняется методом внутреннего стандарта (*пропанол-1*) — то есть вещества, которое в известной концентрации добавляется к пробе и к стандартным градуировочным растворам. Величиной, пропорциональной концентрации определяемого спирта, является отношение высот или площадей пика спирта к высоте или площади пика внутреннего стандарта.

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЙ: «СКРИНИНГ», «НАПРАВЛЕННЫЙ СКРИНИНГ», «НЕНАПРАВЛЕННЫЙ СКРИНИНГ». ОБЩАЯ СХЕМА НЕНАПРАВЛЕННОГО СКРИНИНГА. ОСНОВНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К СКРИНИНГОВЫМ МЕТОДАМ**

В силу специфики анализа на содержание токсических, в том числе наркотических и других психоактивных веществ (сокрытие факта употребления, фальсификация проб, бессознательное состояние пациента), в основу его методологии положен метод скрининга, используемый при ненаправленном анализе, то есть при анализе на неизвестное вещество.

Скрининг (screening — просеивание) — система методических приемов, позволяющая выбрать научно обоснованную последовательность операций, в результате которых поэтапно «отсеиваются» (или определяются) группы соединений и/или отдельные вещества.

Первый этап скрининга — *проведение предварительных методов исследования* — ставит своей целью получение наименьшего количества ложноотрицательных результатов. Получение ложноотрицательных результатов

может быть связано с недостаточной чувствительностью используемого метода, преднамеренной фальсификацией пробы, недостаточной квалификацией врача лабораторной диагностики, систематическими ошибками исследований.

Второй этап — *проведение подтверждающих методов исследования* — состоит в удалении ложноположительных результатов. Ложноположительные результаты обусловлены недостаточной специфичностью метода за счет перекрестных реакций, загрязненными реагентами, недостаточной квалификацией врача лабораторной диагностики, систематическими ошибками исследований.

Скрининг — научно обоснованная система поиска неизвестного яда, когда в процессе последовательных операций поэтапно отсеиваются отдельные группы веществ или индивидуальные соединения. ТСХ, ГЖХ, ИХМ.

Направленный скрининг: направлен на исследование веществ внутри группы и идентификацию отдельных ее представителей. Например, если есть подозрение или четкая информация на отравление ацетоном; хроматографическое исследование на производные барбитуровой кислоты, позволяющее идентифицировать конкретного представителя в группе барбитуратов.

Ненаправленный скрининг: предусматривает химическое исследование веществ, отличающихся по своему строению и принадлежащих к различным фармакологическим группам. В основном применяется групповая идентификация (например, выделяется группа барбитуратов, производных фенотиазина).

## ОТДЕЛЬНЫЕ ГРУППЫ ТОКСИКАНТОВ. МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ ЯДЫ

### Экология окружающей среды.

#### Роль химических элементов в организме человека

Среди разнообразных загрязняющих веществ *тяжелые металлы* (в том числе ртуть, свинец, кадмий, цинк) и их соединения выделяются распространенностью, высокой токсичностью, многие из них — также способностью к накоплению в живых организмах. Они широко применяются в различных промышленных производствах, поэтому, несмотря на очистительные мероприятия, содержание соединений тяжелых металлов в промышленных сточных водах довольно высокое. Они также поступают в окружающую среду с бытовыми стоками, с дымом и пылью промышленных предприятий.

Многие металлы образуют *стойкие органические соединения*, хорошая растворимость этих комплексов способствует миграции тяжелых металлов в природных водах. К тяжелым металлам относят более 40 химических элементов, но при учете токсичности, стойкости, способности накапливаться

во внешней среде и масштабов распространения токсичных соединений, контроля требуют примерно в четыре раза меньшее число элементов.

В организме обнаружен 81 химический элемент. Из них 12 элементов — структурные (на 99 % формируют элементарный состав человеческого организма). Это углерод, кислород, водород, азот, кальций, магний, натрий, калий, сера, фосфор, фтор, хлор.

Все химические элементы организма делятся на две группы: макро- и микроэлементы. К макроэлементам относятся элементы с концентрацией в организме более 0,001 %: О, С, Н (10,5 %), Fe, К (0,27 %), Са (1,4 %), Mg (0,04 %), Na (0,26 %), N, S, P, Cl. Углерод, водород, кислород и азот — это четыре элемента, которые иногда называют «китами химии», «элементами жизни». Из атомов этих 12 элементов построены не только живые белки, но и вся природа вокруг нас. К микроэлементам относят элементы, доля которых в организме составляет от 0,001 до 0,000001 %. Это цинк, йод, кобальт, хром, медь и др.

Если концентрация элементов в организме еще меньше, то их относят к группе следовых (то есть в организме обнаружены его следы). Это селен, бор, серебро, золото и др.

Водород и кислород — макроэлементы. Они входят в состав воды, которой в организме взрослого человека в среднем содержится около 65 %. Вода неравномерно распределена по органам, тканям и биологическим жидкостям человека. Так, в желудочном соке, слюне, плазме крови, лимфе вода составляет от 99,5 до 90 %. Меньше всего — 40 % воды — содержится в скелете. Макроэлементы — углерод, водород, кислород, азот, сера, фосфор — входят в состав белков, нуклеиновых кислот и других биологически активных соединений организма. Углерод, водород и кислород входят также в состав углеводов, содержание которых в тканях животных и человека невелико: примерно 2 %. Эти элементы входят в состав липидов (жиров). Кроме того, в состав фосфолипидов входит фосфор в виде фосфатных групп. В наибольшей степени липиды концентрируются в головном мозге (12 %), а также в печени (5 %), молоке (2–3 %) и сыворотке крови (0,6 %). Однако основная часть фосфора — 600 г — содержится в костной ткани. Это составляет 85 % от массы всего фосфора, находящегося в организме человека. Концентрируется фосфор и в твердых тканях зубов, в состав которых он входит вместе с кальцием, хлором, фтором в виде гидроксил-, хлор-, фторapatитов с общей формулой  $Ca_5(PO_4)_3X$ , где X = OH, Cl, F соответственно.

Кальций преимущественно концентрируется в костной ткани, а также в зубной ткани. Натрий и хлор в основном содержатся во внеклеточных жидкостях, а калий и магний — во внутриклеточных. В виде фторидов натрий и калий входят в состав костной и зубной ткани. Магний в виде фосфата  $Mg_3(PO_4)_2$  содержится в твердых тканях зуба.

В организмах микроэлементы могут находиться как в связанном состоянии, так и в виде свободных ионных форм. Установлено, что кремний, алюминий, медь и титан в тканях головного мозга находятся в виде комплексов с белками, тогда как марганец — в ионном виде.

Каждый микроэлемент играет важную роль в организме (табл. 1).

Таблица 1

**Значение микроэлементов для организма**

<b>Элемент</b>	<b>Основное значение для организма</b>
Кальций	Обеспечение жестких конструкций (кости, зубы), мышечные сокращения (в том числе мышцы сердца, сосудов, кишечника), проведение нервных импульсов, свертываемость крови, регуляция проницаемости клеточных мембран
Железо	Перенос кислорода, участие в окислительных процессах
Цинк	Иммунитет, функциональное состояние поджелудочной и предстательной желез, рост, половые гормоны
Медь	Функциональное состояние нервной системы, щитовидной железы, суставов, ритм сердечной деятельности, эластичность сосудов
Марганец	Функциональное состояние нервной системы, поджелудочной железы, состояние кожи, костной ткани, уровень сенсибилизации
Магний	Функциональное состояние сердца и сосудов, свертываемость крови, функционирование почек, желчевыводящих путей, нервной системы, иммунная защита, противогрибковая защита кишечника
Хром	Антистрессовая защита, расщепление избыточного жира, регуляция содержания глюкозы в крови
Селен	Противоопухолевая защита, психоэмоциональный статус, физическая активность

**Стабильность химического состава организма.**

**Эссенциальные и токсические микроэлементы. Синергизм и антагонизм микроэлементов в организме человека**

Внутренняя среда организма сохраняет относительное постоянство своего состава — физических и химических свойств (гомеостаз), что обеспечивает устойчивость всех функций организма. Гомеостазом называют устойчивость условий жизнедеятельности клетки во внутренней среде организма.

Органы человека по-разному концентрируют в себе различные химические элементы, то есть микро- и макроэлементы неравномерно распределяются между органами и тканями. Большинство микроэлементов накапливаются в печени, костной и мышечной тканях. Эти ткани являются основным депо. Элементы могут проявлять специфическое сродство по отношению к некоторым органам и содержаться в них в высоких концентрациях. Хорошо известно,

что цинк концентрируется в поджелудочной железе, йод — в щитовидной, фтор — в эмали зубов, алюминий, мышьяк, ванадий накапливаются в волосах и ногтях, кадмий, ртуть, молибден — в почках, олово — в тканях кишечника, стронций — в предстательной железе, костной ткани, барий — в пигментной сетчатке глаза, бром, марганец, хром — в гипофизе и т. д.

Десять металлов, жизненно необходимых для живого организма, получили название «металлы жизни». Так, установлено, что в организме человека массой 70 кг содержание «металлов жизни» составляет (в граммах): кальция — 1700, калия — 250, натрия — 70, магния — 42, железа — 5, цинка — 3, меди — 0,2, марганца, молибдена и кобальта (вместе взятых) — менее 0,1.

Некоторые макроэлементы (магний, кальций) и большинство микроэлементов содержатся в организме в виде комплексов с биолигандами — аминокислотами, белками, нуклеиновыми кислотами, гормонами, витаминами и т. д. Так, ион  $Fe^{2+}$  входит в состав гемоглобина,  $Co^{3+}$  — в витамин  $B_{12}$ ,  $Mg^{2+}$  — в хлорофилл. Известны многочисленные биокомплексы и других элементов (Cu, Zn, Mo и др.).

На изменение содержания химических элементов в организме влияют различные заболевания. Так, при рахите происходит нарушение фосфорно-кальциевого обмена, что приводит к снижению содержания кальция. При нефрите из-за нарушения электролитного обмена уменьшается содержание кальция, натрия, хлора и повышается содержание магния, калия в организме. Среди множества микроэлементов в организме всего 9 являются эссенциальными, то есть их дисбаланс приводит к возникновению клинических симптомов. Все остальные являются неэссенциальными — для них характерны определенные биологические функции, но синдромы дефицита неизвестны.

Токсичные элементы (в частности, некоторые тяжелые металлы) составляют обширную и весьма опасную в токсикологическом отношении группу веществ. Обычно рассматривают 14 элементов: Hg (ртуть), Pb (свинец), Cd (кадмий), As (мышьяк), Sb (сурьма), Sn (олово), Zn (цинк), Al (алюминий), Be (бериллий), Fe (железо), Cu (медь), Ba (барий), Cr (хром), Tl (таллий). Разумеется, не все перечисленные являются ядовитыми, некоторые из них необходимы для нормальной жизнедеятельности. Поэтому часто трудно провести четкую границу между биологически необходимыми и вредными для здоровья человека веществами. В большинстве случаев реализация того или иного эффекта зависит от концентрации.

**Понятие синергизма и антагонизма микроэлементов в организме человека.** Минеральные вещества могут взаимодействовать как между собой, так и с другими питательными веществами и другими факторами. Это взаимное влияние типа синергизма и антагонизма осуществляется в самой пище, пищеварительном тракте, а также в процессе тканевого и клеточного метаболизма. С практической точки зрения знание этих закономерностей

позволяет предупреждать нежелательные формы взаимодействия и явления так называемых вторичных дефицитов макро- и микроэлементов у человека.

Также различная специфика будет у представителей разного пола, при различных физиологических состояниях, в различное время года, под влиянием различных психоэмоциональных и физиологических нагрузок. Вероятность взаимодействия вследствие их лабильности и способности к образованию связей значительно больше, чем между другими питательными веществами.

Синергистами считают элементы, которые:

а) взаимно способствуют усвоению друг друга в желудочно-кишечном тракте;

б) взаимодействуют в осуществлении какой-либо обменной функции.

Примеры:

1) медь улучшает усвоение и увеличивает пользу, приносимую железом;

2) цинк при взаимодействии с марганцем активизирует супероксид-дисмутазу, которая необходима для нейтрализации свободных радикалов, вызывающих многочисленные повреждения в клетках.

Антагонистами можно считать элементы, которые:

а) тормозят всасывание друг друга в ЖКТ;

б) оказывают противоположное влияние на какую-либо биохимическую функцию в организме.

Примеры:

1) цинк и медь взаимно тормозят абсорбцию друг друга в ЖКТ;

2) железо уменьшает усвоение марганца.

## **РАСПРОСТРАНЕНИЕ В ПРИРОДЕ МЕТАЛЛОВ. ПЕРЕЧЕНЬ «МЕТАЛЛИЧЕСКИХ» ЯДОВ, ПОДЛЕЖАЩИХ СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ**

Большая часть металлов присутствует в природе в виде руд и соединений. Они образуют оксиды, сульфиды, карбонаты и другие химические соединения. Для получения чистых металлов и дальнейшего их применения необходимо выделить их из руд и провести очистку. При необходимости проводят легирование и другую обработку металлов. Изучением этого занимается наука металлургия.

Металлургия различает руды черных металлов (на основе железа) и цветных (в их состав не входит железо, всего около 70 элементов). Золото, серебро и платина относятся также к драгоценным (благородным) металлам. Кроме того, в малых количествах они присутствуют в морской воде и в живых организмах (играя при этом важную роль).

Известно, что организм человека на 3 % состоит из металлов. Больше всего в организме кальция (в костях) и натрия, выступающего в роли

электролита в межклеточной жидкости и цитоплазме. Магний накапливается в мышцах и нервной системе, медь — в печени, железо — в крови.

Перечень «металлических» ядов, подлежащих судебно-химическому исследованию: барий, свинец, марганец, хром, серебро, медь, цинк, висмут, кадмий, таллий, мышьяк, сурьма, ртуть.

Важнейшими в токсикологическом отношении «металлическими ядами» являются соединения Ba, Bi, Cd, Mn, Cu, Hg, Pb, Ag, Tl, Cr, Zn, которые, попадая в организм человека, вызывают отравления. Накопление металлов в организме может быть вызвано природными факторами (эндемические провинции) или техногенными загрязнениями.

Негативное действие «металлических ядов» на организм человека проявляется в их выраженном нейротоксическом действии. Токсичность объясняется тем, что в организме они связываются с функциональными группами белков, аминокислот, пептидов и других жизненно важных веществ, в результате чего нарушаются нормальные функции клеток тканей. Образующиеся в организме комплексы металлов очень прочные, поэтому изолировать металлы и обнаружить их невозможно без предварительного разрушения органического вещества, с которым они связаны. Для этого применяются методы минерализации.

Механизм токсического действия соединений тяжелых металлов, а также мышьяка и сурьмы, складывается из местного и резорбтивного эффектов. Местное действие проявляется в деструкции ткани и зависит от способности этих соединений к диссоциации. В результате уплотнения и денатурации белка образуется некроз тканей со струпом. Кислотный остаток (анион) сильной кислоты (хлороводородной, азотной) в составе молекулы металлического яда приводит к более выраженному деструктивному действию, чем действие соединений с кислотным остатком слабой кислоты (уксусной, угольной и др.).

К факторам, влияющим на токсичность соединения металлов, усвоение и их воздействие, относятся:

- 1) химические (химические свойства, окислительно-восстановительные потенциалы, частота воздействия);
- 2) физические факторы (освещенность, температура, турбулентность в растворах);
- 3) биологические факторы (размеры, стадия развития, состояние здоровья, акклиматизация).

## **ВСАСЫВАНИЕ, ПРЕВРАЩЕНИЕ, ТРАНСПОРТ, РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И ВЫВЕДЕНИЕ «МЕТАЛЛИЧЕСКИХ» ЯДОВ**

Соединения металлов широко применяются в промышленности, сельском хозяйстве и медицине. В организме соединения металлов присутствуют в различных количествах (макро- и микроэлементы).

Различают необходимые (эссенциальные, незаменимые) микроэлементы (Cu, Zn, Co, Mn, Mo, Fe) и условно необходимые (V, Ni, Cr), биологическая роль которых изучена недостаточно. Такое деление является условным, так как в организме могут происходить нежелательные явления как при недостатке, так и при избытке необходимого элемента. При повышенном содержании в организме некоторые элементы проявляют канцеро- (As, Cr, Ni), нефро- (Cd) и терато- (Hg) токсичность. Возможные канцерогены: соединения кадмия, бериллия и платины.

В организм человека соединения металлов поступают через ЖКТ, органы дыхания и кожу. После всасывания в кровь соединения элементов распределяются по органам и тканям.

**Всасывание, распределение и выделение металлов** осуществляется в результате проникновения их через множество пограничных поверхностей: слизистой ЖКТ, эпителия верхних дыхательных путей и альвеол, эндотелия сосудов и других биомембран. Основным источником поступления в кровь является кишечник, так как ионные формы элементов плохо всасываются из желудка. Диффузия и активный транспорт — основные механизмы переноса через эпителий кишечника. Интенсивное поступление соединений металлов через дыхательные пути объясняется большой площадью внутренней поверхности легких (около 60 м<sup>2</sup>).

Всасывание соединений металлов в ЖКТ происходит в разных отделах и в неодинаковой степени, но преимущественно в верхнем отделе тонкого кишечника. Многие мало или почти не абсорбируются в ЖКТ, так как образуют плохо растворимые соединения. Всасывание кадмия в ЖКТ менее 30 %.

Всасывание зависит от формы, в виде которой металлы поступают: хорошо всасываются соединения металлов из пищи, где они находятся в виде комплексов с органическими соединениями.

**Превращения.** В желудке соединения свинца под действием HCl желудочного сока превращаются в хлориды. В толстом кишечнике образуются сульфиды, например, PbS. Элементы с переменной степенью окисления подвергаются в организме восстановлению: As (VI) восстанавливается до As (III), который более токсичен; Cr (VI) до Cr<sup>3+</sup>, дающий комплексы с белками.

**Транспорт.** Переносятся кровью и тканевой жидкостью в различном состоянии. Хорошо растворимые соли металлов находятся в крови в виде ионов. В ионной форме в крови циркулирует значительная часть Mn, Pb, Hg.

Некоторые находятся в связанном состоянии с биоконплексонами. Многие металлы накапливаются в клетках крови, главным образом, в эритроцитах. В эритроцитах находится почти весь мышьяк, значительная часть селена, свинца.

Длительность циркуляции в крови определяется формой, в которой находится металл. Свободные ионы быстро удаляются из крови, дисперсные коллоидные комплексы циркулируют дольше.

**Распределение.** Различают две группы элементов по распределению их в организме:

1. Распределяющиеся в мягких тканях (As, Hg, Sb, C, Bi, Zn, Fe, Se, Au, Ag).
2. Локализующиеся в костях (Be, Pb, Ba, Sr, Cd и др.).

Распределение определено физико-химическими свойствами образующихся соединений. Крупные коллоидные частицы захватываются ретикуло-эндотелиальной системой печени, почек, костного мозга, где они временно задерживаются. Более прочным депо является скелетная система, где оказываются металлы, поступающие в виде хорошо растворимых и полностью диссоциирующих соединений.

Избирательное накопление металлов в некоторых органах объясняется содержанием лигандов, с которыми металлы образуют комплексы. Таким органом для ртути, кадмия и таллия являются почки, белки которых богаты SH-группами. Железы внутренней секреции содержат также много металлов, что связано с интенсивным кровоснабжением желез.

**Выделение металлов** в основном через ЖКТ и почки. Наиболее быстро выделяются металлы, находящиеся в организме в ионной форме, затем лабильно связанные и, в последнюю очередь, фракция металлов, образующих прочные комплексы. Путь преимущественной элиминации резорбированного металла через почки или ЖКТ в определенной степени зависит от формы его циркуляции и депонирования. Металлы, находящиеся в крови в молекулярно-дисперсном состоянии, в виде ионов или в виде слабых комплексов, выделяются преимущественно с мочой.

Многие «тяжелые» металлы, в том числе Pb, Mn, Hg и др., частично циркулируют в крови и тканевой жидкости в виде ионов и слабых комплексов и образуют в тканях лабильные соединения. Поэтому другие металлы, выделение которых происходит в основном через ЖКТ, частично элиминируются и через почки. На примере радиоактивных изотопов установлено, что металлы, откладывающиеся в печени, характеризуются низким выделением с мочой и высоким — через кишечник.

К основным объектам, содержащим соединения металлов, относятся кровь, моча, волосы. Волосы обычно исследуют при хронических отравлениях соединениями мышьяка, таллия и др.

## **КЛАССИФИКАЦИЯ МЕТОДОВ ИЗОЛИРОВАНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ (СУХОЕ ОЗОЛЕНИЕ, ВЛАЖНОЕ ОЗОЛЕНИЕ, ДРУГИЕ МЕТОДЫ)**

Обнаружение и определение «металлических» ядов производится после минерализации биообъектов. Ионы металлов образуют в биологических объектах прочные комплексы с белками, пептидами, аминокислотами.

*Минерализация* — процесс разрушения органических веществ под действием физических и химических факторов с целью выделения металла в форме, удобной для анализа.

Иногда не происходит полного разрушения органических веществ до образования  $\text{CO}_2$ , воды и др., но в результате сложные соединения металлов с белком разрушаются. При этом образуются более простые и менее прочные комплексы, которые разлагаются при дальнейшем исследовании, что позволяет обнаружить искомое с помощью качественных реакций и провести количественное определение.

При оптимальной схеме минерализации необходимо следовать трем главным принципам:

- 1) органические компоненты матрицы должны быть полностью удалены;
- 2) содержание соединений металлов не должно изменяться ни за счет потерь, ни за счет загрязнений;
- 3) ионы электролитов должны быть полностью солиобилизованы и находиться в форме, пригодной для определения.

По технике выполнения методы минерализации делятся на методы «мокрой (влажной)» минерализации и сухого озоления. Методы «мокрой» минерализации выполняют с применением кислот-окислителей и других реагентов, при сухом озолении пробы сжигают с карбонатами или нитратами. При анализе биожидкостей пробу предварительно упаривают до небольшого объема.

**Сухое озоление.** Метод простого сжигания основан на нагревании органического вещества (объекта) при высокой температуре при доступе воздуха. Сухое озоление проводят в фарфоровых, платиновых или кварцевых тиглях. На исследование берут небольшие навески (1–3 г), температура нагревания достигает 300–400 °С. Метод применяется при специальных заданиях по обнаружению катионов марганца, меди, цинка, висмута, особенно в тех случаях, когда объект либо очень эластичен, трудноразрушаем, либо его количество ограничено.

*Недостатки метода:*

1. При нагревании возможно улетучивание металлов в виде солей или в индивидуальном виде, так как при нагревании в условиях проведения сухого озоления не всегда удается контролировать температуру. Даже при

относительно невысокой температуре улетучиваются соединения ртути и таллия, а при температуре свыше 400 °С — хлориды кадмия, свинца, серебра, цинка, марганца, мышьяка.

2. Возможно взаимодействие некоторых металлов с материалом тигля, например, цинк, свинец, серебро могут реагировать с кварцем и фарфором, а кобальт может сплавляться с платиной.

Метод сплавления с нитратами щелочных металлов в ХТА применяется реже, чем сухое озоление. Биологический материал нагревают с расплавленными нитратами щелочных металлов.

Но с чистыми нитратами окисление идет очень быстро, особенно при повышенных температурах, при этом может наблюдаться выбрасывание пробы из тигля. Поэтому для предотвращения бурного протекания реакции при сплавлении применяют смесь нитратов с карбонатами щелочных металлов.

*Главным недостатком метода сухого озоления является неконтролируемая высокая температура, при которой возможны потери элементов из-за улетучивания. Недостатком такого метода является и невозможность минерализовать большие количества пробы, так как пробу необходимо распределять тонким слоем для обеспечения реакции с кислородом. Наиболее полно удовлетворяет сформированным требованиям метод озоления проб в герметичных сосудах (аналитические автоклавы). Применение аналитических автоклавов ускоряет разложение биологических объектов и уменьшает расход реагентов. При температуре 150–200 °С в сосуде повышается давление до 10–15 атм. В таких условиях в присутствии сильных окислителей озоление большинства типов биологических проб происходит за 45–60 мин.*

**«Мокрая (влажная)» минерализация.** Используются три группы реактивов:

- 1) окислители:  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$  и т. д.;
- 2) солиобилизаторы и нейтрализаторы:  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{NH}_3$ ;
- 3) катализаторы:  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ .

Метод минерализации биоматериала при химико-токсикологическом исследовании с использованием в качестве окислителя концентрированной азотной кислоты сыграл большую роль в развитии ХТА. Однако разрушение биоматериала при нагревании с концентрированной  $\text{HNO}_3$  требует большой затраты времени, реагент слабо окисляет жиры, поэтому в дальнейшем в качестве окислителя использовалась концентрированная серная кислота, действующая одновременно и как дегидратирующий агент. Но так как и этот процесс был не менее продолжительным по времени, а в процессе минерализации образовывались неразлагающиеся обуглившиеся остатки, стали применять смесь концентрированных серной и азотной кислот.

Первая стадия (деструкция) заключается в разрушении форменных элементов (30–40 мин).

Вторая стадия — глубокое жидкофазное окисление, когда объект подвергают более сильному нагреванию, добавляя  $\text{HNO}_3$ . Продолжают минерализацию до тех пор, пока полученная бесцветная жидкость при нагревании в течение 30 мин без добавления  $\text{HNO}_3$  не будет темнеть. Процесс длится 3–4 ч.

Метод не применяется для объектов, содержащих ртуть, из-за летучести ее соединений.

Метод *минерализации серной, азотной и хлорной кислотами* имеет следующие *достоинства*:

- полнота окисления органических веществ за счет присутствия  $\text{HClO}_4$  достигает 99 %;
- окисление поливалентных ионов происходит до высшей степени окисления;
- сокращение времени минерализации до 2 ч;
- небольшой расход окислителей;
- малый объем минерализата.

*Недостатки*: значительные потери  $\text{Hg}^{2+}$  за счет летучести ее соединений (поэтому используют частный метод изолирования ртути — деструктивный метод).

## **ТЕХНИКА ПРОВЕДЕНИЯ МИНЕРАЛИЗАЦИИ КОНЦЕНТРИРОВАННЫМИ КИСЛОТАМИ. ПОДГОТОВКА МИНЕРАЛИЗАТА К ИССЛЕДОВАНИЮ. МЕТОДЫ ДЕНИТРАЦИИ**

Анализ биологических объектов на содержание металлических токси-кантов состоит из двух фаз:

- а) предварительная фаза, состоящая из отбора пробы, перемещения в лабораторию, хранения, гомогенизации пробы, взятия аликвоты;
- б) аналитическая фаза, включающая обработку образца, измерение, статистическую оценку.

Жидкие образцы, такие, как кровь и моча, требуют мер предохранения; их хранят при  $+4\text{ }^\circ\text{C}$ , причем они должны быть проанализированы в течении трех недель. Если необходимо хранить образцы дольше, указанные образцы следует охладить до  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ .

Количество объекта, которое берут для разрушения, зависит от общей массы объекта исследования, обстоятельств дела и других факторов (обычно 100 г). При значительных количествах объектов, подлежащих разрушению (400–500 г внутренних органов трупа, 50–100 г муки или хлеба), навеску необходимо делить на 2–3 порции, провести минерализацию, а затем минерализаты объединить. Если на исследование поступают жидкости (моча и др.), то пробу упаривают до небольшого объема, то есть удаляют основную массу

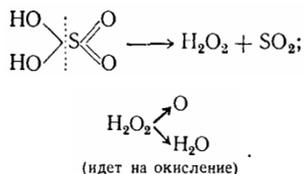
воды. При упаривании могут улетучиваться летучие соединения мышьяка и ртути. Для разложения летучих соединений к объектам, содержащим большие количества жидкостей, прибавляют раствор карбоната натрия и упаривают.

Методы минерализации должны удовлетворять следующим требованиям:

- биоматериал должен быть разрушен полностью;
- остатки после озонения необходимо растворять в минимальном количестве растворителя;
- для минерализации необходимо применять минимальное количество реактивов;
- необходимо снизить до минимума попадание посторонних веществ в пробу в процессе минерализации;
- необходима минимальная продолжительность контакта озоненного образца и стенок сосуда;
- по возможности температура и продолжительность минерализации должны быть минимальными;
- должен быть полный переход элементов из пробы в растворенное состояние.

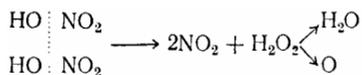
Основным методом «мокрого» разрушения биоматериала является *минерализация* путем нагревания с серной и азотной кислотами, он используется при определении большинства катионов. Механизм минерализации при этом сводится к дегидратации органических веществ, составляющих объект исследования, и их окислению.

Механизм окисления серной кислотой может быть представлен следующими реакциями:



Чистая азотная кислота, свободная от окислов азота, инертна до тех пор, пока под влиянием индуцирующих веществ не начнется ее разложение до азотистой кислоты, являющейся катализатором окисления.

С появлением азотистой кислоты начинается автокаталитический процесс, причем в роли катализаторов окисления начинают принимать участие и окислы азота.



Разрушение серной и азотной кислотами считают законченным при таком состоянии, когда бесцветная жидкость при нагревании ее без добавления азотной кислоты до стадии обильного выделения белых паров серной кислоты не темнеет. Обычно процесс минерализации длится 3–4 ч. На минерализацию жирного объекта надо 6–8 ч. Для уменьшения вспенивания при разложении растительных объектов рекомендуется предварительно обработать объект концентрированной азотной кислотой (оставить на 10–12 ч).

После разрушения и охлаждения минерализат обычно бесцветен или окрашен в слегка желтый цвет и прозрачен. В присутствии окрашенных ионов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ) минерализат может быть окрашен, а при наличии  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  (после разбавления водой) содержать осадок.

В процессе минерализации происходит не только разрушение органических веществ, но и ряд побочных реакций (нитрование, сульфирование). Образующиеся нитро- и сульфопроизводные трудно разрушаются. Поэтому концентрированные серную и азотную кислоты частично разбавляют водой, что уменьшает степень нитрования и сульфирования ароматических веществ.

Первая стадия минерализации (деструкция) заключается в разрушении форменных элементов и продолжается, при не очень жирном объекте, 30–40 мин (объект бурого или желтого цвета с жирными каплями). Вторая стадия — глубокое жидкофазное окисление.

*Достоинства:* быстрое достижение полноты разрушения органических веществ, полнота разрушения, малые объемы получаемого минерализата.

*Недостатки:* значительные потери ртути за счет летучести ее соединений.

**Минерализация серной, азотной и хлорной кислотами.** При разрушении органических веществ хлорной кислотой и ее смесями возможен взрыв (меры предосторожности). Окислительные свойства хлорной кислоты зависят от концентрации и температуры. Сильным окислителем является только нагретая концентрированная хлорная кислота. Взрыв происходит в тех случаях, когда к растворам хлорной кислоты прибавляют водоотнимающие вещества (концентрированная серная кислота, уксусный ангидрид), гидразин, гидроксилламин и другие восстановители. Сосуды с хлорной должны быть закрыты стеклянными пробками.

При минерализации органических веществ в присутствии хлорной кислоты нагревание проводят в колбах с обратным холодильником (вода не улетучивается, и не повышается концентрация кислоты). Фильтровальную бумагу, через которую фильтровали растворы хлорной кислоты, необходимо промывать. Если этого не делать, то при высыхании фильтров может произойти их загорание.

*Достоинства:*

– полнота окисления органических веществ за счет присутствия  $\text{HClO}_4$  достигает 99 %;

– окисление поливалентных ионов происходит до высшей степени окисления;

– сокращение времени минерализации до 2 ч;

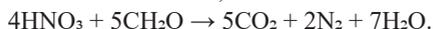
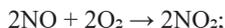
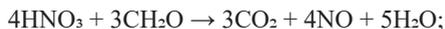
– небольшой расход окислителей;

– малый объем минерализата.

*Недостатком метода* является потеря больших количеств ртути. Поэтому изолирование ртути проводят специальными методами.

Независимо от метода минерализации минерализат содержит некоторое количество окислителей (окислов азота), мешающих дальнейшему проведению исследования. Для их удаления — *денитрации* — используют восстановители (формальдегид, мочевины, сульфит натрия). Источником окислов азота в минерализате является нитрозилсерная кислота. Под действием восстановителей нитрозилсерная кислота гидролизует, а образующаяся при этом азотистая кислота восстанавливается до легкоудаляемых окиси азота NO и элементарного азота N<sub>2</sub>.

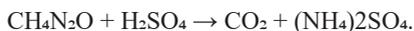
Удобство применения формальдегида в том, что он, как восстановитель, взаимодействует и с HNO<sub>2</sub>, полученной при гидролизе нитрозилсерной кислоты, и с HNO<sub>3</sub>, содержащейся в минерализате в избытке:



При всех указанных способах в открытых системах идет неконтролируемая потеря элементов.

Применяемые ранее гидролизный метод, метод денитрации мочевиной, сульфитом натрия практически вытеснены денитрацией формальдегидом. Метод предложен в 1952 г. Т. В. Зайковским. Процесс денитрации заканчивается за 1–2 мин, а избыток непрореагировавшего формальдегида удаляется при нагревании в течение 5–10 мин.

Денитрация с мочевиной. Минерализат нагревают и небольшими порциями, при постоянном помешивании вносят сухую мочевину. Требуется 3–5 мин и 2,5 г мочевины. Не вступившая в реакцию мочевина разрушается с образованием оксида углерода (IV) и сульфата аммония:



Для проверки полноты денитрации: каплю минерализата смешивают с раствором *дифениламина в серной кислоте*; если есть синее окрашивание, то это указывает на наличие окислителей в минерализате.

## СВЧ-минерализация. Сущность метода. Преимущества и недостатки

В лабораториях, оснащенных современным оборудованием, минерализацию образцов проводят в *специализированных микроволновых печах* по следующей методике: 0,1 г высушенных или влажных образцов помещают в герметичные тефлоновые емкости и инкубируют в смеси 1 : 3 конц.  $\text{HNO}_3$  и конц.  $\text{HCl}$  (2–6 мл) в течение суток. Далее проводят минерализацию под давлением в микроволновых печах, например, 2 мин 20 с. При 80 % мощности, затем 5 мин при 100 % мощности. Во всех опытах параллельно ведут обработку и последующий анализ как минимум 3-х проб.

Реализация аналитических возможностей микроволнового излучения, в ряде случаев в сочетании с преимуществами закрытых систем, обеспечивает:

- быстроту протекания физико-химических процессов, обуславливающую резкое сокращение (в десятки и сотни раз) времени подготовки;
- возможность контроля и управления параметрами (давление, температура, время, мощность);
- возможность расчета параметров (температуры, времени ее достижения) реакционных смесей;
- совмещение во времени и пространстве нескольких аналитических операций (например, окисления и растворения) и, таким образом, сокращение числа стадий;
- большую полноту разложения, что иногда позволяет исключить доплавление;
- упрощение состава используемых для растворения реакционных смесей, например, замену высококипящих кислот более летучими (азотной и хлористоводородной);
- значительное сокращение объема смесей и снижение величины поправки контрольного опыта;
- отсутствие загрязнений пробы из воздуха и потерь элементов вследствие образования летучих соединений;
- совместимость с методами концентрирования и инструментального определения;
- высокую производительность и экономичность (время подготовки 10–20 мин при мощности 300–600 Вт).

Процесс минерализации проходит следующим образом: разлагаемая проба и окислительные реагенты помещаются в специальный сосуд из радиопрозрачного химически инертного материала (стекло, кварц, фторопласт), сосуд при необходимости герметично закрывается, переносится в микроволновую систему, и реакционная смесь нагревается в СВЧ-поле. При этом суммарное время пробоподготовки сокращается в десятки и сотни раз.

## Методы качественного определения «металлических» ядов

Для обнаружения ионов металлов, содержащихся в минерализатах, применяют реакции образования осадков, микрокристаллоскопические и цветные реакции. В ряде случаев для этой цели применяются физико-химические методы (табл. 2).

Поскольку отравление соединениями металлов происходит после поступления в организм малых количеств различных соединений, содержащих металлы, в трупном материале эти металлы могут находиться только в незначительных количествах. Для обнаружения этих количеств ионов металлов в минерализатах требуются специфические и чувствительные реакции. Однако к чувствительности реакций на «металлические яды» в ХТА предъявляются и другие требования. Поскольку некоторые металлы являются нормальной составной частью тканей организма, реакции, применяемые для обнаружения этих металлов в минерализатах, по чувствительности должны быть такими, которые не дают положительного результата с микроколичествами ионов металлов, входящих в состав организма. Желательно, чтобы они были положительными только с относительно большими количествами ионов металлов.

Большинство окрашенных соединений, образующихся при взаимодействии ионов металлов с соответствующими реактивами, являются комплексами или ионными ассоциатами.

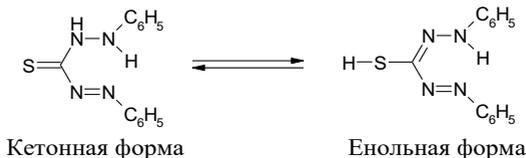
*Ионные ассоциаты.* Особенно часто реакции их используются для обнаружения и количественного определения *алкалоидов* и «металлических ядов». Например: для обнаружения мышьяка используются ионные ассоциаты, которые образуются при взаимодействии мышьяковистого водорода с диэтилдитиокарбаминатом серебра в пиридине, и т. д.

*Комплексы.* Для идентификации и количественного определения широко используются реакции образования внутрикомплексных соединений. В качестве реактивов для указанной цели часто применяются дитизон, диэтилдитиокарбаминат аммония и др.

**Дитизон (дифенилтиокарбазон)** представляет собой тонкие синечерные иглы с фиолетовым оттенком. Дитизон практически нерастворим в воде, но хорошо растворяется во многих органических растворителях. Для растворения дитизона применяют четыреххлористый углерод или хлороформ. Растворы дитизона в хлороформе и в некоторых других органических растворителях обладают *дихроматизмом* (темно-красная окраска растворов дитизона в толстых слоях при разбавлении переходит в ярко-зеленую).

В молекуле дитизона содержится два атома водорода, которые способны замещаться на ионы металлов. Наличие в молекуле дитизона группы  $-C-S$  увеличивает подвижность ближайшего к сере атома водорода в  $-NH$ -группе,

то есть увеличивает кислотные свойства этого реактива. Поэтому в кислых растворах с катионами металлов образует только однозамещенные соединения. Подвижность атома водорода во второй –NH-группе дитизона значительно меньшая, чем в первой. Дитизон может быть в двух таутомерных формах:



В анализе имеют значение только однозамещенные (кислые) дитизонаты. Дитизонаты железа и марганца являются нестойкими и быстро разлагаются. Дитизон при хранении подвергается окислению.

**Диэтилдителиокарбаматы.** В ХТА для разделения и фотометрического определения ионов некоторых металлов широко используются соли диэтилдителиокарбаминовой кислоты, так как диэтилдителиокарбаминовая кислота (ДДТК) — нестойкая. Для аналитических целей в качестве реактивов применяются натриевая и аммониевая соли диэтилдителиокарбаминовой кислоты. Эти соли хорошо растворяются в воде, их растворы бесцветны. Натриевая и аммониевая соли диэтилдителиокарбаминовой кислоты с катионами тяжелых металлов образуют *внутрикомплексные* соединения (диэтилдителиокарбаматы). Эти соединения слабо растворяются в воде и хорошо — в некоторых органических растворителях. Большинство внутрикомплексных соединений тяжелых металлов с диэтилдителиокарбаминовой кислотой в органических растворителях бесцветны. Только некоторые растворы имеют окраску.

Так, диэтилдителиокарбамат:

- меди имеет бурую окраску;
- висмута — желтую;
- железа (II) и (III) — бурую;
- никеля — желто-зеленую;
- кобальта — зеленую;
- олова (II) и (IV) — оранжевую;
- хрома (III) — зеленую.

Для выделения диэтилдителиокарбаматов металлов из растворов и для разделения их смесей применяют метод экстракции. При этом в ряде случаев пользуются маскирующими средствами (цитратами, цианидами, комплексоном III и др.).

Из аммиачной среды, содержащей цитраты и комплексон III, органическими растворителями экстрагируются диэтилдителиокарбаматы меди, ртути (II), серебра и висмута. При наличии цианидов экстрагируются диэтилдителиокарбаматы висмута, кадмия, свинца и галлия (III).

От прибавления минеральных кислот к диэтилдитиокарбаматам натрия и аммония они разлагаются и выделяется диэтилдитиокарбаминовая кислота, которая является нестойкой. При  $pH = 4$  и ниже эта кислота разлагается с выделением диэтиламина и сероуглерода.

Для экстракции катионов тяжелых металлов из растворов в виде диэтилдитиокарбаматов поступают так: исследуемый раствор доводят до  $pH = 5$  и прибавляют раствор диэтилдитиокарбамата аммония или натрия (табл. 3). При этом образуются диэтилдитиокарбаматы соответствующих катионов. Затем прибавляют раствор минеральной кислоты, в которой диэтилдитиокарбаматы тяжелых металлов не разлагаются, а в течение 2–3 мин разлагается избыток диэтилдитиокарбамата аммония, являющегося реактивом, с образованием диэтиламина и сероуглерода. После разложения избытка реактива минеральными кислотами экстрагируют диэтилдитиокарбаматы тяжелых металлов органическими растворителями.

Таблица 2

Качественные реакции некоторых металлических ядов

Ион	Реактив	Уравнение реакции	Признак реакции
$H^+$	Кислотно-основные индикаторы		Изменение окраски индикатора
$Ag^+$	$Cl^-$	$Ag^+ + Cl^- = AgCl\downarrow$	Белый осадок
$Cu^{2+}$	$OH^-$ $S^{2-}$	$Cu^{2+} + 2OH^- = Cu(OH)_2\downarrow$ $Cu^{2+} + S^{2-} = CuS\downarrow$	Голубой осадок Черный осадок
$Fe^{2+}$	$OH^-$ Красная кровяная соль $K_3[Fe(CN)_6]$	$Fe^{2+} + 2OH^- = Fe(OH)_2\downarrow$	Белый хлопьевидный осадок, зеленеет на воздухе. Темно-синий коллоидный осадок (турбулева синь)
$Fe^{3+}$	$OH^-$ Желтая кровяная соль $K_4[Fe(CN)_6]$	$Fe^{3+} + 3OH^- = Fe(OH)_3\downarrow$	Бурый осадок. Темно-синий коллоидный осадок (берлинская лазурь)
$Zn^{2+}$	$OH^-$  $S^{2-}$	$Zn^{2+} + 2OH^- = Zn(OH)_2\downarrow$  $Zn^{2+} + S^{2-} = ZnS\downarrow$	Белый осадок, в избытке щелочи растворяется. Белый осадок
$Al^{3+}$	$OH^-$	$Al^{3+} + OH^- = Al(OH)_3\downarrow$	Серый осадок, в избытке щелочи растворяется
$NH_4^+$	$OH^-$	$NH_4^+ + OH^- = NH_3\uparrow + H_2O$	Запах аммиака, изменение цвета индикаторной бумаги в парах
$Ba^{2+}$	$SO_4^{2-}$	$Ba^{2+} + SO_4^{2-} = BaSO_4\downarrow$	Белый осадок. Окрашивание пламени в желто-зеленый цвет

Ион	Реактив	Уравнение реакции	Признак реакции
Ca <sup>2+</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Ca <sup>2+</sup> + CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> = CaCO <sub>3</sub> ↓	Белый осадок. Окрашивание пламени в кирпично-красный цвет
Cl <sup>-</sup>	Ag <sup>+</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ag <sup>+</sup> + Cl <sup>-</sup> = AgCl↓ Cl <sup>-</sup> + H <sup>+</sup> = HCl↑	Белый осадок. Выделение бесцветного газа с резким запахом, изменение окраски индикаторной бумаги в парах
Br <sup>-</sup>	Ag <sup>+</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ag <sup>+</sup> + Br <sup>-</sup> = AgBr↓ Br <sup>-</sup> + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> = Br <sub>2</sub> ↑ + SO <sub>2</sub> ↑ + H <sub>2</sub> O	Желтоватый осадок. Выделение SO <sub>2</sub> (характерный резкий запах) и бурых паров Br <sub>2</sub>
I <sup>-</sup>	Ag <sup>+</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ag <sup>+</sup> + I <sup>-</sup> = AgI↓ I <sup>-</sup> + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> = I <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> S↑ + H <sub>2</sub> O	Желтый осадок. Выделение H <sub>2</sub> S (характерный запах) и буро-фиолетового I <sub>2</sub>

**Ртуть:** при взбалтывании раствора ртути с раствором дитизона в четыреххлористом углероде слой последнего окрашивается от зеленого в оранжевый цвет, переходящий в фиолетовый.

**Свинец:** в пробирку с раствором минерализата добавляют раствор уксусной кислоты и ацетат аммония. Нагревают, после охлаждения добавляют 25%-ный аммиак (pH 8) и раствор дитизона в хлороформе (зеленой окраски), взбалтывают. Окрашивание хлороформного слоя в красный цвет свидетельствует о наличии свинца.

Таблица 3

**Качественные реакции, используемые для определения некоторых катионов и анионов**

Ион	Реактив	Уравнение реакции	Признак реакции
H <sup>+</sup>	Кислотно-основные индикаторы		Изменение окраски индикатора
Ag <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	Ag <sup>+</sup> + Cl <sup>-</sup> = AgCl↓	Белый осадок
Cu <sup>2+</sup>	OH <sup>-</sup> S <sup>2-</sup>	Cu <sup>2+</sup> + 2OH <sup>-</sup> = Cu(OH) <sub>2</sub> ↓ Cu <sup>2+</sup> + S <sup>2-</sup> = CuS↓	Синий осадок. Черный осадок
Fe <sup>2+</sup>	OH <sup>-</sup>	Fe <sup>2+</sup> + 2OH <sup>-</sup> = Fe(OH) <sub>2</sub> ↓	Белый хлопьевидный осадок, зеленеет на воздухе
Fe <sup>3+</sup>	OH <sup>-</sup>	Fe <sup>3+</sup> + 3OH <sup>-</sup> = Fe(OH) <sub>3</sub> ↓	Бурый осадок
Zn <sup>2+</sup>	OH <sup>-</sup> S <sup>2-</sup>	Zn <sup>2+</sup> + 2OH <sup>-</sup> = Zn(OH) <sub>2</sub> ↓ Zn <sup>2+</sup> + S <sup>2-</sup> = ZnS↓	Белый осадок, в избытке щелочи растворяется. Белый осадок

Ион	Реактив	Уравнение реакции	Признак реакции
$Al^{3+}$	$OH^-$	$Al^{3+} + OH^- = Al(OH)_3 \downarrow$	Белый осадок, в избытке щелочи растворяется
$NH_4^+$	$OH^-$	$NH_4^+ + OH^- = NH_3 \uparrow + H_2O$	Запах аммиака, изменение цвета индикаторной бумаги в парах
$Ba^{2+}$	$SO_4^{2-}$	$Ba^{2+} + SO_4^{2-} = BaSO_4 \downarrow$	Белый осадок. Окрашивание пламени в желто-зеленый цвет

### МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ «МЕТАЛЛИЧЕСКИХ» ЯДОВ

Анализ содержаний следовых количеств тяжелых металлов физико-химическими методами требует предварительной пробоподготовки. Они образуют достаточно прочные органические комплексы, мешающие точному и воспроизводимому определению их содинений. Перед любым испытанием необходимо предварительно разрушить органическую составляющую пробы. В основе большинства лежат спектральные методы.

К оптическим методам анализа относят физико-химические методы, основанные на взаимодействии электромагнитного излучения с веществом. Это взаимодействие сопровождается явлениями, из которых наиболее важны испускание, поглощение и рассеяние излучения. Возникающие при этом сигналы несут качественную и количественную информацию о веществе. Частота сигнала отражает специфические свойства вещества, его природу, а интенсивность сигнала связана с количеством анализируемого соединения.

Оптические методы включают в себя большую группу спектральных методов анализа. Для наблюдения и исследования получаемых сигналов используются различные физические закономерности. Благодаря этому методы спектроскопии позволяют получать детальную информацию о составе, строении и количественном содержании исследуемых веществ.

**Экстракционная фотометрия.** В основе метода лежит закон Бугера-Ламберта-Бера (закон справедлив для монохроматического света): оптическая плотность прямо пропорциональна концентрации растворенного вещества и толщине поглощающего слоя раствора:

$$I = I_0 \cdot e^{-kcl},$$

где  $I$  — интенсивность излучения, прошедшего сквозь поглощающий слой,  $I_0$  — интенсивность резонансного излучения,  $k$  — коэффициент поглощения света,  $c$  — концентрация поглощаемого компонента,  $l$  — толщина поглощающего слоя).

$k$  — коэффициент светопоглощения зависит от природы растворенного вещества, температуры растворителя и длины волны света.

Используется для определения меди в крови по реакции образования ионного ассоциата с катионным фиолетовым; определение молибдена в почках и печени после взаимодействия с тиобензгидразидом.

*Достоинства:* доступная аппаратура, хорошая воспроизводимость, низкая погрешность 1–5 %.

*Недостатки:* трудоемкость пробоподготовки, невозможность многоэлементного анализа, рутинность и длительность.

**Атомно-абсорбционная спектроскопия.** Наиболее широко используемый метод обнаружения в области концентраций от мкг до нг/л, простой и относительно нетрудоемкий. Метод основан на определении поглощения света атомами исследуемого образца.

Методом ААС могут определяться около 60 элементов (в основном металлы и ряд переходных элементов). Селективность метода обеспечивается двумя основными факторами: свойством атомов поглощать свет только с определенной длиной волны (резонансное поглощение) — исключение влияния на аналитический сигнал других атомов, присутствующих в атомизаторе и использование корректора неселективного поглощения — учет вклада в измеряемый сигнал, связанного с поглощением света молекулами и твердыми частицами.

**Атомно-эмиссионная спектроскопия (АЭС).** Самый распространенный экспрессный высокочувствительный метод идентификации и количественного определения элементов примесей в газообразных, жидких, твердых веществах. Способ определения элементного состава вещества по оптическим спектрам излучения атомов и ионов анализируемой пробы. Атомизаторами являются пламя горелки или различные виды плазмы (плазма электрической искры или дуги, лазерной искры, индуктивно-связанная плазма, тлеющий разряд и др.).

*Преимущества:* бесконтактность, возможность одновременного определения большого числа элементов, высокая точность, низкие пределы обнаружения, простота пробоподготовки, низкая себестоимость.

Принцип действия атомно-эмиссионного спектрометра основан на том, что атомы каждого элемента могут испускать свет определенных длин волн — спектральные линии, причем длины волн разные для различных элементов. Для того, что атомы начали испускать свет, необходимо их возбудить — нагреванием, электрическим разрядом, лазером или другим способом. Чем больше атомов данного элемента присутствует в исследуемом образце, тем ярче будет излучение соответствующей длины волны. Выделение спектральных линий одного вида атомов происходит с помощью монохроматора, регистрация спектров излучения усиливается фотоумножителем.

**Нейтронно-активационный анализ (НАА).** Основан на использовании ядерных реакций деления и реакций, приводящих к образованию радиоактивных изомеров и изотопов. После облучения и выдержки выполняется измерение спектров рентгеновского и гамма-излучения от образцов. На основании измеренной активности и известных условий облучения определяется химический состав образца.

Наиболее распространенный метод при экспериментальных методах исследования нейтронных полей в энергетических и исследовательских реакторах. На основе измерения удельных активностей изотопов, образовавшихся в облученных материалах или нейтронно-активационных индикаторах по ряду пороговых реакций определяются плотности потока и флюенс нейтронов с различными энергетическими порогами. Типы детекторов: газ-ионизирующие, сцинтилляционные, полупроводниковые.

НАА может выполнять неразрушающий анализ твердых тел, жидкостей, суспензий, растворов и газов при отсутствии или минимальной подготовке. В связи с проникающим характером нейтронов и гамма-лучей, результирующая технология обеспечивает точный анализ объема. Различные изотопы имеют различные периоды полураспада, что может отложить подсчет до устранения помех.

*Недостатки:* техника остается радиоактивной в течение многих лет после первоначального анализа, это требует обработки и утилизации радиоактивного материала; сокращается ряд подходящих для активации ядерных реакторов, что связано со снижением популярности этого метода и возрастающей ценой на реакторы.

**Рентгено-флуоресцентный анализ.** Современный спектроскопический метод исследования вещества с целью получения его элементного состава. Анализ элементов от бериллия до урана. Источник возбуждающего излучения — рентгеновская трубка. При проведении анализа все элементы образца одновременно излучают фотоны характеристической флуоресценции. Для определения концентрации необходимо из общего потока излучения, поступающего от образца, выделить излучение именно той длины волны, которая является характерной для определяемого элемента.

*Достоинства:* неdestructивность (отсутствие стадии разрушения образца химическими реактивами или темным воздействием), многоэлементность, экспрессность, хорошая воспроизводимость и точность.

*Недостатки:* сложность приготовления тонких образцов и более жесткие требования к измельчению материала и его однородности; неразрушающие методы строго привязаны к стандартным образцам (эталонам).

## АНАЛИЗ МИНЕРАЛИЗАТА СИСТЕМНЫМ И ДРОБНЫМ МЕТОДАМИ

Систематический метод анализа основан на последовательном выделении из растворов отдельных групп ионов, разделении этих групп на подгруппы и на выделении отдельных ионов из подгрупп. Например, сульфидная классификация в табл. 4.

Таблица 4

Сульфидная классификация

Группа	Катионы	Групповой реагент
I	$\text{Li}^+$ , $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{NH}_4^+$ , $\text{Mg}^{2+}$	Отсутствует
II	$\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Ba}^{2+}$ , $\text{Sr}^{2+}$	Раствор $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ в аммиачном буфере (pH $\approx$ 9,2)
III	$\text{Al}^{3+}$ , $\text{Cr}^{3+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Mn}^{2+}$ , $\text{Fe}^{2+}$ , $\text{Fe}^{3+}$ , $\text{Co}^{2+}$ , $\text{Ni}^{2+}$	Раствор $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ (pH = 7–9)
IV	$\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Hg}^{2+}$ , $\text{Bi}^{3+}$ , $\text{Sn}^{2+}$ , $\text{Sn}^{4+}$ , $\text{Sb}^{3+}$ , $\text{Sb}^{5+}$ , $\text{As}^{3+}$ , $\text{As}^{5+}$	Раствор $\text{H}_2\text{S}$ при pH = 0,5 (HCl)
V	$\text{Ag}^+$ , $\text{Pb}^{2+}$ , $\text{Hg}_2^{2+}$	Раствор HCl

Осадок сульфидов катионов 4 и 5 групп обрабатывают полисульфидом аммония, при этом осадки сульфидов мышьяка, сурьмы и олова растворяются с образованием тиосолей.

Профессор Н. А. Тананаев отмечал, что «с точки зрения темпов проведения систематический ход исследования является образцом патриархальной неповоротливости. Здесь только и делают, что нейтрализуют, нагревают, пропускают сероводород, осаждают, промывают, растворяют и т. д. и т. п.»

Основные недостатки систематического метода:

- а) длительность и трудоемкость анализа;
- б) применяется токсичный сероводород;
- в) потери ионов в процессе многочисленных операций осаждения, фильтрования, растворения;
- г) невозможно совместить качественный и количественный анализ.

В настоящее время этот метод не применяется и рассматривается как предшественник современных методов анализа минерализата.

Дробный метод анализа, разработанный профессором Н. А. Тананаевым, доработанный А. Н. Крыловой для металлургических лабораторий, невозможно было перенести в токсикологическую химию в связи с особенностями ХТА, которые состоят в следующем:

- 1) необходимость исследования большого количества биоматериала для определения малых количеств вещества;
- 2) исследование на большую группу катионов;
- 3) специфический характер объектов ХТА, например, внутренние органы трупа человека содержат большинство известных в настоящее время

химических элементов, в том числе и те, которые должен обнаружить судебный химик.

Учитывая эти особенности, к методу, применяемому в ХТА, предъявляются следующие требования:

- высокая специфичность метода;
- высокая чувствительность;
- возможность сочетания качественного анализа и количественного определения из одной навески;
- простота метода и доступность реактивов;
- минимальная затрата времени.

Дробный метод анализа, разработанный А. Н. Крыловой для целей ХТА, учитывает все вышеизложенные особенности. Этот метод проводится по определенной схеме и с применением *маскирующих веществ*. Дробный анализ на катионы можно проводить в любой последовательности, но необходимо учитывать специфичность отдельных реакций. Таким образом, дробный метод анализа минерализата — это метод анализа по определенной схеме с применением маскирующих веществ и характерных реакций на определяемые элементы.

Обнаружение дробным методом проводится в 2 этапа: вначале устраняется влияние мешающих ионов с помощью соответствующих приемов и реактивов, а затем, на втором этапе, прибавляют реактив, дающий какой-либо аналитический сигнал (окраску, осадок и др.) с открываемым ионом.

Основной способ маскировки в ХТА — комплексообразование. Для использования этого приема подбирается такой реактив, который с мешающими ионами образует бесцветные прочные комплексы, не способные реагировать с основным реактивом на искомый ион. Можно использовать и обратный прием: демаскировку — процесс освобождения ранее замаскированных ионов от маскирующих реагентов.

Анализ минерализата начинают с обнаружения марганца, так как он мешает обнаружению хрома. Чувствительность аналитических реакций на хром и марганец снижается при большом количестве хлоридов. Поэтому исследование на Mn и Cr ведется раньше, чем на Ag, для которого используется HCl.

Обнаружению сурьмы по реакции образования  $Sb_2S_3$  или  $Sb_2S_5$  (оранжевая окраска) мешает наличие ионов  $Cu^{2+}$ , так как образующийся  $CuS$  имеет черную окраску, которая маскирует оранжевую  $Sb_2S_3$ . Поэтому вначале определяют  $Cu^{2+}$ . Сурьма, в свою очередь, мешает открытию мышьяка, так как она дает летучий  $SbH_3$ , мешающий открытию  $AsH_3$ . Затем определяют мышьяк, висмут, цинк, кадмий.

Дробный метод анализа требует сравнительно небольших затрат времени — от 4 до 6 ч на качественный анализ (время на минерализацию

не учитывается) и от 40 мин до 4 ч на количественное определение. Для примера: только на качественный анализ классическим сероводородным методом надо затратить около 30 ч.

### ЧАСТНЫЙ МЕТОД МИНЕРАЛИЗАЦИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РТУТИ. МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ РТУТИ. ДЕМЕРКУРИЗАЦИЯ

Ртуть — простое вещество, представляющее собой жидкость при комнатной температуре, почти нерастворимо в воде (56 мкг/л). Ртуть может находиться в пяти формах ( $\text{Hg}^0$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Hg}_2^{2+}$ , метил- и диметилртуть). Менее распространенной формой является ртутный катион  $\text{Hg}^{2+}$ , который диспропорционирует:  $\text{Hg}^0 + \text{Hg}^{2+}$ .

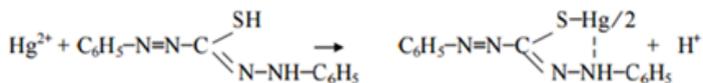
Пути выделения ртути из организма зависят от формы приема. При приеме ртути в форме  $\text{Hg}^{2+}$  — основной путь выделения с мочой. Если в организм поступала форма  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ , то фекальная экскреция превышает выделение с мочой. Примерно 10 % ртути выделяется в виде неорганической соли с мочой после приема  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ .

Минерализацию объектов для обнаружения ртути проводят частными методами, так как при использовании общих методов минерализации значительные количества ртути улетучиваются. С целью уменьшения потери ртути при минерализации проводят частичное разрушение органических веществ (деструкцию): 100 °С, водяная баня, время — 10–15 мин. В процессе деструкции происходит разрыв прочных ковалентных связей между ртутью и сульфгидрильными группами белковых веществ.

Биоматериал нагревают со смесью серной и азотной кислот до разрушения форменных элементов органов и тканей, добавляют этиловый спирт (катализатор). В деструктате находятся ионы ртути, белки, пептиды, аминокислота и другие. Для удаления из деструктата окислителей прибавляют *мочевину*.

Реакции обнаружения ионов ртути в деструктате:

1. С дитизоном (предварительная реакция): желто-оранжевое окрашивание в кислой среде или красное окрашивание — в слабокислой и щелочной среде хлороформного слоя. Окрашенное соединение ртути характерно экстрагируется хлороформом и тетрахлорметаном. Для маскировки других ионов прибавляют аскорбиновую кислоту или гидроксилламин:

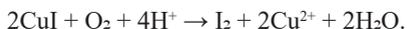


Предел обнаружения — 0,05 мкг/мл.

2. Реакция ионов ртути (II) с иодидом меди (I) основана на образовании оранжево-красного осадка:



Предел обнаружения — 0,5 мкг/мл. Описаны различные методики выполнения этой реакции. Выполнению мешают окислители, так как выделяющийся иод окрашивает раствор в коричневый цвет.



### **Количественное определение ртути:**

1. Беспламенное атомно-абсорбционное. Минерализация объектов, содержащих ртуть, проводится обычно в герметических условиях. В связи с летучестью ртути получение свободных атомов ртути проводят с помощью химического (метод «холодного пара») и термического восстановления. Определение двухстадийное. В первой стадии проводят разрушение ионных соединений ртути, то есть к минерализату добавляют восстановитель ( $\text{SnCl}_2$  или аскорбиновая кислота). Восстановленные пары ртути пропускают через «золотой сорбент» (в кварцевой ячейке на поверхности нихромовой проволоки находится золотая нить). Образуется амальгама.

Во второй стадии амальгаму термически разрушают, атомный пар вводят в измерительную кювету атомно-абсорбционного фотометра. По интенсивности спектральной линии ртути 253,7 нм определяют концентрацию ртути. Термическое получение свободных атомов ртути осуществляют с помощью электрических печей (800 °С). Образец (моча, кровь) сжигают или испаряют (водный раствор). Выделяющиеся пары ртути и других веществ пропускают через сосуд с дистиллированной водой, а затем через «золотой сорбент» (образуется амальгама). Сорбент нагревают и пары ртути вводят в измерительную кювету атомно-абсорбционного фотометра, через которую пропускают резонансное излучение ртути с длиной волны 253,7 нм. Определяют величину оптической плотности и по калибровочному графику рассчитывают количество ртути.

2. Экспрессное визуальное колориметрическое определение, основанное на образовании окрашенного соединения ртути с иодидом меди (I). Окраску полученного раствора сравнивают с окраской серии стандартных растворов с известной концентрацией ртути.

3. Экстракционно-фотометрический метод. Основан на измерении оптической плотности экстракта (тетрахлорметан) дитизоната ртути при длине волны 485 нм. Предел — 5 мг в 100 г объекта.

*Органические соединения ртути.* Основной способ изолирования органических соединений ртути из биообъектов (органы трупа, кровь, моча, зерно) — экстракция хлороформом из 3–9 М растворов хлороводородной

кислоты. Обнаружение этилртути (ЭМХ) основано на реакции образования дитизоната этилртути (желтая окраска). По данным некоторых авторов, в результате реакции образуется дитизонат ртути, а не дитизонат этилртути. Исследование хлороформного экстракта, содержащего дитизонат этилртути, методом ТСХ позволяет обнаружить 0,1 мкг этилртути в 100 г объекта.

В ХТА для обнаружения этилртути в исследуемых объектах (зерно, растительный материал и др.) применяется проба с медной проволокой. При погружении медной проволоки в раствор, содержащий этилртути, последний разлагается, и выделившаяся ртуть откладывается на металлической меди в виде серого налета. Серое пятно обрабатывают йодом, а затем раствором йода в йодиде калия. Образуется тетрароданомеркурат калия, который с йодидом меди (I) дает тетрароданомеркурат меди (I), имеющий красную или оранжево-красную окраску.

Демеркуризация — удаление ртути и ее соединений физико-химическими или механическими способами с целью исключения отравления людей и животных. Инструкция по демеркуризации ртути объединяет несколько способов обезвреживания ртути: механический и химический. Механическим методом решается задача, как правильно собрать ртуть на ровной поверхности, химическая дезактивация нужна при решении, как собрать разбитую ртуть с труднодоступных мест, достать из-под мебели, как собрать ртуть из воды в аквариуме, как собрать ртуть с мягкой ворсистой мебели.

При обнаружении ртути в помещении сначала необходимо провести тщательный сбор ее капелек спринцовками, шприцами, пластинками из фольги, кисточками и др. удобными для механического сбора средствами. Затем следует провести обработку помещения специальными растворами — демеркуризаторами, которые снижают скорость испарения ртути и облегчают ее механическое удаление с загрязненных поверхностей. На зараженные поверхности наносится демеркуризационный раствор. Время взаимодействия ртути и демеркуризатора должно составлять 1,5–2 сут, если условия не позволяют, демеркуризаторы и остатки ртути удаляют через 2–6 ч.

Если применялось хлорное железо, то обрабатываемая поверхность должна быть тщательно промыта мыльным раствором, а затем мыльной водой. Собранную металлическую ртуть надо поместить в пузырек, залить ее сверху водой, чтобы уменьшить испарение, и сдать в санэпидемстанцию.

#### **Демеркуризаторы:**

1. Мыльно-содовый раствор (4%-ный раствор мыла в 5%-ном водном растворе соды).

2. 20%-ный раствор хлорной извести (хлорки).

3. 4–5%-ный раствор моно- или дихлорамина.

4. 2%-ный раствор перманганата калия (марганцовки), подкисленного соляной кислотой.
5. 5–10%-ный водный раствор сернистого натрия.
6. 4–5%-ный водный раствор полисульфида натрия или кальция.
7. Пирролюзит (паста, состоящая из одной весовой части пирролюзита и двух весовых частей соляной кислоты).
8. 20%-ный водный раствор хлорного железа (приготовление раствора осуществляется на холоде).
9. 25–50%-ный водный раствор полисульфида натрия.
10. 5–10%-ный раствор соляной кислоты.
11. 2–3%-ный раствор йода в 30%-ном водном растворе йодида калия.

### **АТОМНО-АБСОРБЦИОННАЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ.**

#### **СУЩНОСТЬ МЕТОДА. ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ МЕТОДА**

Атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС) — метод количественного элементного анализа по атомным спектрам поглощения (абсорбции). В зависимости от способа получения поглощающего слоя атомов выделяют 4 основных типа техники атомизации:

1. Пламенная атомизация — испарение и атомизация происходят в пламени. Определяемые концентрации элементов в растворах 0,01–100 мг/л; Для формирования ламинарного пламени используется смесь ацетилен-воздух и ацетилен-оксид азота  $N_2O$ . При определении хрома, железа, кобальта, никеля и др. элементов используется пламя ацетилен-воздух. Для определения алюминия, тантала, титана, ванадия и др., оксиды которых в пламени более стабильны, используют пламя с более высокой температурой ( $> 2600$  К, ацетилен-оксид азота).

2. Электротермическая атомизация — испарение и атомизация пробы происходит в графитовой трубке (графитовой печи), нагреваемой электрическим током до температур 1500–3000 °С (в зависимости от свойств определяемого элемента). Определяемые концентрации элементов в растворах 0,01–100 мкг/л.

3. Гидридная техника — в кварцевой ячейке или графитовой печи, нагреваемой электрическим током, происходит разложение газообразных гидридов, образованных в специальном реакторе:  $MeHxT \rightarrow Me + x/2 H_2$ . Данная техника может использоваться для элементов, образующих термически неустойчивые газообразные гидриды (As, Sb, Se, Sn, Te, Pb). Определяемые концентрации элементов в растворах 0,01–100 мкг/л.

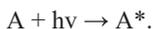
4. Метод «холодного пара» основан на свойстве ртути существовать при нормальных условиях в газовой фазе в виде свободных атомов. Определяемые концентрации ртути в растворах 0,01–100 мкг/л.

Наивысшую чувствительность в ААС имеют приборы с электротермической атомизацией, в которых, в отличие от приборов с пламенной атомизацией, атомизированная проба остается в замкнутом объеме кюветы, а не уносится газовым потоком, тем самым большее количество атомов пробы поглощают излучение лампы, и чувствительность определения возрастает на 2–3 порядка (рис. 9).



Рис. 9. Блок-схема атомно-абсорбционного спектрометра

Через слой атомных паров пробы, получаемые с помощью атомизатора, пропускают излучение в диапазоне 190–850 нм. В результате поглощения квантов света атомы переходят в возбужденные энергетические состояния:



Возбужденное состояние является неустойчивым, и через некоторое время атом переходит на уровень, ближайший к основному энергетическому состоянию, то есть совершает резонансный переход. Если на невозбужденный атом направить излучение с частотой резонансного перехода, то кванты света будут поглощаться, и интенсивность излучения уменьшается.

Измерение ослабления интенсивности излучения, прошедшего через среду, содержащую свободные атомы определяемого элемента, лежит в основе атомно-абсорбционной спектрометрии.

Этим переходам в атомных спектрах соответствуют резонансные линии, характерные для данного элемента. Согласно закону Бугера-Ламберта-Бера, мерой концентрации элемента служит оптическая плотность:

$$A = \lg(I_0/I),$$

где  $I_0$  и  $I$  — интенсивности излучения от источника соответственно до и после прохождения через поглощающий слой.

Для создания разряда используют высокое напряжение (800–1200 В) и ток до 30 мА. В лампе находится буферный газ — аргон или неон под давлением 1–5 мм рт. ст.

Атомно-абсорбционная спектрометрия наиболее широко разработана для работы с жидкими веществами. Исходя из этого, для проведения анализа выполняют следующие операции:

1. Проводят пробоотбор (отбирают часть вещества от объекта анализа, которая максимально полно отражает его химический состав).

2. От твердой пробы отбирают определенную навеску, растворяют ее в подходящих растворителях с целью перевода изучаемого элемента в раствор. От жидкой пробы отбирают фиксированную аликвоту и подготавливают рабочий раствор для анализа по тем же принципам.

3. Готовят серию рабочих градуировочных растворов, охватывающих необходимый диапазон градуировочного графика.

4. Подготавливают к работе атомно-абсорбционный спектрометр для регистрации сигнала в оптимальных условиях абсорбции изучаемого элемента.

5. Вводят анализируемое вещество в атомизатор, создают поглощающий слой атомного пара и производят измерение аналитического сигнала.

6. Последовательно вводя в атомизатор градуировочные растворы, получают градуировочную характеристику (функциональную зависимость между аналитическим сигналом и концентрацией элемента в градуировочном растворе).

7. С ее использованием определяют концентрацию элемента в растворе пробы и в исходной пробе.

**Применение.** ААС может быть использована для анализа практически любого объекта, в котором содержатся главным образом металлы (методики для более 70 металлов), а также некоторые неметаллы, особенно в тех случаях, когда необходимо определять очень малые концентрации элементов. Он хорошо воспроизводим (относительное стандартное отклонение  $\sim 0,01\%$ ) и высокопроизводителен (до 500 определений в час).

В медицине метод ААС используется преимущественно для определения содержания металлов в биологических жидкостях (кровь, ликвор, сыворотка, лимфа).

*Достоинства:* простота, высокая селективность и малое влияние состава пробы на результаты.

*Ограничения метода:* невозможность одновременного определения нескольких элементов при использовании линейчатых источников излучения и, как правило, необходимость перевода проб в раствор.

*Недостатки:* одноэлементный метод. Для каждого элемента — свой источник (лампа с полым катодом, дающая длину волны, свойственной только одному элементу).

## **АТОМНО-ЭМИССИОННАЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ.**

### **СУЩНОСТЬ МЕТОДА. ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ МЕТОДА**

Атомно-эмиссионная спектроскопия (спектрометрия) или атомно-эмиссионный спектральный анализ — совокупность методов элементного анализа, основанных на изучении спектров испускания свободных атомов

и ионов в газовой фазе. Обычно эмиссионные спектры регистрируют в наиболее удобной оптической области длин волн от  $\sim 200$  до  $\sim 1000$  нм. Для регистрации спектров в  $< 200$  нм требуется применение вакуумной спектроскопии, чтобы избавиться от поглощения коротковолнового излучения воздухом. В области  $> 1000$  нм требуются специальные инфракрасные или микроволновые детекторы.

АЭС — способ определения элементного состава вещества по оптическим линейчатым спектрам излучения атомов и ионов анализируемой пробы, возбуждаемыми различными способами.

Для каждого элемента линейчатый спектр специфичен, что позволяет использовать характерные линии для качественного и количественного анализа. Число электронов каждого элемента периодической системы равно его атомному номеру. Если свободный атом не поглощает энергию, то его оптические электроны находятся на подуровне с наименьшей энергией, то есть в основном состоянии. При поглощении атомом энергии электрон переходит на более удаленные от ядра уровни и подуровни, в возбужденное состояние. При возвращении в нижнее или основное состояние может происходить испускание электромагнитного излучения.

Процесс АЭС состоит из следующих основных звеньев:

1. Пробоподготовка (подготовка образца).
2. Испарение анализируемой пробы (если она не газообразная).
3. Диссоциация — атомизация ее молекул.
4. Возбуждение излучения атомов и ионов элементов пробы.
5. Разложение возбужденного излучения в спектр.
6. Регистрация спектра.
7. Идентификация спектральных линий — установление элементного состава (качественный анализ).
8. Измерение интенсивности аналитических линий элементов пробы, подлежащих количественному определению.
9. Нахождение количественного содержания элементов с помощью установленных предварительно градуировочных зависимостей.

Атомно-эмиссионный спектрометр состоит из источника возбуждения, системы введения пробы, оптической диспергирующей системы, детектора и электроники для сбора и обработки данных (рис. 10). В качестве источников возбуждения используют пламя горелки или виды плазмы, включая плазму электрической искры или дуги, плазму лазерной искры, индуктивно-связанную плазму, тлеющий разряд и др.

Принцип действия основан на том, что атомы каждого элемента могут испускать свет определенных длин волн — спектральные линии, причем длины волн разные для различных элементов. Для того, чтобы атомы начали испускать свет, необходимо их возбудить — нагреванием, электрическим

разрядом, лазером или другим способом. Чем больше атомов данного элемента присутствует в исследуемом образце, тем ярче будет излучение соответствующей длины волны. Выделение линий с помощью монохроматора, регистрация фотоумножителем.



Рис. 10. Блок-схема атомно-эмиссионного спектрометра

Для регистрации излучения применяются фотографическая регистрация (фотопластинка или фотопленка), фотоэлектрическая регистрация (фотоэлемент или фотоумножитель), визуальная регистрация (окуляр для визуального наблюдения). Соответствующими приборами являются: спектрографы, спектрометры (квантометры) и спектроскопы (стилометры, стилоскопы).

В широком интервале концентраций элемента в пробе зависимость интенсивности спектральной линии от концентрации ( $C$ ) имеет следующий вид (уравнение Ломакина-Шайбе):

$$I = aC^b \text{ или } \lg I = b \lg C + \lg a,$$

где  $a$  — коэффициент, который зависит от режима работы источника излучения, его стабильности, температуры и так далее;  $b$  — коэффициент, характеризующий самопоглощение излучения в плазме.

Важным достоинством АЭС являются возможности бесконтактного, экспрессного, одновременного количественного определения большого числа элементов в широком интервале концентраций с приемлемой точностью при использовании малой массы пробы, низкие пределы обнаружения, простота пробоподготовки, низкая себестоимость.

Индуктивно-связанная плазма — тип газового разряда, возбуждаемого переменным магнитным полем при помощи индуктора.

*Достоинства конфигурации индуктивно-связанной плазмы:* температура в аксиальном канале от 8000 до 10 000 °С, что позволяет достичь высокой степени ионизации, тем самым создавая возможность для определения большинства элементов. Высокая температура позволяет возбудить даже тугоплавкие образцы (бериллий, цинк, никель и др.). Так как число возбужденных частиц мало, то объект анализа ведет себя как оптически тонкий излучающий источник.

Определяют марганец, медь и железо в крови и спинномозговой жидкости, изучают ФК никеля, микроэлементного состава грудного молока.

*Достоинства метода:* анализ широкого круга объектов (биообъекты, почва, морская вода и т. д.), высокий предел обнаружения ( $10^{-7}$ – $10^{-3}$  г/мл), высокая воспроизводимость, возможно определить до 70 элементов одновременно, использование как водных, так и органические растворителей, предел обнаружения снижается еще на 2 порядка при использовании масс-спектрометра.

## «ЛЕТУЧИЕ» ЯДЫ

### РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ОТРАВЛЕНИЙ «ЛЕТУЧИМИ» ЯДАМИ. ПЕРЕЧЕНЬ «ЛЕТУЧИХ» ЯДОВ, ПОДЛЕЖАЩИХ ОБЯЗАТЕЛЬНОМУ СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА ОТРАВЛЕНИЕ НЕУСТАНОВЛЕННЫМ ЯДОМ

Летучие яды — класс органических веществ высокой липофильности и летучести; к летучим ядам также относят *токсичные газы*. Исторически летучим ядом считали вещество, изолируемое из биоматериала перегонкой с водяным паром. Главными органами-мишенями для ядов данного класса является ЦНС, печень и почки. Включение органического вещества в группу летучих ядов определяется:

1. Летучестью (низкой температурой фазового перехода жидкость → газ).
2. Возможностью изолировать методом перегонки (дистиляции) или микродиффузии.
3. Идентификацией и количественным определением методами газовой и ГЖХ.

Метод перегонки с водяным паром нашел широкое применение и в ХТА. С помощью этого метода производится изолирование большой группы ядовитых и сильнодействующих веществ из биоматериала. К этой группе веществ относятся представители различных классов химических соединений:

1. Синильная кислота HCN.
2. Алкилгалогениды:  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{C}_{13}\text{C}-\text{CH}(\text{OH})_2$ ,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_6$ .
3. Альдегиды и кетоны алифатического ряда:  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$ .
4. Алканоли:  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ,  $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$ ,  $\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$ ,  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$ . Диолы:  $\text{CH}_2\text{OH-CH}_2\text{OH}$ .
5. Сложные эфиры алифатического ряда: амилнитрит, амилацетат.
6. Карбоновые кислоты алифатического ряда:  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_3\text{-CHON- COOH}$ .
7. Сероуглерод  $\text{CS}_2$ .
8. Элементоорганические соединения жирного ряда  $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$  (тетраэтилсвинец).

9. Ароматические углеводороды:  $C_6H_6$  (бензол),  $H_3C-C_6H_5$  (толуол), ксилолы.

10. Нитро- и аминпроизводные ароматического ряда:  $C_6H_5NO_2$  (нитробензол),  $C_6H_5NH_2$  (анилин).

11. Оксипроизводные ароматического ряда:  $C_6H_5OH$  (фенол), крезолы, кислота салициловая.

12. Фосфор и первые продукты его окисления и восстановления:  $H_3PO_2$  (кислота).

Летучие яды легко проникают в организм через легкие, кожу и ЖКТ, вызывая хронический эффект (раздражение слизистых оболочек, кожных покровов, токсический эффект). Летучие яды, поступающие через легкие, вызывают повреждение легочных капилляров и отек легких.

Известны случаи преднамеренного приема перорально или ингаляционным путем летучих ядов с целью достижения эйфории, зрительных и слуховых галлюцинаций.

Клиническая картина отравления нечеткая, что затрудняет диагностику. Поэтому основным методом идентификации ядов является газовая хроматография.

Летучие яды свободно проникают через биомембраны путем пассивной диффузии. Всасывание летучих ядов начинается в ротовой полости через слизистую оболочку. Пары летучих ядов всасываются как в верхних дыхательных путях, так и в альвеолах.

### **Классификация «летучих» ядов по кислотно-основным свойствам. Выбор объекта исследования**

Предложены различные классификации летучих токсикантов: химическая классификация с учетом молекулярного строения, классификация по кислотно-основным свойствам. Вторая классификация имеет практическое значение, так как в зависимости от pH среды перегоняются вещества различной химической природы.

В зависимости от кислотно-основных свойств их можно разделить на 3 группы:

1. Вещества кислотного характера:

– синильная кислота;

– карбоновые кислоты алифатического ряда (муравьиная, уксусная, молочная кислоты);

– фенолы и фенолокислоты (фенол, крезолы, салициловая кислота).

2. Вещества основного характера (алкалоиды и синтетические вещества основного характера: никотин, анабазин, конинин, эфедрин, анилин, фенамин, пиридин).

3. Вещества, не склонные к кислотно-основному взаимодействию:

- циклические алканы и их галогенпроизводные (пентан, гексан, гептан, гексахлорциклогексан и др.);
- ароматические углеводороды (бензол, толуол, ксилолы) и их нитро- и аминопроизводные (нитробензол, динитроортокрезол и др.);
- галогенпроизводные углеводородов (хлороформ, хлоралгидрат, тетрахлорметан, дихлорметан, дихлорэтан, трихлорэтилен, тетрахлорэтилен и др.);
- спирты алифатического ряда (метанол, этанол, пропанол, бутанол, пентанол, этиленгликоль);
- эфиры простые и сложные (диэтиловый, этил-, бутил-, амилацетат);
- альдегиды и кетоны (формальдегид, ацетальдегид, ацетон, метилэтилкетон);
- элементоорганические соединения (тетраэтилсвинец).

К летучим ядам относятся также некоторые простые газообразные вещества (хлор, фтор), летучие оксиды и гидриды (монооксид углерода, диоксид азота, сероводород, фтороводород, арсин, стибин и др.).

Как известно, биологический материал не консервируется, однако это допустимо. Некоторые консерванты, а также стабилизаторы, растворители, аэрозольные пропелленты представляют собой «летучие» яды:

- а) аэрозоли: фторуглеводороды — трифторметан, дихлорфторметан;
- б) ингаляторы: инертные газы;
- в) инъекционные растворы: пропиленгликоль, этилолеат, бензилбензоат, фенол, крезол, хлорбутанол, бензиловый спирт;
- г) свечи: пропиленгликоль.

При подозрении на отравление летучими ядами на исследование могут поступать биообъекты:

1. HCN и цианиды: желудок с содержимым, печень, почки. В желудке цианиды можно обнаружить, труднее обнаруживаются в паренхиматозных органах (быстрое разложение HCN). В крови цианиды могут образовываться и посмертно, особенно в гнилостном материале.

2. Метиловый спирт: кровь, моча, печень, меньше в почках. Метанол может выделяться с мочой в виде глюкуронида и в свободном виде.

3. Этанол: в крови этанола больше в течение 1–2 ч, а потом увеличивается количество этанола в моче. Необходимо иметь в виду, что в случае гнилостного разложения трупов в крови может образоваться этанол до 2,4 %.

4. Ацетон: больше в крови, меньше в головном мозгу, селезенке, печени, почках, легких, сердце; содержится в крови и моче диабетиков.

5. Фенол: почки, печень, сердце, кровь.

6. Хлороформ: выдыхаемый воздух, богатые жирами ткани трупов, печень.

7. Хлоралгидрат: печень, желудок.

8. Четыреххлористый углерод: в печени больше, чем в легких.

9. Дихлорэтан: рвотные массы, желудок с содержимым, печень, почки.  
После приема ДХЭ начинается рвота, понос.

10. ТЭС: пищевые продукты, бензин, биоматериал.

11. Уксусная кислота: желудок с содержимым, печень, почки.

Примечание: кроме вышеперечисленных на исследование могут быть направлены: слюна (этанол), остатки жидкостей, селезенка (формальдегид), сердце (фенол, крезолы), выдыхаемый воздух (этанол), сальник (алкилгалогениды), двенадцатиперстная кишка (фенол, формальдегид), промывные воды желудка (метанол, этанол).

### **ИЗОЛИРОВАНИЕ «ЛЕТУЧИХ» ТОКСИКАНТОВ ПЕРЕГОНКОЙ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ. СПОСОБЫ РАЗДЕЛЕНИЯ АЗЕОТРОПНЫХ СМЕСЕЙ. АППАРАТ ДЛЯ ПЕРЕГОНКИ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ**

Методом перегонки с водяным паром можно изолировать как вещества, растворимые в воде, так и практически не растворимые в воде: трихлорэтан, толуол, нитробензол и другие. Температура перегонки каждого вещества в смеси, как правило, ниже температуры кипения каждого компонента в чистом виде. Это объясняется тем, что общее давление паров смеси всегда больше, чем парциальное давление каждой отдельно взятой жидкости.

Многие вещества образуют с водой азеотропные смеси, что и объясняет способность таких веществ перегоняться водяным паром. Азеотропная смесь — это однородная смесь двух жидкостей, состав которой не изменяется при дистилляции, но температура кипения компонентов снижается. В состав азеотропных смесей вместо воды могут входить и другие жидкости.

Некоторые вещества (ацетон, уксусная кислота, этиленгликоль, метанол и другие) смешиваются с водой и перегоняются с водяным паром, но не образуют азеотропных смесей.

Перегонка — это процесс, основанный на различии состава жидкости и ее пара. Общее свойство летучих ядов — способность перегоняться с водяным паром из-за значительной упругости паров при температурах, близких к температуре кипения воды. Использование водяного пара в большинстве случаев позволяет создать более мягкие условия перегонки, что особенно важно для термически нестойких летучих ядов.

Способы разделения азеотропных смесей:

1. Путем перегонки при пониженном или повышенном давлении. Например, если при перегонке этанола понизить давление над раствором до 100 мм, то перегоняется азеотропная смесь, содержащая 99,6 % этанола, и температура кипения понизится до 34,2 °С.

2. Химическим связыванием одного из компонентов азеотропной смеси. Для получения абсолютного спирта азеотропную смесь обрабатывают водоотнимающим реагентом (металлический натрий или хлорид кальция).

3. Путем добавления третьего компонента. Абсолютный этанол можно получить перегонкой азеотропной смеси с добавкой бензола. При этом образуется двухслойная смесь, кипящая при  $64,9\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $101,3\text{ кПа}$ . Бензол и вода отгоняются, а остаток представляет собой абсолютный этиловый спирт.

Используют простую и фракционную перегонку при атмосферном давлении. Для термически стойких и высококипящих летучих ядов наиболее приемлема простая перегонка при повышенном давлении, для термически нестойких — простая перегонка при пониженном давлении.

**Аппаратура и техника перегонки.** Дистилляция с водяным паром проводится в специальном приборе (рис. 11), который состоит из трех основных частей, герметично соединенных друг с другом:

1. Парообразователь.
2. Колба с исследуемым объектом (может помещаться на водяную баню).
3. Холодильник с приемником.

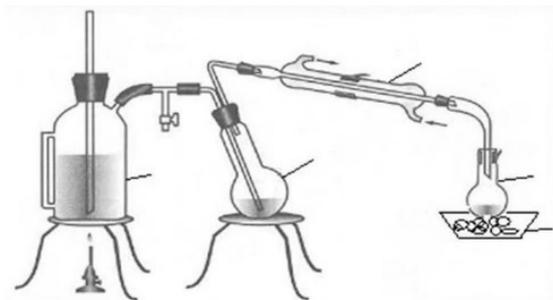


Рис. 11. Аппарат перегонки

Сборку установки начинают со стороны приемника, в последнюю очередь к колбе с исследуемым объектом присоединяют заранее нагретый парообразователь (разборка ведется в обратном порядке). Водяную баню, в которой стоит колба с объектом, также нагревают, чтобы избежать конденсации водяного пара. Дистилляцию проводят медленно, так, чтобы можно было считать капли отгона.

Собирают 3 порции дистиллята. Первый в количестве 1–3 мл собирают в приемник с 5%-ным раствором натрия гидроксида для улавливания легколетучей синильной кислоты и превращения ее в нелетучий цианид натрия. При этом алонж холодильника должен быть погружен в раствор NaOH, чтобы избежать потерь летучей HCN.

Весь первый дистиллят используют для обнаружения синильной кислоты. Второй (и третий) дистиллят собирают в пустой, чистый приемник в количестве 20–30 мл и используют для обнаружения всех остальных веществ из группы летучих ядов. Для количественного определения обнаруженного летучего яда перегонку с водяным паром повторяют на новой порции биологического материала, контролируя полноту отгонки этого вещества с использованием соответствующих качественных реакций. Для исследования используют всю полученную фракцию.

При проведении исследования необходимо обращать внимание на следующее:

1. Запах объекта (иногда это может дать какие-либо дополнительные ориентирующие данные). Правда, запах биообъекта, как правило, маскирует запах летучего ядовитого вещества, но в некоторых случаях все же возможно определение запаха искомого соединения. Например, изоамиловый спирт придает объекту запах сивушных масел, нитробензол и синильная кислота — запах горького миндаля.

2. Запах и внешний вид дистиллята. Перед выполнением исследования обязательно проводят наружный осмотр дистиллята, обращая внимание на его прозрачность или мутность, наличие капель на дне склянки или маслянистой пленки на поверхности жидкости, наличие характерного запаха.

Так, *изоамиловый спирт* легче воды и плохо смешивается с ней, поэтому при содержании значительных количеств изоамилового спирта дистиллят обладает характерным раздражающим запахом сивушных масел и иногда содержит на поверхности маслянистые капли или даже два слоя этого вещества. Присутствие в отгоне *фенола* можно обнаружить по характерному запаху карболовой кислоты и молочновидному помутнению, поскольку фенол плохо растворим в воде. При больших количествах на дне приемника могут присутствовать бесцветные или розоватые капли (продукты окисления фенола). *Хлороформ* и *четырёххлористый углерод* тяжелее воды и не смешиваются с ней, поэтому на дне приемника можно наблюдать бесцветные капли или слой этих веществ.

### **ОСОБЕННОСТИ ИЗОЛИРОВАНИЯ СИНИЛЬНОЙ, УКСУСНОЙ КИСЛОТ, ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ, МЕТАНОЛА. СПОСОБЫ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ, ОЧИСТКИ И ВЫДЕЛЕНИЯ «ЛЕТУЧИХ» ТОКСИКАНТОВ**

Изолирование осуществляется следующим образом:

1. Синильная кислота: подкисление биоматериала щавелевой или винной кислотами, дистиллят собирают в раствор гидроксида натрия (для снижения летучести паров).

2. Уксусная кислота: подкисление серной или фосфорной кислотами, дистиллят собирают в раствор гидроксида натрия.

3. Этиленгликоль: в колбу с биоматериалом добавляют бензол (переносчик), и перегонку проводят в аппарате с насадкой (дефлегматором). Этиленгликоль из крови и мочи извлекают ацетоном, который затем испаряют. Такой способ позволяет увеличить концентрацию этиленгликоля по сравнению с исходной при исследовании крови в 5–10 раз, мочи — 25–50 раз.

4. Метанол: приемник охлаждают, чтобы избежать потерь метанола.

#### **Способы концентрирования, очистки и выделения летучих токсиантов:**

1. Экстракция органическими растворителями (диэтиловый эфир,  $\text{CHCl}_3$ ). Так концентрируют изоамиловый спирт, анилин, фенол, крезолы. Экстрагируя изоамиловый спирт эфиром, одновременно проводят и очистку его от воды, так как реакцию на изоамиловый спирт проводят в отсутствие воды.

2. Фракционная (дробная) перегонка проводится в колбах с дефлегматорами. Получаются фракции веществ с близкими температурами кипения.

3. Метод микродиффузии позволяет определять летучие яды в случае анализа небольших количеств анализируемых объектов (кровь, моча, гомогенат ткани). Метод прост в исполнении, изолирование летучих веществ из биологических объектов происходит в результате диффузии.

Для исследования применяют прибор для микродиффузии (рис. 12), состоящий из сосуда из стекла или пластмассы (1), внутри которого находится сосуд меньшего размера (2). Летучие вещества из исследуемого объекта, находящегося в наружной камере (4), переходят в воздушное пространство прибора, а затем во внутреннюю камеру (3), содержащую соответствующий растворитель или раствор реактивов. Прибор закрывают крышкой (5) и оставляют на определенное время, а затем из внутренней камеры берут раствор, содержащий определяемое вещество.

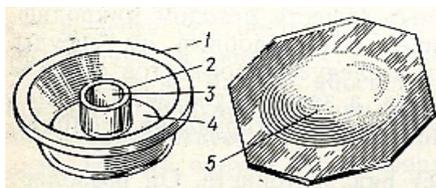


Рис. 12. Прибор для микродиффузии

На скорость диффузии влияют различные факторы: температура, упругость пара исследуемого вещества, объем пробы, присутствие электролитов, кислот, щелочей.

Для обнаружения веществ методом диффузии используют характерные реакции: на формальдегид — хромотроповую кислоту, ацетальдегид —

p-гидроксифенин, метанол — хромотроповую кислоту (после окисления перманганатом калия), этанол — дихромат калия, сульфиды — нитрат висмута, фенолы — реактив Фолина-Чиокальто (для приготовления используют вольфрамат натрия, молибдат натрия, фосфорную кислоту, HCl, сульфат лития, бром).

4. Для обнаружения легколетучих веществ (спиртов) может применяться метод микроперегонки. При нагревании исследуемого объекта в герметически закрытом сосуде образуется парогазовая фаза, которую отбирают шприцом и вводят в хроматографическую колонку газового хроматографа.

### **ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГАЛОГЕНОПРОИЗВОДНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ, ТОКСИКОКИНЕТИКА, МЕТАБОЛИЗМ**

**Хлороформ (трихлорметан)  $\text{CHCl}_3$**  — бесцветная прозрачная летучая жидкость с характерным запахом. Смешивается с диэтиловым эфиром, этиловым спиртом и другими органическими растворителями, слабо растворяется в воде. Под влиянием света, воздуха, влаги и температуры хлороформ постепенно разлагается. При этом могут образовываться фосген, муравьиная и соляная кислоты.

*Применение и действие на организм.* Хлороформ широко используется в химической промышленности и в химических лабораториях как растворитель. Раньше он применялся в медицине для наркоза. В настоящее время хлороформ в смеси с другими лекарственными препаратами используется для растирания. Пары хлороформа легко проникают в организм с выдыхаемым воздухом. Хлороформ действует на центральную нервную систему, вызывая наркоз. Он накапливается в тканях, богатых жирами. При больших количествах хлороформа, поступившего в организм, могут появляться дистрофические изменения во внутренних органах, особенно в печени. При отравлении хлороформом смерть наступает от остановки дыхания.

*Метаболизм.* Хлороформ, поступивший в организм, быстро исчезает из крови. Через 15–20 мин с выдыхаемым воздухом в неизменном виде выделяется 30–50 % хлороформа. В течение часа через легкие выделяется до 90 % хлороформа, поступившего в организм. Однако еще и через 8 ч в крови можно обнаружить незначительные количества хлороформа. Часть хлороформа подвергается биотрансформации. При этом в качестве метаболитов образуются оксид углерода (IV) и хлороводород. При химико-токсикологических исследованиях основными объектами анализа на наличие хлороформа в организме являются выдыхаемый воздух, богатые жирами ткани трупов и печень.

**Хлоралгидрат  $\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}_3\text{O}_2$**  — бесцветные кристаллы или мелкокристаллический порошок с характерным острым запахом и слегка горьковатый,

растворяется в воде, этиловом спирте, диэтиловом эфире и хлороформе. Хлоралгидрат гигроскопичен и медленно улетучивается на воздухе.

*Применение и действие на организм.* Хлоралгидрат применяется в медицине как успокаивающее, снотворное и анальгезирующее средство. В больших дозах хлоралгидрат может вызывать отравление. По токсическому действию хлоралгидрат близок к хлороформу. Он применяется при психических возбуждениях и как противосудорожное средство при столбняке, эклампсии и при других заболеваниях. В определенных дозах хлоралгидрат применяется как снотворное средство.

*Метаболизм.* Хлоралгидрат быстро всасывается в кровь из пищевого канала. В организме он подвергается метаболизму. Метаболитами хлоралгидрата являются трихлорэтанол и трихлоруксусная кислота. Считают, что токсическое действие хлоралгидрата на организм объясняется образованием трихлорэтанола. Трихлоруксусная кислота в организме может образовываться двумя путями: непосредственно из хлоралгидрата и из трихлорэтанола. Трихлорэтанол из организма выделяется с мочой в виде глюкуронида. После смерти, наступившей в результате отравления хлоралгидратом, определенное количество его в неизменном виде можно обнаружить в печени и желудке.

**Четыреххлористый углеводород  $CCl_4$**  — прозрачная жидкость со своеобразным запахом (температура кипения  $75-77^\circ C$ ). Он смешивается в любых соотношениях с ацетоном, бензолом, бензином, сероуглеродом и другими органическими растворителями. В воде при  $20^\circ C$  растворяется около 0,01 % четыреххлористого углерода. Четыреххлористый углерод не огнеопасен, его пары в несколько раз тяжелее воздуха.

*Применение и действие на организм.* Четыреххлористый углерод широко применяется в промышленности как растворитель жиров, смол, каучука. Он используется как консервант при обработке меха, а также применяется для удаления жирных пятен с одежды. Четыреххлористый углерод входит в состав жидкостей для наполнения огнетушителей. Однако при высокой температуре в результате разложения четыреххлористого углерода могут образовываться фосген и другие ядовитые вещества, вызывающие отравление. Четыреххлористый углерод применяется в ветеринарии в качестве противоглистного средства.

Четыреххлористый углерод неравномерно распределяется в организме. Количество его в ткани, богатой жирами, в несколько раз больше, чем в крови. Содержание четыреххлористого углерода в печени и в костном мозгу значительно выше, чем в легких. В эритроцитах крови трупов содержится четыреххлористого углерода примерно в 2,5 раза больше, чем в плазме. Он обладает наркотическим действием, поражает центральную нервную систему. Поступление в организм больших его доз вызывает тяжелые

дистрофические изменения в печени, почках, сердце и в других органах. Смертельная доза четыреххлористого углерода составляет 30–60 мл.

*Метаболизм.* Четыреххлористый углерод быстро выделяется из организма. Уже через 48 ч после поступления в организм его нельзя обнаружить в выдыхаемом воздухе. Его метаболитами являются хлороформ и оксид углерода (IV).

**Дихлорэтан  $C_2H_4Cl_2$ .** Известны два изомера дихлорэтана: 1,1-дихлорэтан и 1,2-дихлорэтан (более токсичный). 1,1-дихлорэтан (хлористый этилиден)  $CH_3CHCl_2$  — бесцветная, кипящая при 58 °С жидкость. 1,2-дихлорэтан (хлористый этилен)  $Cl-CH_2-CH_2-Cl$  — жидкость, кипящая при 83,7 °С. В промышленности 1,2-дихлорэтан более широко используется, чем 1,1-дихлорэтан. 1,2-дихлорэтан слабо растворяется в воде, хорошо растворяется в большинстве органических растворителей. Он устойчив к действию кислот и щелочей. Воспламеняется с трудом.

*Применение и действие на организм.* 1,2-дихлорэтан является более токсичным, чем 1,1-дихлорэтан. В промышленности 1,2-дихлорэтан используется как растворитель жиров, восков, смол, парафинов и других веществ. Его применяют и в химических лабораториях для экстракции многих органических веществ из водных растворов. 1,2-дихлорэтан используется для извлечения жира из шерсти животных, для химчистки одежды. Пары 1,2-дихлорэтана проникают в организм через дыхательные пути, он может проникать в организм через неповрежденную кожу. Картина отравления 1,2-дихлорэтаном подобна картине отравления четыреххлористым углеродом. 1,2-дихлорэтан вызывает поражения центральной нервной системы, печени, почек и сердечной мышцы. После приема токсической дозы 1,2-дихлорэтана внутрь наблюдаются рвота, понос, боли в области печени, вздутие живота, уремия. 15–50 мл 1,2-дихлорэтана в большинстве случаев вызывают смерть. Выделение дихлорэтана из биологического материала. Выделение дихлорэтана из биологического материала производится путем перегонки с водяным паром. На исследование берут первые порции дистиллята. В тех случаях, когда имеются специальные указания провести исследование биологического материала на наличие 1,2-дихлорэтана, получают около 300 мл дистиллята, который подвергают повторной перегонке и собирают первые 200 мл дистиллята. Этот дистиллят дважды подвергают перегонке с дефлегматором.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ДИСТИЛЛЯТА ХИМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ.  
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ РЕАКЦИЙ ОБНАРУЖЕНИЯ  
СИНИЛЬНОЙ КИСЛОТЫ, ФОРМАЛЬДЕГИДА, АЦЕТОНА, МЕТАНОЛА,  
ЭТАНОЛА, АЛКИЛГАЛОГЕНИДОВ, ФЕНОЛА, КРЕЗОЛОВ**

Схема исследования дистиллята химическим методом.

Первая порция дистиллята исследуется на наличие цианид-ионов. Наиболее доказательной является реакция образования *берлинской лазури*. Это высокочувствительная и избирательная реакция, другие реакции имеют вспомогательное значение.

*1. Реакция образования берлинской лазури.*

Появление синего осадка или синей окраски указывает на наличие синильной кислоты (цианидов) в дистилляте. Предел обнаружения: 20 мкг синильной кислоты в 1 мл раствора.

При образовании берлинской лазури образуются и побочные продукты (гидроксиды железа). Заключение об отсутствии HCN дается только после 48 ч, так как при следах HCN в присутствии органических веществ осадок берлинской лазури может выпадать медленно.

При длительном отсутствии осадка добавляют раствор  $BaCl_2$ . Образовавшийся  $BaSO_4$  осаждает берлинскую лазурь, и малые ее количества выделяются быстрее. Выделившийся осадок берлинской лазури может быть представлен в качестве доказательства обоснованности заключения.

*2. Реакция образования роданида железа.*

Реакция основана на том, что при нагревании цианидов с раствором полисульфида аммония образуется роданид, который с хлоридом железа (III) образует комплекс кроваво-красного цвета.

Появление кроваво-красной окраски указывает на наличие цианидов в растворе. При взбалтывании окрашенного раствора с диэтиловым эфиром окраска переходит в эфирный слой. Предел обнаружения: 10 мкг синильной кислоты в 1 мл.

*3. Реакция образования бензидиновой сини.*

Соли меди (II) с цианидами образуют дициан  $(CN)_2$ , который при взаимодействии с водой выделяет кислород, окисляющий бензидин. При наличии синильной кислоты бумага синее.

*4. Реакция с пикриновой кислотой.*

Пикриновая кислота с цианидами в щелочной среде образует соль изопурпуровой кислоты красного цвета. Мешают альдегиды, ацетон, сульфиты и др.

*5. Реакция образования полиметинового красителя:* к 2–3 мл дистиллята прибавляют 0,5 мл бромной воды, 1 мл 10%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, 0,5 мл 0,5%-ного раствора гидразина сульфата и 3 мл пиридин-бензидиновой смеси. В присутствии цианид-ионов в растворе появляется

оранжевое окрашивание, переходящее в красно-фиолетовое. Предел обнаружения — 0,2 мкг HCN в пробе.

#### *6. Обнаружение цианидов методом микродиффузии.*

В наружную камеру прибора для микродиффузии помещают кровь (мочу или гомогенат ткани) и прибавляют раствор серной кислоты. Во внутреннюю камеру прибора вносят раствор гидроксида натрия, прибор закрывают крышкой и оставляют на 3–4 ч при комнатной температуре. Из внутренней камеры в пробирку берут 1 мл жидкости, прибавляют растворы гидроксида натрия, двузамещенного фосфата натрия и хлорамина Т. Жидкость взбалтывают и через 2–3 мин прибавляют реактив, содержащий барбитуровую кислоту и пиридин. Смесь взбалтывают и оставляют на 10 мин. При наличии цианидов в исследуемой пробе появляется красная окраска.

Со второй порцией дистиллята проводят исследование на следующие вещества.

#### **Обнаружение формальдегида:**

##### *1. Реакция с хромотроповой кислотой.*

Формальдегид с хромотроповой кислотой образует соединение, имеющее фиолетовую окраску. Этой реакции не мешают альдегиды уксусной, пропионовой кислот и хлоралгидрат. В этой реакции концентрированная серная кислота является как водоотнимающим средством, так и окислителем.

*2. С фуксинсернистой кислотой* формальдегид дает синюю окраску. При  $\text{pH} \geq 3$  эту реакцию дают также ацетальдегид, нитробензальдегид; не мешает хлоралгидрат. В сильно кислой среде ( $\text{pH} 0,7$ ) реакция формальдегида с фуксинсернистой кислотой является специфичной (не мешают другие альдегиды).

*3. С метиловым фиолетовым* формальдегид дает сине-фиолетовую окраску. Эта реакция не специфична для обнаружения формальдегида. Ее дают и некоторые другие альдегиды.

*4. С морфином или кодеином* формальдегид в присутствии концентрированной серной кислоты дает сине-фиолетовую окраску (предел обнаружения — 0,02 мкг HCON в пробе). При наличии формальдегида сразу или через 5–10 мин появляется сине-фиолетовая или красно-фиолетовая окраска.

*5. Формальдегид реагирует с кетоформой резорцина:* появление розовой или малиновой окраски указывает на наличие формальдегида. Предел обнаружения — 0,03 мкг HCON в пробе. Эту реакцию дают уксусный альдегид, акролеин, фурфурол и др.

*6. Формальдегид восстанавливает ионы серебра* при нагревании до металлического серебра. При наличии формальдегида происходит реакция образования «серебряного зеркала». Эта реакция успешно протекает при  $\text{pH} 8-9$ . Нагревание пробирки должно быть умеренным.

7. При взаимодействии формальдегида с реактивом Фелинга образуется красный осадок оксида меди (I).

8. *Обнаружение формальдегида методом микродиффузии:* помещают 3 мл крови (мочи) или 1 г гомогената тканей в наружную камеру прибора для микродиффузии, прибавляют 3–4 капли 10%-ного раствора серной кислоты. Во внутреннюю камеру помещают 3,3 мл 0,15 М раствора сульфата натрия, закрывают прибор крышкой и оставляют на 4 ч. Из внутренней камеры берут 1 мл жидкости, прибавляют 0,2 мл 0,5%-ного раствора хромотроповой кислоты и 3 мл концентрированной серной кислоты. Раствор перемешивают, нагревают на водяной бане в течение 15 мин и охлаждают. При наличии формальдегида в исследуемой пробе наблюдают появление красно-фиолетовой окраски раствора.

9. *Определение формальдегида методом реакционной газовой хроматографии* основано на реакции формальдегида с 2,4-динитрофенилгидразином. В результате реакции образуется 2,4-фенилгидразон формальдегида, который экстрагируют толуолом. Идентификация 2,4-фенилгидразона формальдегида проводится на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным, термоионным или электрозахватным детектором.

**Обнаружение метанола:** при отсутствии формальдегида метанол окисляют до формальдегида (раствор дихромата калия в кислой среде), а затем проводят перечисленные реакции на формальдегид. При обнаружении формальдегида на метанол проводят только реакцию образования метилсалицилата или определяют метанол методом ГЖХ.

#### **Обнаружение ацетона:**

1. *Метод газовой хроматографии.*

2. *Образование йодоформа.* В щелочной среде ацетон с раствором йода образует желтый осадок йодоформа с характерным запахом.

3. *С нитропруссидом натрия* с ацетоном в щелочной среде дает красное окрашивание. При наличии ацетона в пробе появляется красная или оранжево-красная окраска. При добавлении 10%-ного раствора уксусной кислоты до кислой реакции окраска через несколько минут переходит в красно-фиолетовую или вишнево-красную.

4. *Нитробензальдегид* с ацетоном в щелочной среде образует индиго (синяя окраска).

5. *Фурфурол способен конденсироваться* с ацетоном с образованием соединения, имеющего красную окраску.

6. *Обнаружение ацетона методом микродиффузии:* в наружную камеру прибора для микродиффузии помещают 3 мл крови (мочи) или 1 г гомогената тканей, прибавляют 3–4 капли 10%-ного раствора серной кислоты. Во внутреннюю камеру вносят 3,0 мл 0,15 М раствора сульфата натрия, закрывают крышкой и оставляют на 4 ч. Затем в пробирку берут из внутренней

камеры 1 мл жидкости, прибавляют 9 мл воды, 4 мл 40%-ного раствора гидроксида натрия, 1 мл 20%-ного свежеприготовленного раствора салицилового альдегида в этаноле. Нагревают пробирку в течение трех минут на водяной бане (50–60 °С) и охлаждают. Появление красной окраски раствора указывает на наличие ацетона в пробе.

**Обнаружение алкилгалогенидов.** Остаток второго дистиллята смешивают с третьим и проводят реакции на алкилгалогениды, то есть при положительных предварительных реакциях ведется внутригрупповая идентификация алкилгалогенидов. Общими реакциями являются: реакция отщепления хлора и реакция Фудживара.

1. *Реакция отщепления хлора.* При нагревании дистиллята со спиртовым раствором щелочи образуется хлорид-ион, который с раствором нитрата серебра дает белый осадок. Появление белого растворимого в аммиаке осадка указывает на наличие хлорид-ионов в дистилляте. Предел обнаружения — 0,2 мг хлороформ, 0,15 мл хлоралгидрата, 6,8 мг тетрахлорметана и 2,5 мг дихлорэтана в 1 мл дистиллята.

2. *Реакция Фудживара.* При взаимодействии хлороформа с пиридином в присутствии щелочи образуется соединение красного цвета.

3. *Изонитрильная проба.* Хлороформ (хлоралгидрат, тетрахлорметан) с анилином и щелочью при нагревании образует соединение (изонитрил), имеющее неприятный запах. Появление неприятного запаха изонитрила указывает на наличие алкилгалогенидов в пробе. Предел обнаружения — 0,01 мг хлороформа (хлоралгидрат) и 2,3 мг тетрахлорметана в 1 мл.

4. *Реакция с резорцином* проводится в щелочной среде при нагревании — появляется красная окраска. При взаимодействии хлороформа со щелочью образуется формиат натрия, который реагирует с кетоформой резорцина.

Предел обнаружения — 0,25 мг хлороформа (хлоралгидрата) и 4,5 мг тетрахлорметана. После нагревания пробирки на кипящей водяной бане в течение 5–10 мин появляется розовая или малиновая окраска. Параллельно выполняется «холостой» опыт. Дихлорэтан с резорцином не взаимодействует.

5. *Реакция с реактивом Фелинга.* Реактив Фелинга окисляет формиат натрия, образующийся в результате реакции хлороформа со щелочью. В осадок выпадает красный оксид меди (I). При наличии хлороформа в исследуемом растворе выпадает желтый осадок, переходящий затем в красный. Эту реакцию дает также и хлоралгидрат. Другие алкилгалогениды (дихлорэтан, тетрахлорметан) не дают этой реакции.

6. Характерной реакцией на хлоралгидрат является реакция с *реактивом Несслера*. При этом образуется осадок ртути. При наличии хлоралгидрата в исследуемом растворе образуется кирпично-красный осадок, который затем становится грязно-зеленым.

7. *Метод газовой хроматографии* (алкилгалогениды определяют в нативном виде, применяют малополярные неподвижные жидкие фазы).

При положительной реакции отщепления органически связанного хлора и отрицательных реакциях (1, 2, 3) проводят специальное исследование на дихлорэтан (ДХЭ): реакция переведения ДХЭ в этиленгликоль с последующим окислением его до формальдегида, на который проводят реакции с фуксинсернистой или хромотроповой кислотами; вторая характерная реакция на ДХЭ — образование ацетиленида меди, имеющего красную окраску.

При анализе дистиллята на фенолы и изоамиловый спирт дистиллят подщелачивают раствором гидрокарбоната натрия и извлекают эфиром. Эфирные экстракты соединяют, фильтруют, удаляют эфир и проводят исследование на фенолы и изоамиловый спирт. На фенолы проводят предварительную реакцию образования трибромфенола. Эта реакция более чувствительна, чем реакция с хлоридом железа (III), и имеет отрицательное судебно-химическое значение. Если эта реакция положительна, то на фенолы проводят дополнительные реакции (с хлоридом железа, образование индофенола).

#### **Обнаружение фенола:**

1. *Реакция с бромной водой.* При наличии фенола в исследуемом растворе образуется желтовато-белый осадок трибромфенола. Предел обнаружения — 50 мг в 100 г объекта. Реакция имеет отрицательное судебно-химическое значение. Такой же осадок дает и салициловая кислота. Однако при подщелачивании дистиллята гидрокарбонатом натрия салициловая кислота дает соль, которая не экстрагируется эфиром.

2. *Реакция с хлоридом железа (III).* Фенол с раствором хлорида железа (III) дает соединение, имеющее сине-фиолетовую окраску. Раствор хлорида железа (III) должен быть свежеприготовленным, так как при хранении хлорид железа (III) подвергается гидролизу с образованием основной соли  $\text{FeCl}_2(\text{OH})$  и кислоты. При наличии фенола появляется фиолетовая или сине-фиолетовая окраска, исчезающая от прибавления воды, спирта и кислот. Эта реакция менее чувствительна, чем реакция с бромной водой. В зависимости от pH среды и концентрации реагирующих компонентов образуются комплексы железа различного состава.

3. *Реакция с реактивом Миллона.* Фенол с реактивом Миллона (смесь нитратов одно- и двухвалентной ртути, содержащая азотистую кислоту) дает соединение красного цвета.

4. *Индофеноловая реакция.* В качестве окислителей используют гипохлорит натрия, хлорную или бромную воду, пероксид водорода и др. Появление грязно-фиолетовой окраски указывает на наличие фенола в пробе. После прибавления аммиака появляется устойчивая синяя окраска.

5. *Реакция Либермана.* Азотистая кислота, образующаяся при взаимодействии нитрита натрия и серной кислоты, с фенолом образует п-нитрозофенол,

который изомеризуется до *p*-хиноидоксима. *p*-хиноидоксим с избытком фенола дает индофенол (синяя окраска появляется после добавления гидроксида натрия к охлажденной смеси). Появление синей окраски, которая может переходить в красную, а затем в зеленую, указывает на наличие фенола в пробе.

6. *Реакция с бензальдегидом.* Фенол с бензальдегидом при нагревании в присутствии концентрированной серной кислоты образует соединение, имеющее красную окраску. При взбалтывании этого раствора с диэтиловым эфиром или хлороформом слой органического растворителя окрашивается.

7. *Обнаружение фенола методом микродиффузии.* В наружную камеру прибора для микродиффузии помещают 2–4 мл крови или мочи, или 1 г гомогената ткани, а затем вносят 3–4 капли 10%-ного раствора серной кислоты. Во внутреннюю камеру прибора помещают 3,3 мл 0.15 М раствора гидроксида натрия. Прибор закрывают крышкой и оставляют на 3–4 ч при комнатной температуре. Из внутренней камеры берут 1 мл жидкости, к которой прибавляют 2–3 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия и 0,5 мл реактива Фолина-Чиокальто, разбавленного водой (1 : 3). При наличии фенола появляется синяя окраска.

**Обнаружение крезолов.** О-крезол можно обнаружить при помощи реакции Либермана, индофеноловой реакции, реакций с хлоридом железа (III), бензальдегидом и реактивом Миллона. Для отличия о-крезола от *m*- и *p*-крезолов применяют реакции с бензальдегидом и хлоридом железа (III). Другие крезолы не дают этой реакции. При взаимодействии о-крезола с хлоридом железа (III) возникает синяя окраска, а *p*-крезол с этим реактивом дает красно-фиолетовую окраску. Примечание: *m*-крезол с хлоридом железа (III) образует соединение красно-фиолетового цвета, другие крезолы — синего цвета, а фенол — сине-фиолетового цвета. Обнаружение фенола и крезолов газохроматографическим методом проводят как по нативным соединениям, так и в виде бромпроизводных или силильных производных.

#### **Обнаружение метанола:**

1. *Реакция окисления метанола до формальдегида.* Предварительно проверяют наличие формальдегида в исследуемом растворе. Для окисления метанола до формальдегида чаще применяют перманганат калия. Избыток  $\text{KMnO}_4$  удаляют прибавлением щавелевой кислоты, гидросульфита натрия или других восстановителей. Обнаружение формальдегида проводят при помощи хромотроповой, фуксинсернистой кислот и резорцина.

*Обнаружение метилового спирта после его окисления.* После окисления метилового спирта до формальдегида последний определяют при помощи реакций с хромотроповой кислотой, фуксинсернистой кислотой и с резорцином. Из данных реакций специфической на метиловый спирт (после его окисления) является реакция с хромотроповой кислотой. Не дают этой реакции этиловый, пропиловый, бутиловый, амиловый и изоамиловый спирты.

2. *Реакция образования метилсалицилата.* При нагревании дистиллята, содержащего метанол, с салициловой и концентрированной серной кислотами ощущается характерный запах метилсалицилата. Предел — 0,3 мг/мл дистиллята. Этой реакции мешает этанол.

**Обнаружение этанола:**

1. *Газовая хроматография* (ГХ, ГЖХ).

2. *Реакция образования йодоформа.* В качестве реактивов применяют раствор гидроксида натрия, раствор иода, и реакцию проводят при нагревании. При наличии этанола ощущается запах йодоформа, а при больших количествах этанола образуется желтый осадок. Предел обнаружения — 0,04 мг/мл.

3. *Реакция этерификации.* Для получения этиловых эфиров, имеющих характерный запах, применяют бензоилхлорид и ацетат натрия. Появление специфического запаха уксусно-этилового эфира указывает на наличие этилового спирта в исследуемом растворе. Предел обнаружения — 20 мг/мл. Появление запаха этилбензоата указывает на наличие этилового спирта в пробе.

4. *Реакция образования ацетальдегида.* Методика выполнения реакции образования ацетальдегида: к 1 мл исследуемого раствора прибавляют 1 мл 10%-ного раствора серной кислоты до получения кислой среды (по лакмусу). К этой смеси по каплям прибавляют 10%-ный раствор дихромата калия до тех пор, пока жидкость не станет оранжево-красной. Смесь оставляют на несколько минут при комнатной температуре. При наличии этилового спирта в исследуемом растворе появляется запах ацетальдегида. Предел обнаружения — 3 мг/мл.

**ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ.  
ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ «ЛЕТУЧИХ» ТОКСИКАНТОВ**

Хроматография — это физико-химический метод разделения смеси веществ путем распределения их между двумя несмешивающимися фазами.

Несмешивающимися фазами в хроматографии являются «подвижная» и «неподвижная» фазы. Подвижной фазой может быть газ или жидкость. Подвижная фаза непрерывно течет по системе и является, по сути, транспортом для анализируемых компонентов пробы. Неподвижная фаза может быть твердым веществом с развитой поверхностью или жидкостью, нанесенной на твердое вещество или внутреннюю поверхность капилляра. Главное для неподвижной фазы — это способность обратимо взаимодействовать с анализируемыми компонентами пробы. При этом чем лучше взаимодействие (или сорбция), тем медленнее скорость движения компонента в хроматографической системе. Таким образом, процесс разделения основан на различном средстве компонентов пробы к подвижной и неподвижной фазам.

Принципиальная схема хроматографа (рис. 13) — прибора, позволяющего получать качественные и количественные характеристики хроматографического разделения: подвижная фаза (в ГХ — газ) → узел ввода пробы → хроматографическая колонка → детектор → система сбора данных → хроматограмма (на самописце или компьютере).



Рис. 13. Схема хроматографа

В газовой хроматографии различают газо-адсорбционную и газо-жидкостную хроматографию, в жидкостной — жидкостно-адсорбционную и жидкостно-жидкостную. При этом первое слово характеризует подвижную фазу, а второе — неподвижную. Жидкая неподвижная фаза закреплена на твердом носителе. Метод газовой хроматографии применяется для анализа летучих веществ или веществ, которые могут быть переведены в летучее состояние с помощью специальных приемов. Анализируемые вещества (например, смесь метилового, этилового и пропилового спиртов) вводятся в поток газа-носителя и в парообразном состоянии проходят через колонку с сорбентом, многократно перераспределяясь между подвижной и неподвижной фазами. Разделенные вещества элюируются из колонки, регистрируются детектором и фиксируются на хроматограмме в виде пиков (одному веществу соответствует один пик). Полученная хроматограмма — основа для качественного и количественного анализа смеси веществ.

К основным характерным особенностям газовой хроматографии относятся: высокая чувствительность ( $10^{-8}$ – $10^{-9}$  мг/мл), высокая разделительная способность, универсальность, экспрессность, малый размер пробы, возможность автоматизации процесса анализа, высокая точность ( $\pm 5\%$  погрешность).

Оптимизация экспериментальных параметров в хроматографии основывается на следующих главных требованиях лабораторного и производственного анализа:

1) анализируемые вещества (группы веществ) должны быть удовлетворительно разделены, чтобы был возможен их количественный анализ;

- 2) продолжительность анализа должна быть минимальной;
- 3) срок службы колонки должен быть продолжительным, чтобы анализы можно было проводить без существенного изменения результатов в течение по крайней мере месяцев, предпочтительно лет.

### **ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ КОЛОНКИ, АДсорбЕНТЫ, НЕПОДВИЖНЫЕ ЖИДКИЕ ФАЗЫ, ПОДВИЖНЫЕ ФАЗЫ, ДЕТЕКТОРЫ**

В зависимости от назначения, колонки делят на аналитические, препаративные и предколонки. С помощью аналитической многокомпонентную смесь делят на серию бинарных смесей «компонент – газ-носитель». Для получения в чистом виде необходимых количеств компонентов используют препаративные колонки. Предварительное концентрирование компонентов пробы из больших объемов достигается с применением предколонок.

В зависимости от величины внутреннего диаметра, способа размещения неподвижной фазы аналитические колонки делят на два типа: насадочные и капиллярные. Колонки выбирают в зависимости от размера термоста. Насадочные колонки применяются более широко.

Основным материалом для изготовления капиллярных колонок является стекло, обладающее наименьшей адсорбционной и каталитической активностью. Недостатками капиллярных колонок являются сложность изготовления, дороговизна, недолговечность, плохая воспроизводимость и сложность в эксплуатации.

В газо-адсорбционной хроматографии разделение происходит за счет процессов сорбции/десорбции как в насадочных, так и в капиллярных колонках. Выбор адсорбента имеет важное значение, так как основным свойством адсорбционной фазы является ее адсорбционная активность.

Взаимодействие разделяемых веществ с адсорбентом не должно быть очень сильным. Различают две группы сил: физические и химические. При физической адсорбции взаимодействие разделяемых веществ с поверхностью адсорбента осуществляется за счет Ван-дер-Ваальсовых сил (ориентационные, индукционные, дисперсионные силы). К силам химического взаимодействия относятся водородная связь и образование комплексов с переносом заряда. При хемосорбции образуется прочная химическая связь между молекулами разделяемых веществ и адсорбента.

Наряду с достоинствами газо-адсорбционной хроматографии (широкий температурный диапазон, стабильность базовой линии, быстрое установление равновесия) есть и недостатки: асимметричные пики, большое время анализа, каталитическая активность некоторых адсорбентов.

Газо-адсорбционная хроматография применяется для разделения газов — азота, водорода, кислорода, метана, диоксида углерода, инертных

газов и низкокипящих летучих углеводородов. На колонках с пористыми полимерными сорбентами или углеродными молекулярными ситами разделяют воду в неорганических и органических материалах (растворителях).

Из неорганических адсорбентов (активированный уголь, силикагель, оксид алюминия, графитированная сажа, молекулярные сита) в газовой хроматографии в основном используют силикагели. Удерживание веществ на силикагелях зависит от условий термообработки силикагелей, степени насыщения поверхности водой, удельной поверхности, свойств разделяемых веществ и др.

**Основные требования к газу-носителю.** Он должен:

1. Быть инертным по отношению к разделяемым веществам, детектору и материалам колонки.
2. Обеспечивать высокую чувствительность детектора.
3. Быть достаточно чистым (это условие особенно важно при анализе примесей).
4. Иметь вязкость как можно меньше, чтобы поддерживался небольшой перепад давлений в колонке.
5. Обладать малой сорбируемостью.
6. Быть взрывобезопасным.

Хроматографический детектор представляет собой устройство, предназначенное для обнаружения и количественного определения выходящих из колонки в потоке газа-носителя компонентов анализируемой смеси. Регистрация компонентов осуществляется за счет преобразования в электрический сигнал и изменения физических и физико-химических свойств газового потока, выходящего из хроматографической колонки.

Детекторы, используемые в современной хроматографии, являются дифференциальными. Сигнал таких детекторов пропорционален мгновенному изменению значения свойства газового потока, а его запись представляет собой набор пиков. Площадь каждого из пиков пропорциональна концентрации компонента смеси. Детекторы делятся на потоковые и концентрационные.

К хроматографическим детекторам предъявляются основные требования:

- высокая чувствительность к определяемым веществам;
- пропорциональное изменение величины сигнала детектора от концентрации определяемого вещества;
- достаточное быстрое действие, то есть мгновенная регистрация определяемых компонентов;
- наименьший рабочий объем детектора, что исключает дополнительное размывание пиков в детекторе.

### **Типы детекторов:**

1. Пламенно-ионизационный (ПИД) или детектор ионизации пламени (ДИП) — универсальный детектор, высокая чувствительность для анализа органических соединений. Дополнительно используются водород и воздух. ПИД — разрушающий пробу детектор, потоковый. Линейный диапазон свыше  $10^7$ .

2. Детектор по теплопроводности (ДТП) или каторометр — универсальный детектор. Измеряет разницу в теплопроводности между пробой и газом-носителем. ДТП — не разрушающий пробу, универсальный, концентрационный детектор. Линейный диапазон свыше  $10^5$ .

3. Масс-спектрометрический детектор (МСД) — универсальный детектор, обладает высокой чувствительностью. Идентификация веществ осуществляется по отношению массы ионов к заряду ( $m/z$ ). МСД — работает как универсальный детектор (режим ТИС), и как селективный (режим SIM). Линейный диапазон свыше  $10^6$ . Детектор МСД можно рассматривать отдельно. Это уникальный детектор, возможности которого сильно отличаются от других детекторов, применяемых в газовой хроматографии.

4. Термоионный детектор (ТИД). Работа ТИД основана на том, что при внесении в водородное пламя пламенно-ионизационного детектора паров соли щелочного металла степень ионизации фосфор- и азотсодержащих соединений повышается. ТИД — разрушающий пробу детектор, селективный, потоковый. Линейный диапазон около  $10^4$ .

5. Пламенно-фотометрический детектор (ПФД) — селективен к серо- и фосфорсодержащим соединениям. Принцип действия основан на регистрации фотонов определенной длины волны от возбужденных молекул серы (фосфора). ПФД — разрушающий пробу детектор, селективный, потоковый. Для стандартных веществ и условий тестирования линейный диапазон ПФД составляет свыше  $10^3$  для серосодержащих соединений и свыше  $10^4$  для фосфорсодержащих соединений.

6. Электроно-захватный детектор (ЭЗД) или детектор электронного захвата (ДЭЗ) — селективен к галогенорганическим соединениям. Принцип действия основан на электроноакцепторной активности анализируемых веществ. Для работы необходим азот. ДЭЗ — не разрушающий пробу детектор, селективный, концентрационный. Линейный диапазон свыше  $10^4$ .

## **ПРОБОПОДГОТОВКА В ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ «ЛЕТУЧИХ» ТОКСИКАНТОВ: АНАЛИЗ РАВНОВЕСНОЙ ПАРОГАЗОВОЙ ФАЗЫ, ТВЕРДОФАЗНАЯ МИКРОЭКСТРАКЦИЯ**

При анализе сложных биологических проб требуется предварительная пробоподготовка. Универсальная методика перегонки с водяным паром применяется в случае больших навесок биоматериала. Метод ГХ, благодаря

своей селективности и чувствительности, позволяет упростить и ускорить анализ. Основными вариантами пробоподготовки при определении летучих веществ в биологических объектах являются:

1. Анализ равновесной парогазовой фазы (ПГФ). Схема получения парогазовой фазы: пробу биожидкости, гомогенизата ткани или цельной ткани помещают в стеклянный флакон, прибавляют химический агент — безводный  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  для удаления паров воды, фосфорно-вольфрамовую или трихлоруксусную кислоту (осаждение белков). Затем флакон плотно закупоривают пробкой с фиксатором (повышение давления) и нагревают на водяной бане при температуре на 5–10 °С выше температуры кипения выделяемого вещества. После этого пробку прокалывают и отбирают пробу шприцем (1–2 см<sup>3</sup>) и вводят в испаритель хроматографа (рис. 14). Характеризуется универсальностью, экспрессностью и простотой пробоподготовки.



Рис. 14. Схема получения ПГФ

В этом методе в испаритель хроматографа не попадают жидкие или твердые пробы, которые при разложении и сорбции могут вызывать дополнительные пики. Исключается загрязнение колонки и системы ввода пробы при анализе биологических жидкостей (кровь, моча). Метод ПГФ осуществляется в двух вариантах (статический и динамический). Статический метод заключается в установлении равновесия в герметичном сосуде (рассмотрен выше). В динамическом варианте газ непрерывно пропускают через жидкость или твердый материал.

2. Твердофазная микроэкстракция. Этот вид пробоподготовки сравнительно недавно (середина 90-х гг.) стал использоваться в практике. Он заключается в адсорбции летучих компонентов раствора на сорбционном волокне, напыленном на штоке газохроматографического шприца. По химической структуре волокна чаще всего являются силиконами или полиэтиленгликолями. Данный вариант отличается от анализа равновесной ПГФ высокой степенью концентрирования целевых компонентов пробы, более высокой степенью очистки пробы. Однако для проведения этого варианта пробоподготовки требуется оборудование (газовый хроматограф) со специальным устройством для ввода пробы.

3. Динамическая газовая экстракция. Через пробу продувают газ-носитель, который «уносит» летучие компоненты из жидкой фазы. Эти компоненты концентрируются двумя методами: на сорбентах, а также при использовании устройства криогенной фокусировки — охлаждение зоны ввода пробы в колонку при температуре жидкого азота. Метод используется чаще всего при анализе микрокомпонентов при определении загрязнений питьевых и сточных вод.

### **МЕТИЛОВЫЙ СПИРТ, ЕГО СВОЙСТВА И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ.**

#### **РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ОТРАВЛЕНИЙ МЕТАНОЛОМ.**

#### **БИОТРАНСФОРМАЦИЯ МЕТАНОЛА. ОКАЗАНИЕ ПЕРВОЙ ПОМОЩИ**

Метанол ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) — бесцветная прозрачная жидкость, смешивается с водой и органическими растворителями, плотность — 0,796, температура кипения — 64,8–66 °С. Неочищенный метанол, полученный сухой перегонкой дерева, называют древесным спиртом. Метанол применяется как растворитель красок, лаков, а также в синтезе ряда соединений. Входит в качестве антиобледенителя в состав жидкостей для очистки стекол автомобилей. В организм метанол может поступать через кожу, рот и с вдыхаемым воздухом. Наибольшее количество накапливается в печени и почках, меньше — в мышцах и головном мозгу. Местное воздействие на слизистые оболочки сильнее, а наркотическое слабее, чем у этанола. Возникает поражение сетчатки глаза и зрительного нерва, нарушение окислительных процессов в клетках и расстройство кислотно-щелочного равновесия в клетках и тканях. Появление слепоты возникает при приеме 4–15 мл метанола, смертельная доза — 30–100 мл. Смерть наступает вследствие паралича дыхательного центра, отека головного мозга и легких, сосудистого коллапса и уремии.

Токсичность метанола уменьшается при одновременном поступлении метанола и этанола, так как этанол снижает скорость окисления метанола почти на 50 %. Поэтому с профилактической целью дают пить этанол (виски, водка). Отравления метанолом описываются с 1911 г. Значительное количество отравлений метанолом было в период войн 1914–1918 гг. и 1941–1945 гг. Основным метаболитом метанола является *формальдегид* (*летальный синтез*), который окисляется до муравьиной кислоты, которая частично разрушается до диоксида углерода и воды:



С мочой выделяется наибольшее количество метанола, не подвергшегося метаболизму, а также глюкуронид метанола. Частично неизменный метанол выделяется с выдыхаемым воздухом. Метанол в организме окисляется

медленнее, чем этанол. В организме (в норме) содержится 0,01–0,3 мг % метанола и около 0,4 мг % муравьиной (метановой) кислоты.

Обнаружение метанола. Окисляют до формальдегида (перманганатом калия) и проводят обнаружение формальдегида. Обнаружение формальдегида проводят при помощи хромотроповой, фуксинсернистой кислот и резорцина. Специфична реакция с хромотроповой кислотой, ее не дают этиловый, пропиловый, бутиловый, амиловый и изоамиловый спирты. Также обнаруживают по реакции образования метилсалицилата (характерный запах). Этой реакции мешает этанол.

#### **Количественное определение:**

1. Метод газовой хроматографии.

2. Фотометрический метод: окисляют до формальдегида, который с фуксинсернистой кислотой образует окрашенное соединение.

Неотложная первая помощь больному при отравлении метанолом состоит в максимально быстром выведении яда из организма и противодействии его метаболизму. Возможный перечень средств применения: массивное промывание желудка, лучше через зонд; обильное питье; применение солевого слабительного средства; прием этилового спирта в качестве противоядия (0,5 мл на 1 кг веса); прием щелочных растворов (питье и внутривенное введение гидрокарбоната натрия).

Этиловый и метиловый спирты в процессе метаболизма задействуют одинаковые ферменты и рецепторы. Поскольку продукты распада этилового спирта имеют низкую токсичность в сравнении с метанолом, обосновано его применение в качестве антидота.

### **Этиловый спирт, его свойства и токсикологическое значение.**

#### **МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЭТАНОЛА НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА.**

#### **ОСТРАЯ И ХРОНИЧЕСКАЯ АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ**

Этанол ( $C_2H_5OH$ ) — бесцветная жидкость с характерным запахом, плотность 0,813–0,816, температура кипения 77–77,5 °С. Смешивается с водой, эфиром и другими органическими растворителями.

Этанол может поступать в организм при приеме внутрь, при вдыхании паров. В последние годы острые отравления этанолом занимают первое место (около 60 %) среди отравлений токсическими веществами. К тому же поступление в организм значительных количеств этанола может привести к скоростигшной смерти при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Этанол — вещество, сочетающее в себе свойства естественного метаболита (в малых концентрациях), токсичного ксенобиотика и алиментарного фактора, который способен существенно изменять эффективность лекарственной терапии. В клинической картине острого отравления этанолом выделяют

наиболее характерные симптомы. В токсикогенной фазе это коматозное состояние и другие неврологические расстройства, нарушения дыхания, функций сердечно-сосудистой системы. Соматогенная фаза характеризуется психоневрологическими расстройствами, воспалительными поражениями органов дыхания и др.

В обычных условиях около 20 % принятого этанола всасывается в желудке, остальные 80 % — в тонком кишечнике. Малоконцентрированные спиртные напитки (до 30 % этанола) всасываются быстрее, замедляют всасывание этанола. Максимум концентрации в крови достигается через 45–90 мин. До 90 % окисляется в печени с участием трех ферментов: алкогольдегидрогеназы (АДГ), каталазы и СУР2Е1. Окисление происходит до ацетальдегида и затем до уксусной кислоты, которая окисляется до углекислоты и воды. Около 10 % этанола выделяется в неизменном виде через легкие и почки.

Для обозначения совокупности патологических изменений, возникающих при длительном и неумеренном приеме введено понятие «хронический алкоголизм». При нем снижается уровень антиоксидантов и повышается риск возникновения инсультов. Лечение занимаются наркологи.

Он обладает выраженной органотропностью: в мозгу его концентрация превосходит содержание в крови. Даже низкие дозы алкоголя запускают активность ингибиторных ГАМК-систем головного мозга. Генетические вариации рецепторов ГАМК могут влиять на склонность к алкоголизму. Причины похмельного синдрома после употребления значительных количеств алкоголя все еще уточняются, но предполагается, что это прежде всего связано с обезвоживанием организма, накоплением ацетальдегида, изменениями иммунной системы и метаболизма глюкозы.

Предельно допустимая концентрация этанола в крови при управлении транспортным средством в Республике Беларусь считают 0,3 ‰. По данным ВОЗ, высшая смертельная концентрация 6–7 ‰. В настоящее время наблюдаются случаи комбинированного отравления (этанол, пропанол, бутанол, этиленгликоль и пр.). По статистическим данным Республики Беларусь отравления этиловым спиртом на протяжении длительного периода занимают ведущее место среди *бытовых отравлений* по абсолютному числу летальных исходов.

Суррогаты алкоголя делят на 2 группы:

1. Препараты, приготовленные на основе этанола, и содержащие различные примеси (истинные суррогаты).

2. Препараты, не содержащие этанола и представляющие собой одноатомные или многоатомные спирты, хлорированные углеводороды (ложные суррогаты). Их опасность значительно выше.

## **ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ПРАВИЛА ОТБОРА ПРОБЫ У ЖИВЫХ ЛИЦ И ТРУПНОГО МАТЕРИАЛА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ЭТАНОЛА**

Наиболее важными объектами для СХЭ служат кровь и моча, реже ткани мозга, легких, печени, почек, редко — глубокие мышцы бедра. Желудок не может быть взят в качестве объекта исследования, так как возможно образование спирта естественным путем при брожении углеводов или при гнилостных процессах его содержимого. Содержание эндогенного алкоголя в крови может быть в пределах 0,008–0,04 ‰.

Длительность нахождения (и обнаружения) алкоголя в организме человека обусловлена в основном количеством выпитого алкоголя и может быть определена с учетом скорости окисления, которая составляет 7–10 г алкоголя в час. Если в 100 мл водки содержится 40 мл алкоголя, тогда алкоголь может определяться в выдыхаемом воздухе, слюне и крови в течение 4–5 ч с момента употребления этой дозы напитка. В моче алкоголь может быть определен и позднее, так как в составе мочи этанол находится в мочевом пузыре долгое время до опорожнения пузыря.

При диагностике состояния алкогольного опьянения в наркологической практике объектами служат выдыхаемый воздух, слюна, кровь, моча.

Правила забора органов и прочего трупного материала:

При отборе жидких биосред у живых лиц также необходимо соблюдать требования:

Моча отбирается в сухой стерильный флакон «под пробку». Флакон тотчас же закрывают пробкой. Отбор пробы мочи должен производиться в условиях, исключающих подмену или замену ее другими жидкостями.

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

Перед отбором пробы крови в сухой стерильный флакон из-под пенициллина закапывают 1–2 капли гепарина и встряхиванием флакона смачивают стенки. 5 мл отбирается пункцией кубитальной вены при строгом соблюдении асептических условий. Флакон тотчас же закрывают стандартной резиновой пробкой, фиксируют пробку и содержимое флакона перемешивают. Кожа в месте пункции предварительно обрабатывается растворами, не содержащими этиловый спирт: 3%-ная перекись водорода, раствор фурацилина (0,2 мг/мл). Дезинфекция кожи эфиром, настойкой йода не допускается.

При отсутствии биологических жидкостей для судебно-химического исследования на наличие этанола отбирается мышечная ткань (гладкой мускулатуры) 15–20 г.

У всех флаконов с отобранными пробами фиксируют пробки, обеспечивающие герметизацию флакона, опечатывают и ставят их в холодильник. На каждый флакон наклеивается этикетка с указанием номера пробы

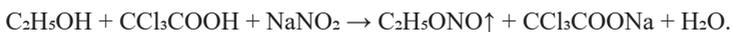
(по регистрационной книге), даты, времени забора пробы, фамилии освидетельствуемого, фамилии медицинского работника, подготовившего пробу.

Биосреды должны исследоваться не позднее 5 сут с момента их отбора. Допускается их хранение в холодильнике при температуре  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 5 сут.

### **ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛИФАТИЧЕСКИХ СПИРТОВ. ОСНОВЫ АЛКИЛНИТРИТНОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПИРТОВ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ**

Из современных экспресс-методов определения этанола метод ГЖХ наиболее точен, специфичен и чувствителен. Для анализа достаточно 1–2 мл крови, мочи, слюны. Сущность метода заключается в переводе данных веществ в алкилнитриты (более летучие соединения), которые затем разделяются на хроматографической колонке. В качестве эталонного вещества применяют 95%-ный этиловый спирт.

**Алкилнитритный метод:** объекты исследования — кровь, моча (этанола больше там, где больше воды). Кровь берут из бедренной и плечевой вен во флаконы, закрывают резиновой пробкой, обвязывают белой бумагой, опечатывают, хранят в холодильнике ( $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Перед введением в дозатор газового хроматографа этот спирт переводят в более летучее, чем этиловый спирт (точка кипения  $78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), соединение — этилнитрит (точка кипения  $17\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Для этого к этиловому спирту прибавляют *нитрит натрия* или *калия* и *трихлоруксусную кислоту*:



Образовавшийся этилнитрит, который находится в газообразном состоянии над жидкостью, вводят в газовый хроматограф и производят хроматографирование.

Для количественного определения этилового спирта в крови и моче применяют метод внутреннего стандарта как один из методов газожидкостной хроматографии. Согласно этому методу, к крови или моче, в которых определяют количественное содержание этилового спирта, прибавляют внутренний стандарт. В качестве внутреннего стандарта применяют пропиловый спирт.

Содержащийся в крови или моче этиловый спирт (точка кипения  $78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), а также пропиловый спирт (точка кипения  $97,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), прибавленный в качестве внутреннего стандарта, переводят в более летучие соединения (в этилнитрит с точкой кипения  $17\text{ }^{\circ}\text{C}$  и пропилнитрит с точкой кипения  $46\text{--}48\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Смесь этилнитрита и пропилнитрита вводят в дозатор хроматографа и проводят хроматографирование.

При этом на хроматограмме выписывается два пика, один из которых соответствует этиловому спирту (этилнитриту), а второй — пропиловому спирту (пропилнитриту) (рис. 15). При ГЖХ-определении алкилнитриты выходят в порядке увеличения молекулярных масс независимо от полярности неподвижных жидких фаз. Если используются полярные жидкие фазы, то время удерживания увеличивается по сравнению с неполярными жидкими фазами. Затем рассчитывают отношение площади или высоты пика этилового спирта (этилнитрита) к площади или высоте пика внутреннего стандарта — пропилового спирта (пропилнитрита).

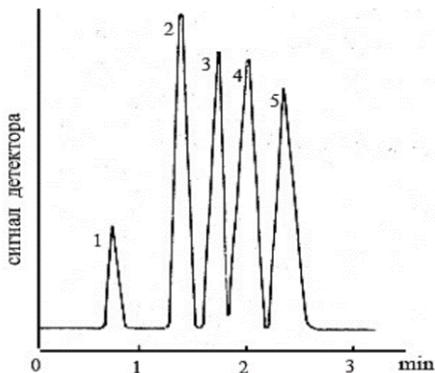


Рис. 15. Хроматограмма смеси алкилнитритов:  
1 — оксиды азота; 2 — метилнитрит; 3 — этилнитрит; 4 — изопропилнитрит;  
5 — пропилнитрит

Расчет количественного содержания этилового спирта в крови или в моче производится по калибровочному графику методом абсолютной калибровки с внутренним стандартом.

### **Оксид углерода (II), его свойства и токсикологическое значение. Классификация отравлений оксидом углерода (II) по степени тяжести. Судебно-медицинская оценка результатов количественного определения карбоксигемоглобина в крови**

Оксид углерода (II) представляет собой газ без цвета и запаха. Смесь оксида углерода (II) с воздухом может быть взрывоопасной. При комнатной температуре взрывоопасны смеси, содержащие от 16 до 73 % оксида углерода (II).

СО образуется при неполном сгорании углеводородов, дерева, каменного угля и многих других горючих материалов. Угарный газ содержится в выхлопных газах автомобилей, в газах, образующихся при неполном сгорании

горючих материалов в неисправных печах, на кухнях и т. д. В больших количествах образуется при пожарах, взрывах. Отмечены случаи отравлений оксидом углерода (II) в плохо вентилируемых жилых помещениях с печным отоплением, на пожарах и т. д.

Отравления СО делятся на профессиональные и бытовые. Основными причинами отравлений монооксидом углерода могут быть:

- 1) угарный газ, содержащийся в выхлопных газах автотранспорта;
- 2) угарный газ в помещениях с неисправным печным отоплением;
- 3) угарный газ, образующийся при пожарах (закрытые комнаты, вагоны, лифты и т. д.).

Острые отравления угарным газом по числу летальных исходов составляют 17 % от общего числа смертельных отравлений.

Оксид углерода (II) проникает в кровь через дыхательные пути, а затем с гемоглобином крови образует довольно прочное соединение — карбоксигемоглобин (СОHb). Сродство оксида углерода (II) к гемоглобину в 300 раз больше, чем сродство кислорода к указанному оксиду. Выводится СО в основном через дыхательные пути: за 1 ч — на 60 %, за 4 ч — на 94–96 %.

В крови лиц, отравленных оксидом углерода (II), содержится гемоглобин и его соединения, к числу которых относятся: гемоглобин, не связанный с кислородом и оксидом углерода (II), или так называемый дезоксигемоглобин (Hb), оксигемоглобин (OHb) — гемоглобин, связанный с кислородом, и карбоксигемоглобин (СОHb) — гемоглобин, связанный с оксидом углерода (II). Кроме того, в крови может содержаться некоторое количество метгемоглобина (MtHb). При отравлениях метгемоглобин не связывается с оксидом углерода (II).

В тканях мышц людей, отравленных оксидом углерода (II), содержится дезоксимиоглобин (MHb), оксимиоглобин (OMHb) и карбоксимиоглобин (СОMHb).

Различают *три степени отравлений* монооксидом углерода:

1. При легкой степени отравления у пострадавших не отмечается потери сознания, клиника «кольцевой» головной боли, тошнота, рвота, сердцебиение. Кожа и слизистые оболочки розовые вследствие накопления карбоксигемоглобина в крови. Наблюдаются тахикардия и тахипноэ. Карбоксигемоглобин в крови составляет 20–30 %.

2. Средняя степень отравления характеризуется кратковременной потерей сознания с последующим возбуждением, зрительными или слуховыми галлюцинациями или оглушением, адинамией, артериальной гипертензией, тахикардией. Могут наблюдаться кардиотоксические явления (аритмия, ишемия миокарда и т. п.). Часто возникают трофические изменения кожи (пигментация с предшествующей эритемой или буллезные образования, которые наполнены трансудатом, расположены по типу гемипоражения). Со стороны

дыхательной системы — трахеобронхит, редко — отек легких на фоне токсической пневмонии.

3. Для тяжелой степени отравления характерно коматозное состояние с тризмом, значительной ригидностью мышц туловища и конечностей, тоническими судорогами, патологическими рефлексам, нарушением внешнего дыхания с возможным развитием синдрома Мендельсона, токсической кардиомиопатией, ишемией миокарда, трофическими нарушениями кожи. Концентрация СОНв в крови 50 % и выше.

Кома более 48 ч является плохим прогностическим признаком. Летальный исход наступает вследствие паралича дыхательного центра и прогрессирующих сердечно-сосудистых нарушений. Смертельная концентрация СОНв в крови в среднем 60 %, но может колебаться от 40 до 80 %. Выход из коматозного состояния сопровождается периодом двигательного возбуждения, агрессивностью, последующим апалическим синдромом. Иногда после выхода из комы развиваются психотические нарушения, повторяющиеся на протяжении нескольких лет после интоксикации.

Клиника хронической интоксикации включает астенический, вестибулярный, амиостатический синдромы. СО фиксируется в печени, почках, до 25 % в миокарде и скелетных мышцах. При смертельных отравлениях оксидом углерода кровь на исследование следует брать из синусов мозговых оболочек, сосудов бедра и плеча. Карбоксигемоглобин сохраняется в крови даже разложившихся трупов, однако его количество в этих случаях не соответствует содержанию карбоксигемоглобина в момент смерти.

Концентрация СО в воздухе выше 0,4 % вызывает смерть. При очень высоких концентрациях оксида углерода в окружающей среде (выше 1 %) наблюдается молниеносная форма отравления, заканчивающаяся быстрой смертью, иногда после пары вдохов.

Обнаружение СО в крови проводят непосредственно, без предварительного изолирования. При этом проводится количественная оценка его содержания, являющаяся доказательством отравления оксидом углерода (II). Для обнаружения и количественного определения карбоксигемоглобина используются: спектроскопические, спектрофотометрические, фотоколориметрические, газохроматографические, химические и другие методы. Спектрофотометрические и газохроматографические методы применяются главным образом для количественного определения карбоксигемоглобина в крови.

Судебно-медицинская оценка результатов. Наиболее надежным диагностическим признаком отравления СО являются результаты СХЭ. Физиологическая норма содержания СОНв в крови — 1,5–3 %, верхняя граница нормы — 10 %.

Оценка результатов:

– 10–20 % — легкая головная боль, расширение кожных кровеносных сосудов;

– 20–30 % — головная боль, ощущение пульса в висках;

- 30–40 % — сильная головная боль, слабость, головокружение, туман перед глазами, тошнота, рвота;
- 40–50 % — вышеуказанные симптомы, учащение дыхания и пульса;
- 50–60 % — учащение дыхания, пульса, судороги, может наступить смерть;
- 60–70 % — вышеуказанные симптомы, ослабление дыхания и сердечной деятельности;
- 70–80 % — слабый пульс, замедление дыхания, остановка дыхания и смерть.

Такое соответствие между концентрацией НbСО и тяжестью отравления имеется не всегда. Эти данные приблизительны. Тяжесть отравления зависит от внешних условий (давление, влажность воздуха, температура) и особенностей организма (возраст, пол). Тяжесть отравления усиливается при низком барометрическом давлении, повышенной влажности воздуха, высокой или низкой температуре воздуха, при усиленной мышечной работе. Острое отравление проходит тяжелее у лиц, страдающих заболеваниями сердца, легких, с нарушениями кровообращения, перенесших черепно-мозговую травму, во время инфекционных заболеваний. Известны атипичные формы отравления, протекающие с быстрой потерей сознания и тяжелыми расстройствами дыхания и сердечной деятельности.

## **ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, НАРКОТИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА**

Отравления лекарственными и наркотическими средствами, психотропными веществами в настоящее время занимают ведущее место среди бытовых интоксикаций химической этиологии в большинстве стран. Причины отравлений связаны с использованием ЛС для самолечения и с суицидальной целью. Наибольшее число отравлений вызывают различные ЛС психотропного действия. В ряде случаев наблюдаются «смешанные» отравления вследствие приема сразу нескольких ЛС психотропного действия. Одновременное или последовательное применение нескольких ЛС (полипрагмазия) может привести к изменению эффекта ЛС и усилить токсичность. Широко распространены комбинированные ЛС, содержащие барбитураты и кофеин, эфедрин, кодеин, теofilлин и др. Номенклатура этих веществ постоянно расширяется в связи с синтезом новых биологически активных веществ.

Химико-токсикологический и судебно-химический анализ состоит из следующих стадий: отбор пробы, подготовка и переводение ее в форму, удобную для анализа; разделение, обнаружение, подтверждение и количественное определение; обработка результатов и их интерпретация; оформление и выдача заключения.

## КЛАССИФИКАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

К группе веществ, изолируемых из биологического материала экстракцией и сорбцией (их еще называют «нелетучие» яды), относятся соединения кислотного, нейтрального и основного характера, различные по химическому строению.

Задача специалиста в процессе ХТА или СХИ — извлечь (выделить) лекарственные средства и их метаболиты из биологического материала, в связи с этим условно принята классификация лекарственных веществ:

1. Вещества *кислотного* характера (барбитураты, вольпроаты, салициловая кислота и др.).

2. Вещества *слабоосновного* характера (производные пирасола, пурина, 1,4-бензодиазепина и др.).

3. Вещества *основного* характера: 2 подгруппы (алкалоиды и синтетические вещества основного характера).

4. *Амфолиты* (морфин, теобромин, теофиллин, нитразепам и др.).

Изолирование ЛС из биоматериала проводится как общими, так и частными методами. Частные методы применяются при направленном анализе, то есть когда требуется провести исследование на определенную группу веществ или указано конкретное вещество.

Общие методы, применяемые при общем анализе, делят на 2 группы: методы изолирования подкисленным спиртом (метод Стаса–Отто) и методы изолирования подкисленной водой (методы Драгендорфа, Швайковой–Васильевой, Крамаренко и др.).

Таким образом, в зависимости от рН раствора вещества кислотного и основного характера могут находиться в растворе в молекулярной или ионной формах.

Степень ионизации вещества всегда приходится учитывать при изолировании ядов из биологического материала, так как растворимость ионизированных и неионизированных форм различна в воде и органических растворителях. Ионизированные формы, которым соответствуют соли кислот и оснований, как правило, хорошо растворимы в воде и ограниченно растворимы в неполярных органических растворителях (хлороформ и эфир). Неионизированные (молекулярные) формы, которым соответствуют свободная кислота и основание, наоборот, хорошо растворимы в неполярных растворителях и ограниченно растворимы в воде.

Пользуясь различной растворимостью ионизированных и молекулярных форм «нелетучих» ядов в воде и органических растворителях легко сформулировать принцип их изолирования из биологического материала.

Изолирование «нелетучих» ядов из биологического материала основано на различной растворимости их ионизированной и молекулярной форм в воде и органических растворителях и на коэффициенте распределения молекулярной формы между водной и органической фазами:

$$K_p = \frac{C_o}{C_B},$$

где  $K_p$  — коэффициент распределения молекулярной формы;  $C_o$  и  $C_B$  — концентрации вещества в водной и органической фазах соответственно.

Очевидно, что чем больше  $K_p$ , тем эффективнее идет экстракция.

Для того, чтобы полностью перевести вещество в ионизированное состояние, необходимо создать  $pH = pK_a + 2$  — для кислот и  $pH = pK_a - 2$  — для оснований. Отсюда очевидно, что для перевода кислот в ионизированное состояние (то есть в их соли) нужна щелочная реакция среды. Для оснований же требуется кислая реакция среды.

Кислая реакция среды ( $pH = 2$ ) приводит, кроме того, к разрушению комплексов алкалоидов с белками, в виде которых они находятся в биологическом материале, что увеличивает выход алкалоидов. Влияние  $pH$  на эффективность изолирования «нелетучих» ядов особенно выражено при использовании в качестве экстрагента воды, так как этанол в большинстве случаев является хорошим растворителем и для ионизированной, и для молекулярной форм кислот и оснований.

Изолирование экзотенных веществ при общем анализе из твердых биологических объектов состоит из 3-х стадий: 1 — извлечение вещества полярным растворителем (спирт, ацетон, вода и др.), то есть твердо-жидкостная экстракция; 2 — жидкость-жидкостная экстракция веществ кислотного характера из кислого раствора; 3 — жидкость-жидкостная экстракция веществ основного характера из щелочной среды. Стадии 2–3 можно заменить твердо-фазной экстракцией (выделение веществ кислого и основного характера).

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХРОМАТОГРАФИИ В ТОНКОМ СЛОЕ СОРБЕНТА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ. СУЩНОСТЬ МЕТОДА, ТЕХНИКА ВЫПОЛНЕНИЯ**

В планарной хроматографии процессы разделения веществ осуществляются в плоском слое сорбента. Планарная или плоскостная хроматография относится к жидкостной хроматографии, так как подвижной фазой является жидкость. Основные методы плоскостной хроматографии:

- тонкослойная хроматография;
- хроматография на бумаге.

Тонкослойная хроматография является одним из наиболее простых и эффективных экспресс-методов разделения и анализа, не требующим сложного оборудования. Доступность и относительная дешевизна используемых реактивов и оборудования в сочетании с высокой чувствительностью позволяет широко использовать методы планарной хроматографии для решения различных аналитических задач.

ТСХ используют как для обнаружения, так и для количественного определения органических и неорганических веществ в сложных объектах. Анализ методом ТСХ состоит из нескольких стадий:

- 1) подготовка пробы;
- 2) подготовка пластины;
- 3) подготовка хроматографической камеры;
- 4) нанесение пробы;
- 5) хроматографическое разделение пробы;
- 6) удаление элюента с пластины;
- 7) детектирование;
- 8) идентификация;
- 9) количественное определение.

Разделение веществ методом ТСХ протекает по смешанным механизмам: распределительная хроматография может сопровождаться адсорбционной и наоборот. В основе адсорбционной ТСХ лежит конкурентное взаимодействие полярных групп определяемого вещества и молекул растворителя с активными центрами адсорбента. Для элюирования неполярных веществ применяют неполярные элюенты, так как в этом случае неполярные вещества элюируются раньше, чем полярные. Увеличение концентрации полярного компонента увеличивает подвижность ( $R_f$ ). На рис. 16 представлена техника выполнения и получение результатов хроматографии в тонком слое.

Количественное определение в ТСХ может быть проведено прямо на пластине (при нанесении различных концентраций искомого вещества в виде стандартов (метчиков) и сравнения интенсивности окрашивания) или после удаления (путем выскабливания с пластины) чистого вещества, затем дальнейшего растворения и идентификации, например, спектрофотометрическим методом, по заранее построенному графику методом абсолютной градуировки (рис. 17). Более точен денситометрический метод определения веществ на хроматограммах при котором проводится определение оптического поглощения сканирующим лучом денситометра в проходящем или отраженном свете.

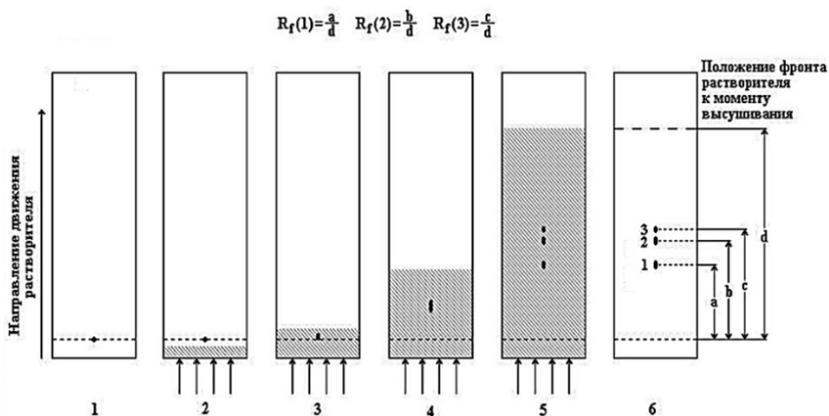


Рис. 16. Схема нанесения образца и проявления в случае исследования трех компонентов: 1 — нанесение образца (на расстоянии 1 см от края пластины); 2 — погружение в подвижную фазу (растворитель или смеси растворителей); 3 — движение фронта подвижной фазы; 4 — начало разделения; 5 — продолжение разделения; 6 — высушивание пластины. Затем обработка реагентами (проявление хроматограммы)

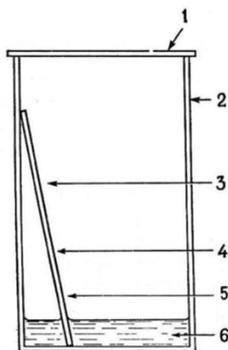


Рис. 17. Типичная камера для проявления хроматографической пластины с тонким слоем: 1 — крышка; 2 — стеклянная камера; 3 — пластинка ТСХ; 4 — сорбент; 5 — место нанесения пробы; 6 — растворитель

### АЛКАЛОИДЫ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Алкалоиды — это вторичные растительные метаболиты, которые содержат в структуре молекулы один или более атомов азота, обладают свойствами оснований и проявляют высокую фармакологическую активность.

Алкалоиды проявляют свойства аминов, поэтому существуют в двух формах: в форме солей и в форме оснований. Встречаются первичные амины (мескалин), вторичные амины (эфедрин), третичные амины (атропин) и производные четвертичных аммониевых оснований. Группа третичных аминов наиболее многочисленна.

Токсикологическое значение алкалоидов очень велико и связано со следующими факторами:

1. Алкалоиды обладают высокой токсичностью, но в то же время широко применяются в медицинской практике в качестве ЛС.

2. Некоторые алкалоиды применяются в сельском хозяйстве в качестве инсектицидов (никотин, анабазин). Их токсичность и доступность может также привести к отравлениям.

3. Распространение алкалоидсодержащих растений (многие из них растут как сорняки), их доступность приводят к тому, что при поедании частей растений, содержащих алкалоиды, детьми или домашними животными наблюдаются отравления различной степени тяжести, нередко со смертельным исходом. Известны отравления цикутой, аконитом, ягодами белладонны, плодами белены, дурмана, паслена сладко-горького, болиголова и других алкалоидсодержащих растений.

Одной из общепринятых классификаций алкалоидов является классификация по химическому строению. Токсикологический интерес приобрели следующие группы алкалоидов:

1. Производные пиридина и пиперидина (никотин, анабазин).
2. Производные тропана (атропин, кокаин, скополамин).
3. Производные хинолина (хинин), изохинолина (папаверин).
4. Производные фенантренизохинолина (морфин, кодеин, тебаин).
5. Производные индола (стрихнин, бруцин).
6. Производные ксантина (кофеин, теofilлин, теобромин).
7. Ациклические алкалоиды (эфедрин).

С целью идентификации выделенных алкалоидов могут быть использованы как химические, так и физико-химические методы анализа.

**План судебно-химического исследования на наличие алкалоидов** включает следующие этапы:

I. Анализ начинают с общеалкалоидных осадительных реакций в качестве предварительных групповых проб.

II. Затем проводят ХТС-скрининг — предварительный, но более специфичный тест, основанный на индивидуальных величинах  $R_f$  для различных алкалоидов.

III. Далее выполняют частные реакции на отдельные алкалоиды — реакции окрашивания и микрокристаллические реакции.

IV. Изучают спектральные характеристики алкалоидов в УФ- и ИК-областях спектра.

Рассмотрим подробнее каждый этап.

### **I. Исследование с общеалкалоидными осадительными реактивами**

проводится в качестве предварительных испытаний на наличие алкалоидов. Применение этих реактивов основано на свойстве алкалоидов давать даже в разбавленных растворах простые или комплексные соли с некоторыми кислотами, солями тяжелых металлов, комплексными иодидами и рядом других соединений. Чувствительность реактивов неодинакова по отношению к различным алкалоидам.

Общеалкалоидные осадительные реактивы делят на 2 большие группы:

1. Реактивы, дающие с алкалоидами простые соли (раствор танина, пикриновая, пикролоновая и некоторые другие органические кислоты).

2. Реактивы, дающие с алкалоидами комплексные соединения, которые делятся на 2 подгруппы:

а) реактивы, содержащие в своем составе металлоиды:

– I<sub>2</sub>/KI — реактив Бушарда-Вагнера;

– H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> · 12MoO<sub>3</sub> — фосфорномолибденовая кислота (реактив Зоннenschейна);

– H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> · 12WO<sub>3</sub> · 2H<sub>2</sub>O — фосфорновольфрамовая кислота (реактив Шейблера);

б) реактивы, содержащие в своем составе металлы:

– BI<sub>3</sub>/KI — реактив Драгендорфа (K[BiI<sub>4</sub>]);

– CdI<sub>2</sub>/KI — реактив Марме (K<sub>2</sub>[CdI<sub>4</sub>]);

– HgI<sub>2</sub>/KI — реактив Несслера (K<sub>2</sub>[HgI<sub>4</sub>]);

– H<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>] — платинохлористоводородная кислота;

– H[AuCl<sub>4</sub>] — золотохлористоводородная кислота.

Все общеалкалоидные осадительные реактивы не являются специфичными для алкалоидов. Кроме алкалоидов, осадки с указанными реактивами дают другие вещества, содержащие гетероатом азота (третичный). Это могут быть синтетические лекарственные вещества, белки и продукты их распада, аминокислоты и многие другие соединения. Общеалкалоидным осадительным реакциям придается только отрицательное судебно-химическое значение, это значит, что отрицательный результат реакций дает основание исключить их из дальнейшего хода исследования. Положительный результат (образование осадка) свидетельствует о присутствии в исследуемом объекте алкалоидов либо других азотсодержащих веществ основного характера и требует проведения подтверждающих исследований.

**II. ТСХ-скрининг алкалоидов** более специфичен. Хроматографирование проводится в закрепленном тонком слое сорбента — силикагеля. В качестве подвижной фазы используются системы растворителей:

– диоксан – хлороформ – ацетон – 25%-ный раствор аммиака (47,5 : 45 : 5 : 2,5);

- толуол – ацетон – этанол – 25%-ный раствор аммиака (45 : 45 : 7,5 : 2,5);
- ацетон – хлороформ – 25%-ный раствор аммиака (24 : 12 : 1).

Пробег растворителей составляет 10 см. Детектирование алкалоидов и синтетических ЛС основного характера на хроматограмме проводится реактивом Драгендорфа. В зонах расположения веществ появляются красно-оранжевые пятна. Чувствительность обнаружения составляет десятые доли микрограмма. Необходимость использования метчиков связана с колебаниями значений  $R_f$  ввиду трудностей соблюдения абсолютно стандартных условий хроматографического разделения. ХТС-скринингу придается отрицательное судебно-химическое значение. Совпадение величины  $R_f$  испытуемого вещества с величиной  $R_f$  метчика дает возможность сделать предварительное заключение об их идентичности. Последующее подтверждение присутствия алкалоида проводится более специфичными реакциями и методами.

III. В качестве подтверждающих реакций после хроматографического исследования используют **реакции окрашивания и микрокристаллические реакции.**

*Реакции окрашивания* основаны на следующих процессах:

а) отнятие воды (дегидратация) под действием концентрированной серной кислоты (вератрин, бруцин и др.);

б) окисление алкалоидов (кофеин — мурексидная проба, хинин — таллейохинная проба);

в) одновременное окисление и отнятие воды (реакция с калия дихроматом в присутствии концентрированной кислоты серной — на стрихнин);

г) конденсация с альдегидами (реактив Марки с опийными алкалоидами).

Чаще всего для реакций окрашивания используются: концентрированные азотная и серная кислоты или их смесь, формалинсерная кислота (реактив Марки), раствор молибдата аммония в концентрированной серной кислоте (реактив Фреде), раствор ванадиевой кислоты (ванадата аммония) в концентрированной серной кислоте (реактив Манделина).

Реакции окрашивания выполняются с основаниями алкалоидов. Соответствующий реактив наносится на сухой остаток после испарения хлороформного извлечения. Реакции окрашивания могут быть специфичными для некоторых алкалоидов (бруцин, вератрин) или могут давать возможность обнаружения группы алкалоидов. Например, реактив Марки является групповым реагентом на опийные алкалоиды. Чувствительность реакций окрашивания составляет от нескольких мкг до сотых долей микрограмма.

*Микрокристаллические реакции* являются очень ценными для доказательства алкалоидов в судебно-химическом анализе. Они основаны на способности алкалоидов образовывать кристаллы характерной формы при взаимодействии с некоторыми кислотами (пикриновой, пикролоновой, платино- и золотохлористоводородной —  $H_2[PtCl_4]$ ,  $H[AuCl_4]$ ), солями

тяжелых металлов и комплексными йодидами. Являясь ценным методом доказательства алкалоидов, микрокристаллические реакции в то же время не лишены недостатков: при исследовании биологического материала присутствие соэкстрактивных веществ приводит к появлению кристаллов нехарактерной формы, нарушаются кристаллооптические константы, отмечается полиморфизм (присутствие одновременно кристаллов различных форм), поэтому требуется высокая степень чистоты выделенных веществ.

**IV. УФ- и ИК-спектроскопия** является одним из наиболее важных способов идентификации алкалоидов. Для доказательства алкалоидов, выделенных из биологического материала, чаще используют УФ-спектроскопию как наиболее чувствительный метод. Гетероциклы, лежащие в основе строения отдельных групп алкалоидов, часто имеют характерные максимумы поглощения в УФ-свете. Так, производные пиридина имеют максимум при длине волны 260 нм, хинолина (изохинолина) — при 250, 290, 310 нм, индола — 260 (255) и 300 нм, пурина — 220, 260, 270 нм.

Спектральные методы анализа требуют высокой степени чистоты выделенных веществ и сочетаются с предварительной очисткой.

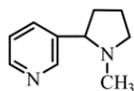
Количественное определение алкалоидов проводится фотометрическим и спектрофотометрическими методами (в видимой и УФ-областях спектра).

### **Химико-токсикологический анализ производных пиридина и пиперидина (никотин, анабазин), тропана (атропин, кокаин).**

#### **Токсичность, изолирование, обнаружение и количественное определение**

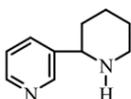
**Алкалоиды, производные пиридина и пиперидина.** Из производных пиридина и пиперидина токсикологическое значение имеют никотин, анабазин, конинин, представляющие собой бесцветные маслянистые жидкости, быстро темнеющие на воздухе (рис. 18).

Конинин содержится в болиголове пятнистом. Анабазин — в ежовнике безлистном, никотин — в различных видах табака. Анабазин входит в состав ЛС (таблетки), облегчающих отвыкание от курения.



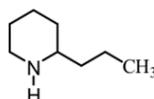
**Никотин**

Хабитрол, никабат, никола  
никотранс, 3-[(2S)-1-метил  
2-пирролидинил]пиридин



**Анабазин**

2-(3-пиридил)пиперидин



**Конинин**

Конин, цикутин, (2S)-2-  
пропилпиперидин

Рис. 18. Производные пиридина и пиперидина

Никотин неограниченно смешивается с водой, относится к слабым основаниям. Анабазин и конииин также растворимы в воде. Производные пиридина и пиперидина могут перегоняться с водяным паром из щелочных растворов, экстрагируются хлороформом из кислых и щелочных растворов, однако большие количества этих алкалоидов экстрагируются из щелочных растворов.

Кониин, никотин и анабазин в малых дозах возбуждают ЦНС, усиливают дыхание, повышают АД. При увеличении дозы происходит паралич нервной системы и дыхательной мускулатуры. Кониин более токсичен, чем анабазин, поэтому в медицине не применяется. Никотин применяется в сельском хозяйстве в качестве контактных инсектофунгицидов, входит в состав ЛС «Никоретто» для лечения никотиновой зависимости.

Поступление алкалоидов, производных пиридина и пиперидина, в организм может происходить через ЖКТ, легкие и неповрежденную кожу. При курении около 90–98 % никотина попадает в легкие, а затем — в кровь. Выведение производных пиридина и пиперидина осуществляется в виде метаболитов с мочой, калом, легкими, потовыми и слюнными железами.

Метаболизм никотина происходит путем метилирования, N-деметилирования и окисления. В результате метаболизма образуются норникотин, N-метилникотин и котинин. Продукты окисления никотина с глюкуроновой кислотой образуют конъюгаты.

*Изолирование производных пиридина и пиперидина* осуществляется методом перегонки с водяным паром, при этом биоматериал подщелачивают 20%-ным раствором карбоната натрия, а дистиллят собирают в 5%-ный раствор хлороводородной кислоты. Собирают 50–75 мл дистиллята, в котором обнаруживаются малые количества веществ. Выделение этих алкалоидов из биологического материала производят также водой, подкисленной серной кислотой. Полученную вытяжку подщелачивают (рН 8–10) и взбалтывают с хлороформом, в который переходят основания алкалоидов.

Обнаружение производных пиридина и пиперидина:

1. *Реакция с реактивом Драгендорфа*: 0,5 мл исследуемого хлороформного экстракта упаривают на предметном стекле до появления маслянистого остатка и прибавляют каплю реактива Драгендорфа. При наличии никотина, анабазина или конииина образуются осадки темно-оранжевой или темно-красной окраски с характерной формой кристаллов. Чувствительность реакции: 1 мкг (никотин, анабазин), 3,5 мкг (кониин).

2. *Реакция образования дитиокарбамата меди (II)*. Кониин и анабазин с сероуглеродом и аммиачным раствором сульфата меди (II) образуют нерастворимые в воде дитиокарбаматы. Методика выполнения реакции: в микропробирку вносят каплю подкисленного раствора исследуемого вещества, каплю 5%-ного раствора сульфата меди и 5%-ного раствора аммиака

до щелочной реакции. Содержимое пробирки взбалтывают и прибавляют 2 капли смеси сероуглерода с бензолом (1 : 3). При наличии кониина или анабазина бензольный слой приобретает коричневую или желтую окраску. Чувствительность реакции — 1 мкг кониина (анабазина).

3. *Реакция получения сублимата хлоргидрата кониина*: несколько капель хлороформного раствора исследуемого вещества вносят в тигель и выпаривают досуха при комнатной температуре. К остатку прибавляют 2–3 капли 1%-ного раствора хлороводородной кислоты. Жидкость оставляют при комнатной температуре почти до полного выпаривания. Затем тигель накрывают предметным стеклом и 20–30 мин нагревают на песчаной бане (120–130 °С), постоянно охлаждая предметное стекло влажным ватным тампоном. После этого образовавшийся на предметном стекле сублимат рассматривают под микроскопом. При наличии кониина в поле зрения микроскопа видны бесцветные игольчатые кристаллы. Чувствительность реакции — 0,33 мкг кониина.

4. *Реакция анабазина (никотина) с пероксидом водорода*: к 1 мл исследуемого раствора прибавить 1 мл пергидроля, 2–3 капли концентрированной серной кислоты. При наличии анабазина или никотина появляется красная окраска.

5. *Реакция анабазина (никотина) с ванилином*: к 1 мл исследуемого раствора прибавляют кристаллик ванилина и 1–2 капли концентрированной хлороводородной кислоты. Появление красной или вишнево-красной окраски указывает на наличие анабазина или никотина.

6. *Реакция никотина с формальдегидом*: на часовое стекло наносят 1–2 капли исследуемого раствора, 2 капли 4%-ного раствора формальдегида и нагревают. Затем прибавляют каплю концентрированной азотной кислоты. Появление красной окраски характерно для никотина (анабазин такую реакцию не дает).

7. *Реакция никотина с п-диметиламинобензальдегидом*: на часовое стекло наносят каплю исследуемого раствора и рядом с этой каплей помещают каплю концентрированной хлороводородной кислоты, в которую вносят кристаллы п-диметиламинобензальдегида. Капли соединяют стеклянной палочкой и наблюдают появление красной, а затем фиолетовой окраски в месте соприкосновения капель.

8. *Реакция анабазина (никотина) с солью Рейнеке*: к сухому остатку на предметном стекле прибавляют по одной капле 0,1 М раствора HCl и 1%-ного раствора соли Рейнеке. Под микроскопом наблюдают сферические сростки из призматических кристаллов (никотин) и сростки из мелких игольчатых кристаллов (анабазин). Чувствительность реакции: 1,2 мкг (никотин) и 0,7 мкг (анабазин).

Предложенные микрокристаллоскопические реакции пахикарпина с тиоцианатом кобальта, реактивом Бушарда, пикриновой кислотой, реактивом

Марме, золотобромоводородной кислотой позволяют проводить обнаружение пахикарпина с чувствительностью 1,5, 4,2, 5, 16 и 20 мкг соответственно.

9. *Реакция окисления пахикарпина бромом.* Часть хлороформного экстракта упаривают до 1–2 мл и переносят этот раствор на полоску фильтровальной бумаги (несколько раз помещают края полоски в раствор). Обрабатывают бумагу парами брома — появляется желтое окрашивание, которое исчезает через 20–30 секунд. При обработке аммиаком (бумагу держат над парами аммиака) при последующем нагревании полоски бумаги появляется в присутствии пахикарпина красное пятно. Чувствительность реакции — 0,16 мг основания пахикарпина.

Тонкослойная хроматография. Подвижные фазы — хлороформ – ацетон (9 : 1), хлороформ – диэтиламин (9 : 1); неподвижная фаза — силикагель, проявитель — реактив Драгендорфа. Количественное определение: ВЭЖХ (УФ-спектрометрический детектор).

**Алкалоиды, производные тропана.** Тропан — бициклическая конденсированная система, образованная пирролидином (А) и пиперидином (Б) (рис. 19).



Рис. 19. Тропан

Алкалоиды группы тропана разделяют на 2 подгруппы:

1) производные аминоспиртов тропина (атропин) и скопина (скополамин);

2) производные спиртокислоты экгонина (кокаин). По химическому строению алкалоиды группы тропана — это сложные эфиры.

Соли производных тропана представляют собой белые кристаллические вещества, легко растворимые в воде, этаноле. В хлороформе соли атропина практически нерастворимы, скополамина — очень мало растворимы, кокаина — растворимы.

Введение атропина в организм сопровождается уменьшением секреции слюнных, желудочных, бронхиальных, потовых желез (последние получают симпатическую холинергическую иннервацию), поджелудочной железы, учащением ЧСС (вследствие уменьшения тормозящего действия на сердце блуждающего нерва), понижением тонуса гладкомышечных органов (bronхи, органы брюшной полости и др.). Действие атропина выражено сильнее при повышенном тоне блуждающего нерва.

Гиосциамин обладает действием аналогичным атропину, но центральное действие у него выражено в большей степени: он вызывает седативный эффект, мышечное расслабление. Иногда оказывает спотворное действие. Применяется также для предотвращения морской и воздушной болезни.

Кокаин — первое природное соединение, у которого было обнаружено местноанестезирующее действие. Он подавляет возбудимость нервных окончаний и тормозит проведение возбуждения. Оказывает и центральное действие, вызывая эйфорию, возбуждение, а затем угнетение ЦНС.

При передозировке производных тропана возникает рвота, появляется тахикардия, мидриаз (светобоязнь до нескольких дней), наблюдается ослабление аккомодации. Кожа краснеет, тормозится потоотделение, развивается гипертермия. Беспокойство, мышечная слабость, состояние возбуждения. Расстройства координации сменяются истощением, галлюцинациями, потерей сознания и комой. Летальный исход вследствие паралича дыхательного центра. При передозировках кокаина наблюдается эйфория, тремор, блеск глаз, тахикардия, повышается АД. Речь затруднена, поднимается температура, наступают судороги. Смерть от дыхательного паралича и сосудистого коллапса.

Всасывание производных тропана происходит быстро через слизистые оболочки, а также из тканей после инъекции. Половина поступившего в организм атропина циркулирует в крови, а вторая половина связывается с белками плазмы. Выделение производных тропана происходит через почки в неизменном виде и в виде метаболитов. В результате метаболизма атропина и скополамина образуются тропин, скопин, троповая кислота, норатропин, норскопин, норскополамин и глюкурониды. Около 50 % атропина и 5 % кокаина выводятся из организма с мочой в неизменном виде.

Кокаин метаболизируется с образованием метилового эфира экгонина, норкокаина, бензоилэксгонина и экгонина. Экгонин не экстрагируется ни из кислого, ни из щелочного растворов. Для доказательства наличия экгонина его нужно перевести в метиловый эфир, он хорошо экстрагируется хлороформом.

После приема токсичных доз производных тропана и экгонина необходимо как можно быстрее дать выпить теплую соленую воду, крепкий чай или раствор перманганата калия и вызвать рвоту. При тяжелых отравлениях промывают желудок и назначают форсированный диурез.

*Изолирование* производных тропана в зависимости от цели исследования и вида биоматериала проводят методами Стаса–Отто, Крамаренко, Швайковой–Васильевой. Максимальные количества атропина экстрагируются хлороформом при pH 9–11; скополамина — 8–10; кокаина — 8,5.

*Обнаружение производных тропана.* Реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами: хлороформный экстракт упаривают досуха,

сухой остаток растворяют в растворе хлороводородной кислоты, прибавляют каплю общелкалоидного реактива (реактивы Драгендорфа, Бушарда, Майера). При наличии атропина (скополамина, кокаина) образуются осадки характерной окраски и с характерной формой кристаллов.

Реакции обнаружения производных тропана:

1. *Реакция Витали-Морена.* Хлороформный экстракт упаривают. К сухому остатку прибавляют концентрированную азотную кислоту и упаривают. При этом сухой остаток приобретает желтую окраску. С одной стороны к нему прибавляют ацетон, с другой — этанольный раствор КОН. При соприкосновении с сухим остатком появляется фиолетовая окраска. Кроме атропина, реакцию на реактив Витали-Морена дают гиосциамин, скополамин, стрихнин, производные фенотиазина и другие вещества.

2. *Реакция атропина с пикриновой кислотой.* Хлороформный экстракт упаривают. Сухой остаток растворяют в растворе хлороводородной кислоты. Рядом с полученной каплей помещают каплю раствора пикриновой кислоты. При соединении их через 15–20 мин образуется светло-желтый кристаллический осадок в виде пластинок и сростков из них.

3. *Реакция атропина и скополамина с солью Рейнеке.* Хлороформный экстракт упаривают. Сухой остаток растворяют в растворе хлороводородной кислоты. Рядом с полученной каплей помещают каплю раствора соли Рейнеке ( $(\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4])$ ). Капли соединяют. В результате образуется аморфный осадок сиреневого цвета, быстро переходящий в кристаллический.

4. *Реакция производных тропана с п-диметиламинобензальдегидом.* Хлороформный экстракт упаривают, растворяют в капле хлороводородной кислоты, прибавляют раствор п-диметиламинобензальдегида в концентрированной серной кислоте. Взбалтывают и нагревают на водяной бане 5–10 мин. Происходит образование красной окраски, которая переходит в вишневую, а затем в фиолетовую. При взаимодействии морфина и кодеина с п-диметиламинобензальдегидом также проявляется красная окраска, которая не изменяется. Кокаин с п-диметиламинобензальдегидом не образует окрашенного соединения.

5. *Реакция скополамина с золотобромоводородной кислотой.* Несколько капель хлороформного экстракта упаривают досуха. К сухому остатку прибавляют каплю раствора хлороводородной кислоты и каплю реактива (смесь раствора золотохлороводородной кислоты, концентрированной хлороводородной и ацетона). После этого прибавляют несколько кристалликов калия бромида. При наличии скополамина в исследуемом экстракте образуются светло-коричневые, желтые или оранжево-красные кристаллы.

6. *Реакция кокаина с перманганатом калия.* Сухой остаток после упаривания хлороформного экстракта растворяют в капле раствора хлороводородной кислоты и снова упаривают. Повторяют еще раз. Затем прибавляют

каплю раствора перманганата калия. При наличии в пробе кокаина через 10–20 мин появляются красно-фиолетовые кристаллы в виде прямоугольных пластинок и сростков из них.

Наиболее чувствительными осадительными реактивами на кокаин являются реактивы Шейблера, Драгендорфа, Майера и Бушарда.

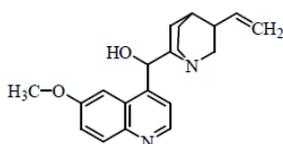
7. *Реакция образования этилбензоата.* К сухому остатку, полученному после упаривания хлороформной вытяжки, прибавляют концентрированную серную кислоту и 2 капли этанола. Нагревают на водяной бане 5 мин. Появление характерного запаха бензойноэтилового эфира указывает на наличие кокаина в пробе.

*УФ- и ИК-спектры.* Раствор кокаина в этиловом спирте имеет максимумы поглощения при 230, 274 и 281 нм. В ИК-области спектра основание кокаина имеет основные пики при 1275, 1700, 1106 и 1728 см<sup>-1</sup>.

*Тонкослойная хроматография.* Неподвижная фаза — силикагель, подвижные фазы: хлороформ – ацетон – диэтиламин (50 : 30 : 2), хлороформ – диэтиламин (9 : 1), циклогексан – ацетон (5 : 1); обработка пластин реактивом Драгендорфа, модифицированный по Мунье. Количественное определение: ГЖХ, ВЭЖХ.

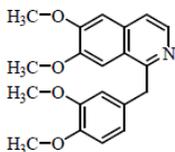
### ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОИЗВОДНЫХ ХИНОЛИНА (ХИНИН), ИЗОХИНОЛИНА (ПАПАВЕРИН). ТОКСИЧНОСТЬ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Алкалоиды хинин, хинидин, цинхонин, цинхонидин содержатся в коре различных видов хинного дерева. В медицинской практике применяются гидрохлорид, дигидрохлорид и сульфат хинина. Общая характеристика и токсикологическое значение производных хинолина и изохинолина (рис. 20).



**Хинин**  
6'-метоксихинолил-(4')-  
[5-винилпиперидил-(2)]-  
карбинол

Алкалоид папаверин содержится в опии в количестве 0,1–1,5%. В медицинской практике применяется гидрохлорид папаверина.



**Папаверин**  
6,7-диметоксн-1-(3',4'-ди-  
метокснбензил)-  
изохинолин

Рис. 20. Производные хинолина (хинин) и изохинолина (папаверин)

Соли хинина представляют собой бесцветные кристаллические вещества, желтеющие под действием света. Они очень горькие на вкус. Хинин является двухкислотным основанием, что обусловлено наличием в его молекуле двух атомов азота (в хинолиновой и хинуклидиновой системах). Ядро хинуклидина является более выраженным центром основности, так как неподеленная пара электронов локализована на атоме азота. Хинин образует два типа солей: основные и нейтральные. Растворы солей обладают кислой реакцией среды. Соли хинина различаются по растворимости в воде. Например, дигидрохлорид хинина очень легко растворим, гидрохлорид — растворим, сульфат — мало растворим в воде. Основание хинина растворяется в этаноле, хлороформе, диэтиловом эфире, насыщенном водой. В воде основание хинина растворяется мало.

Характерным свойством хинина является его противомаларийное действие. В настоящее время он применяется при устойчивости малярийного плазмодия к другим противомаларийным средствам (например, хлорохину). Ранее хинин применяли также при аритмиях и в акушерской практике для усиления родовой деятельности.

Примерно через 15 мин после приема токсичных доз хинина могут появиться тошнота, рвота, головная боль, шум в ушах, тугоухость (иногда полная глухота), нарушение равновесия, расстройство зрения. Возникает понос, боли в животе, снижается температура тела. Появляется возбуждение, иногда судороги. Утрачивается сознание, больной впадает в кому. Происходит нарушение сердечного ритма, падение артериального давления вплоть до коллапса. Смерть наступает вследствие паралича дыхательного центра или поражения мышцы сердца. Всасывание хинина в кровь происходит в тонком кишечнике. Выведение хинина из организма происходит главным образом в виде метаболитов, а также с мочой и калом в неизменном виде (3–5 %). Основными метаболитами являются 2-оксихинин, 2'-оксихинин, гемохинная кислота, хинетин, хинин-10,11-дигидродиол, хинин-10,11-эпоксид, глюкуро-ниды и другие.

После приема токсичных доз хинина необходимо промыть желудок с использованием активированного угля или назначить слабительное (натрия сульфат). Для ускорения выведения яда необходимо обильное питье. В тяжелых случаях проводят форсированный диурез, перитонеальный диализ.

*Папаверина гидрохлорид* представляет собой белое кристаллическое вещество; умеренно растворим в воде, мало растворим в этаноле, растворим в хлороформе, почти не растворяется в диэтиловом эфире.

Папаверин является миотропным спазмолитическим средством. Он понижает тонус и уменьшает сократительную деятельность гладкой мускулатуры и оказывает сосудорасширяющее и спазмолитическое действие.

В больших дозах он понижает возбудимость сердечной мышцы и замедляет внутрисердечную проводимость. Папаверин широко применяют как спазмолитическое средство при спазмах гладкой мускулатуры органов брюшной полости (при холециститах, спастических колитах, при спазмах мочевыводящих путей), при спазмах бронхов, а также при спазмах периферических сосудов мозга.

Ранее папаверин относительно широко применяли (внутрь) для профилактики приступов стенокардии. Папаверин производит некоторый эффект, однако в настоящее время для этой цели пользуются более эффективными антиангинальными средствами. Иногда папаверин применяют парентерально в сочетании с промедолом или другими анальгезирующими и спазмолитическими препаратами для купирования приступов стенокардии.

При передозировках папаверина наблюдается снижение артериального давления, появляется аритмия, сердечная недостаточность, головокружение, утомление, рвота, атония желудочно-кишечного тракта. В тяжелых случаях возникают судороги, паралич, кома. Летальный исход наступает вследствие сердечно-сосудистой недостаточности.

Всасывание папаверина из тканей и желудочно-кишечного тракта происходит быстро. Выведение происходит преимущественно в виде метаболитов через почки. Основными продуктами метаболизма являются продукты деметилирования и их глюкурониды и сульфаты.

При отравлении папаверином проводят промывание желудка, назначают активированный уголь и слабительные средства, а затем осуществляют симптоматическое лечение: устраняют расстройства кровообращения, вводят противоаритмические лекарственные средства.

*Изолирование и определение хинина и папаверина.* Изолирование хинина и папаверина проводят методами Стаса–Отто, Крамаренко, Швайковой–Васильевой. Максимальные количества хинина экстрагируются хлороформом при значении рН 9–10; папаверина — 8–10. Папаверин частично экстрагируется из растворов при рН 2–3. Для обнаружения хинина и папаверина как применяют общеалкалоидные осадительные реактивы, так и проводят характерные реакции:

*1. Реакция с общеалкалоидными реактивами:* 0,5 мл хлороформного экстракта упаривают на предметном стекле досуха, сухой остаток растворяют в 1 капле 0,1 М раствора хлороводородной кислоты, прибавляют каплю общеалкалоидного реактива. При наличии производных хинолина и изохинолина образуются осадки с характерной формой кристаллов.

*2. Характерной реакцией на папаверин является каролиновая проба:* к исследуемому порошку прибавляют концентрированную серную кислоту, уксусный ангидрид и нагревают. Появление ярко-желтого окрашивания и зеленой флуоресценции указывает на наличие папаверина.

3. *Флуоресценция растворов хинина*: растворы хинина, подкисленные серной кислотой, имеют голубую флуоресценцию. Чувствительность реакции — 8,4 нг/мл. При наличии ионов хлора и некоторых других ионов в растворах флуоресценция хинина ослабляется. Флуоресценция хинина как двухосновного основания зависит от pH среды. В кислой среде хинин имеет голубую флуоресценцию. В щелочной среде (pH ~ 9) хинин имеет фиолетовую флуоресценцию. Для продуктов окисления хинина характерна желто-зеленая флуоресценция.

Методика выполнения реакции: исследуемый хлороформный экстракт упаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 1–2 мл 0,05 М раствора серной кислоты. Полученный раствор переносят в пробирку, которую облучают УФ-лучами. При наличии хинина появляется голубая флуоресценция раствора. От прибавления к этой жидкости нескольких капель 0,1 М раствора гидроксида натрия интенсивность голубой флуоресценции ослабевает, а затем (при pH ~ 9) появляется фиолетовая флуоресценция. Если к раствору хинина, подкисленному серной кислотой, прибавить несколько капель бромной воды, разбавленной десятикратным объемом воды (до полного тушения флуоресценции), а затем прибавить несколько капель 25%-ного раствора аммиака до щелочной реакции, то появляется желто-зеленая флуоресценция.

4. *Талейохинная проба*: при окислении и галогенировании бромной водой хинолинового фрагмента происходит образование 5,5-дибром-6-оксо-хинолинпроизводного, которое затем гидратируется, изомеризуется и конденсируется с аммиаком. В результате реакции получается оксолонный краситель талейохин зеленого цвета. Эта реакция характерна только для алкалоидов хинной коры, содержащих метоксигруппу. Поэтому талейохинная реакция является достаточно селективной в отношении хинина. В процессе реакции образуются и другие талейохины, в которых возможно образование связей азота с 5,5- и 5,6-углеродными атомами.

Методика выполнения реакции: исследуемый хлороформный экстракт упаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 1 мл воды, по каплям прибавляют бромную воду (избегая ее избытка) до слабожелтой окраски. От прибавления нескольких капель раствора аммиака к слабожелтому раствору появляется ярко-зеленая окраска, которая при нейтральной реакции становится синей, а при добавлении кислоты переходит в красную или фиолетовую. При взбалтывании жидкости, имеющей зеленую окраску, с хлороформом последний приобретает зеленую окраску. Реакции мешают антипирин, кофеин и др.

5. *Эритрохинная реакция на хинин*: эта реакция в десять раз более чувствительна (10 мкг/мл), чем талейохинная реакция. Но окраска сохраняется непродолжительное время. Методика выполнения реакции: несколько капель исследуемого хлороформного экстракта упаривают досуха, прибавляют 1 мл воды со слабо подкисленной серной или уксусной кислотой, каплю бромной

воды и каплю 10%-ного раствора гексацианоферрата (III) калия. Полученную жидкость хорошо взбалтывают, затем по каплям прибавляют аммиак до щелочной реакции. При наличии хинина в исследуемом растворе появляется соединение розовой или красно-фиолетовой окраски, которое при взбалтывании с хлороформом переходит в хлороформный слой.

6. *Реакция папаверина с цианидом натрия*: к сухому остатку на предметном стекле прибавляют по капле 0,1 М раствор HCl и 0,5%-ный раствор цианида натрия, через 5–10 мин под микроскопом наблюдают призматические кристаллы, собранные в сферолиты. Чувствительность реакции — 0,5 мкг папаверина.

7. *Реакция папаверина с хлоридом кадмия*: на предметное стекло помещают каплю исследуемого хлороформного экстракта и упаривают досуха. К сухому остатку прибавляют каплю 0,1 М раствора хлороводородной кислоты, рядом каплю 10%-ного раствора хлорида кадмия и соединяют эти растворы. В месте соединения капель появляются сростки тонких пластинок или кубические кристаллы. Чувствительность реакции — 10 мкг папаверина.

*УФ- и ИК-спектры*. Хинин: УФ-область, нм: 236, 278, 332 (этанол) 250, 316, 346 (0,1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); ИК-область, см<sup>-1</sup>: 1030, 1235, 1510, 1619.

Папаверин: УФ-область, нм: 250, 284, 310 (0,1 М HCl); ИК-область, см<sup>-1</sup>: 1068, 1273, 1507.

*Тонкослойная хроматография*. Неподвижная фаза — силикагель, подвижные фазы: диоксан – хлороформ – ацетон – 25%-ный раствор аммиака (47,5 : 45 : 5 : 2,5), диэтиловый эфир – ацетон – 25%-ный раствор аммиака (40 : 20 : 2), хлороформ – диэтиламин (9 : 1), хлороформ – ацетон – диэтиламин (50 : 30 : 2); обработка: реактив Драгендорфа, модифицированный по Мунье.

Количественное определение: флуориметрия и ВЭЖХ.

### ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА (СТРИХНИН, БРУЦИН), КСАНТИНА (КОФЕИН, ТЕОФИЛЛИН, ТЕОБРОМИН). ТОКСИЧНОСТЬ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

**Алкалоиды, производные индола.** К алкалоидам, производным индола, имеющим токсикологическое значение, относятся стрихнин, бруцин, резерпин (рис. 21).

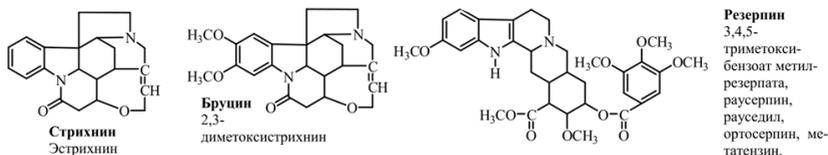


Рис. 21. Алкалоиды, производные индола

В основе химической структуры алкалоидов этой группы лежит бициклическая система — индол. Важнейшее токсикологическое значение имеют алкалоиды стрихнин и бруцин. Впервые эти алкалоиды были выделены из семян *Strychnos nux-vomica* (рвотные орешки) тропического растения рода чилибуха.

Основание стрихнина и бруцина растворимо в хлороформе и этаноле, мало растворяется в эфире и воде. Соли стрихнина представляют собой белые кристаллические порошки или прозрачные кристаллы, растворимые в воде и этаноле, но мало растворимые в эфире и хлороформе.

Резерпин относится к алкалоидам, которые содержатся в различных видах раувольфии. Резерпин представляет собой белый или желтоватый порошок, растворимый в хлороформе, мало — в этаноле, практически не растворимый в воде и диэтиловом эфире.

Стрихнин не применяется в медицинских целях, но при употреблении возбуждает ЦНС и повышает рефлекторную возбудимость. Рефлекторные реакции становятся более генерализованными, при больших дозах стрихнина различные раздражители вызывают появление сильных болезненных тетанических судорог. Действие стрихнина связано с облегчением проведения возбуждения в межнейронных синапсах спинного мозга. Он действует преимущественно в области вставочных нейронов. По современным представлениям стрихнин блокирует действие химических веществ, играющих роль тормозящих факторов в передаче возбуждения в постсинаптических нервных окончаниях в спинном мозге. Блокируя торможение, стрихнин оказывает таким образом «возбуждающий» эффект.

Бруцин в медицине не применяется, но он входит в состав настойки чилибухи. Поэтому при отравлении этой настойкой проводят исследование не только на стрихнин, но и на бруцин. При отравлении стрихнином и бруцином наблюдаются потягивания, ригидность, подергивания основных групп мышц, вытягиваются конечности. Судороги повторяются при малейшем сенсорном раздражении. Летальный исход в результате удушья, истощения от судорог или прекращения сердечно-сосудистой деятельности.

Резерпин оказывает успокаивающее влияние на ЦНС и гипотензивное действие. Он углубляет и усиливает физиологический сон, потенцирует действие барбитуратов и других снотворных средств. Резерпин обладает также симпатолитическим, нейролептическим и антипсихотическим действием. При отравлениях резерпином появляется брадикардия, снижается АД, развивается отек слизистых оболочек носа и глаз, слюнотечение. Дыхание замедленное, поверхностное, возможен бронхоспазм. Действие резерпина развивается только после латентного периода (2–3 сут).

Выведение производных индола из организма осуществляется с мочой в неизменном виде и в виде метаболитов. При метаболизме стрихнина

образуется 2-гидроксистрихнин, который затем взаимодействует с глюкуроновой кислотой с образованием глюкуронида 2-гидроксистрихнина.

При метаболизме бруцина образуются метокси-2-окси-3-стрихнин (а) и окси-2-метокси-3-стрихнин (б), которые взаимодействуют с глюкуроновой кислотой и выводятся с мочой в виде конъюгатов.

Резерпин метаболизируется медленно, поэтому при частом приеме он может кумулироваться в организме. Основными метаболитами являются продукты гидролиза (а) и О-деметилирования (б).

После приема токсических доз производных индола проводят промывание желудка (при отравлении стрихнином для избежания судорог промывание проводят под наркозом). Для удаления яда вскоре после его приема дают выпить подсоленную воду или раствор перманганата калия и вызывают рвоту. В качестве слабительного назначают сульфат натрия. Далее проводят симптоматическое лечение.

**Алкалоиды, производные ксантина.** К производным ксантина (рис. 22) относятся кофеин (1,3,7-триметилксантин), теofilлин (1,3-диметилксантин), теобромин (3,7-диметилксантин).

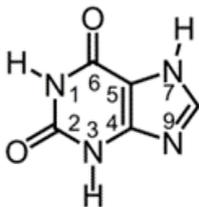


Рис. 22. Ксантин

Производные ксантина представляют собой белые кристаллические вещества без запаха. Кофеин умеренно растворим в воде (1 : 60), мало растворим в этаноле, легко растворим в горячей воде; теofilлин мало растворим в воде, этаноле, хлороформе, легко растворим в горячей воде; теобромин практически нерастворим в холодной воде, этаноле, мало растворим в горячей воде. Теofilлин и теобромин растворимы в растворах кислот и щелочей. Кофеин в щелочной среде разлагается с образованием физиологически неактивного кофеидина.

Основные свойства производных ксантина обусловлены атомом азота в положении 9, а кислые — атомами водорода амидных групп. У кофеина атомы водорода амидных групп замещены на метильные радикалы, поэтому он не обладает кислотными свойствами и является слабым основанием. Теобромин и теofilлин — амфолиты, в молекулах этих алкалоидов имеются основные и кислотные центры. Поэтому теofilлин и теобромин не экстрагируются хлороформом из щелочных растворов.

Производные ксантина оказывают возбуждающее действие на ЦНС, причем у кофеина это выражено в наибольшей степени. Кофеин используется как стимулятор ЦНС, теofilлин — как бронхолитик.

Острое отравление производными ксантина может вызвать учащенное ЧСС, гипертензию, повышенный диурез, тошноту, рвоту, головную боль, беспокойство, чувство страха, подавленность, стимуляцию ЦНС, выраженную гипокалиемию, метаболический ацидоз и судороги. Возможно падение АД вплоть до коллапса (в особенности при быстром внутривенном введении теofilлина). В тяжелых случаях наблюдают мышечные подергивания, подъем температуры. Летальный исход может наступить на фоне истощения или при недостаточности сердечно-сосудистой системы и дыхания. Теofilлин более токсичен, чем кофеин и теобромин.

Кофеин практически полностью подвергается метаболизму путем N-деметилирования и окисления. В результате образуются 1-метилксантин, 7-метилксантин, 1,7-диметилксантин, 1-метилмочевая кислота, 1,3-диметилмочевая кислота. Незначительные количества кофеина выделяются с мочой в неизменном виде. Теofilлин метаболизируется с образованием 1,3-диметилмочевой кислоты, 1-метилмочевой кислоты и следов 3-метилмочевой кислоты. Метаболитами теобромина являются 3-метилксантин, 7-метилксантин и 7-метилмочевая кислота, которые выводятся из организма с мочой.

Первая помощь при отравлении производными ксантина заключается в вызывании рвоты (после приема теплого 10%-ного раствора поваренной соли), обильном питье (иногда с добавлением 1 столовой ложки сульфата магния на 0,5 л воды), обеспечении покоя и защиты от переохлаждения.

### **ЗНАЧЕНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫХ ПРОБ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ПРОБЫ НА АНАЛЬГИН, САЛИЦИЛАТЫ, ФЕНОТИАЗИНЫ МЕТОДАМИ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

Для составления плана ХТА большое значение имеют результаты предварительных проб на наличие токсических и ЛС в исследуемых объектах (биологическом материале). В качестве предварительных проб используют чувствительные и достаточно специфичные хромогенные реакции. Они имеют отрицательное судебно-химическое значение.

На основании результатов предварительных проб можно исключить ряд веществ из плана ХТА и предположить, какие вещества могут быть в биоматериале. Основная цель: получение наименьшего количества ложноотрицательных результатов.

Ложноотрицательный результат — это не обнаружение экзогенного вещества при фактическом его присутствии в пробе. Получение

ложноотрицательных результатов может быть связано с недостаточной чувствительностью используемого метода, преднамеренной фальсификацией пробы, недостаточной квалификацией врача лабораторной диагностики, систематическими ошибками.

Положительный результат предварительных проб указывает на то, что в исследуемом объекте может быть предполагаемое вещество или группа веществ, которые дают такие же реакции. При отрицательном результате предварительных проб на соответствующие вещества дальнейшее исследование их не проводят и не включают в план химико-токсикологического анализа.

Предложен ряд реакций и методов, позволяющих быстро определять токсические вещества непосредственно в биологических жидкостях. В одних источниках литературы эти реакции и методы называют «предварительные пробы», в других — «скрининг-тесты».

Предварительные пробы классифицируют на химические, хроматографические и белоксвязывающие. Химические (цветные реакции) применяют в неспециализированных лабораториях. В качестве объектов исследования используют мочу и сыворотку крови.

**Предварительные пробы на анальгин** (метамизол натрия — производное пиразолона-3):

1. *Реакция с реактивом Драгендорфа.* В кислых растворах производные пиразола находятся в протонированной катионной форме и способны к взаимодействию с общеалкалоидными реактивами (реактив Драгендорфа, таннин, пикриновая кислота, реактив Майера и т. д.). Появляется оранжевый осадок.

2. *Реакция с хлоридом железа (III).* Появление исчезающей синей окраски указывает на наличие метамизола натрия.

3. *Реакция с хромотроповой кислотой.* При нагревании метамизола натрия с разбавленными минеральными кислотами происходит выделение формальдегида, который взаимодействует с хромотроповой кислотой. Появление фиолетовой окраски указывает на наличие метамизола натрия.

4. *Реакция с иодатом калия.* При взаимодействии метамизола натрия с иодатом калия в среде хлороводородной кислоты вначале происходит гидролиз метамизола натрия с выделением диоксида серы. Последний, взаимодействуя с иодатом калия, окисляется. При восстановлении иодата калия происходит выделение иода и иодида калия. Образование малинового окрашивания.

5. *Реакция с реактивом Миллона.* При взаимодействии метамизола натрия с реактивом Миллона  $[\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2]$  появляется темно-синее окрашивание.

Для подтверждения качественного обнаружения используют ТСХ, ИК- и УФ-спектры.

### Предварительные пробы на наличие салициловой кислоты:

1. Реакция с реактивом Триндлера и на реакции с нитратом железа (III).

К 1 мл мочи прибавляют 2–3 капли реактива Триндлера. Появление пурпурной окраски указывает на наличие салициловой кислоты в моче.

2. Реакция с хлоридом железа (III). От прибавления раствора хлорида железа (III) к салициловой кислоте жидкость приобретает сине-фиолетовую окраску. Состав и окраска комплексов, образующихся при взаимодействии салициловой кислоты с ионами железа, зависит от pH среды.

При pH = 1,8...2,5 образуется моносалицилатный комплекс (I), имеющий сине-фиолетовую окраску. При pH = 4...8 образуется дисалицилатный комплекс (II), имеющий красно-бурую окраску. Трисалицилатный комплекс железа (III), имеющий желтую окраску, образуется при pH = 8...11.

### Предварительные пробы на производные фенотиазина:

1. К 1 мл мочи прибавляют 1 мл реактива, состоящего из 80 мл 10%-ного раствора серной кислоты и 20 мл 5%-ного раствора хлорида железа (III). При наличии аминазина и других производных фенотиазина в моче раствор приобретает розовато-лиловую окраску.

2. К 1 мл мочи прибавляют 1 мл реактива ФПН (смешивают 5 мл 5%-ного раствора соли железа в 0,04 М растворе азотной кислоты с 45 мл 20%-ного раствора хлорной кислоты). Появление розовой окраски указывает на наличие производных фенотиазина в моче.

Наиболее чувствительными осадительными реактивами для обнаружения производных фенотиазина являются реактивы Драгендорфа и фосфорномолибденовая кислота.

## Производные барбитуровой кислоты. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУППЫ. ТОКСИЧНОСТЬ. ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА

В медицинской практике применяется 20–25 лекарственных средств на основе барбитуровой кислоты (рис. 23). Международному контролю подвергается 12 из них: аллобарбитал, амобарбитал, барбитал, бутобарбитал, буталбитал, цикло-барбитал, метилфенобарбитал, пентобарбитал, фенобарбитал, себутобарбитал, секобарбитал и винилбитал.

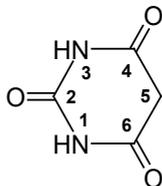


Рис. 23. Барбитуровая кислота

Барбитураты относятся к производным пиримидин-2,4,6-триона, представляют собой белые кристаллические вещества, без запаха. Кислотная форма барбитуратов плохо растворяется в воде, хорошо растворима в эфирах, хлороформе, метаноле и этаноле. Барбитураты склонны к лактам-лактимной таутомерии (за счет атомов водорода имидных групп).

Барбитураты обладают высокой фармакологической активностью, поэтому их передозировка может привести к различным осложнениям и даже вызвать смертельный исход. Фенobarбитал и тиопентал натрия доступны для населения, так как широко используются в медицинской практике в качестве снотворных, седативных, противосудорожных средств. При длительном применении они вызывают пристрастие и привыкание, то есть барбитуровую токсикоманию и наркоманию (барбамил и этаминал-натрий официально отнесены к наркотическим средствам). Производные барбитуровой кислоты занимают одно из первых мест по количеству вызываемых ими отравлений. Эта группа веществ подлежит обязательному судебно-химическому исследованию

Барбитураты обладают выраженным противосудорожным, снотворным, седативным и наркотическим действием. В медицине наиболее часто используются фенobarбитал и тиопентал. Фенobarбитал оказывает снотворное, седативное, противосудорожное действие. Гексобарбитал натрия и тиопентал натрия используются для кратковременного наркоза при проведении сложных операций. Барбитураты также могут использоваться для эвтаназии.

При передозировках барбитуратов наблюдается расширение кровеносных сосудов, гипотензия, шок, гипотермия, судороги. Иногда может развиваться острая почечная недостаточность, что связано с расширением периферических сосудов, развитием острой сердечно-сосудистой недостаточности, снижением почечного кровообращения и, как следствие, нарушением функции почек. Смерть обычно наступает вследствие остановки дыхания, иногда в сочетании с остановкой сердца, или респираторных осложнений. У значительного числа пациентов наблюдается угнетение дыхания, что требует оказания немедленной медицинской помощи.

Для коматозных состояний характерна определенная стадийность, когда последовательно развиваются засыпание (1 стадия), поверхностная кома с повышением или снижением сухожильных рефлексов и реакции зрачков на свет (2 стадия) и, наконец, глубокая кома с арефлексией и отсутствием реакции на болевое раздражение (3 стадия), протекающая наиболее тяжело с выраженными нарушениями функций дыхания и кровообращения. Период выхода из коматозного состояния (4 стадия) нередко характеризуется психомоторным возбуждением.

После перорального применения быстро всасываются (F 90–100 %) и распределяются в органы и ткани. Наибольшая концентрация наблюдается в печени, почках, селезенке, крови и мозге. Легкость проникновения в органы

и ткани объясняется тем, что при физиологических границах pH около 50 % находится в молекулярной форме.

Различают барбитураты длительного — 10–16 ч (фенобарбитал, барбитал, барбитал натрия); среднего — 6–8 ч (амобарбитал натрия, пентобарбитал натрия, бутобарбитал); короткого — 4–6 ч (гексобарбитал натрия) и ультракороткого (тиопентал натрия) действия. Барбитураты длительного действия (барбитал, фенобарбитал) экскретируются в значительных количествах (70–90 %) с мочой в неизменном виде. Барбитураты среднего действия (амобарбитал, пенто-барбитал) экскретируются в основном в виде метаболитов.

Основными путями метаболизма барбитуратов являются окисление (гидроксилирование) радикала в 5 положении, с образованием спиртов, фенолов, карбоновых кислот; отщепление радикала в 5 положении; O- и N-глюкуронизация, десульфирование (тиобарбитураты), окисление до кислот и кетонов. Метаболизм барбитуратов протекает преимущественно в печени.

### ЧАСТНЫЕ МЕТОДЫ ИЗОЛИРОВАНИЯ БАРБИТУРАТОВ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

Изолирование барбитуратов из биологического материала (органы трупа) проводится частными методами (методы Швайковой, Поповой и Валова):

1. Метод изолирования водой, подкисленной шавелевой кислотой до pH 2 (Швайковой). Полученный центрифугат отделяют, создают pH 2 и экстрагируют хлороформом. Барбитураты реэкстрагируют 0,1 M NaOH, подкисляют HCl до pH 2 и экстрагируют хлороформом. Исследуют хлороформные экстракты (рис. 24).



Рис. 24. Метод изолирования барбитуратов подкисленной водой (метод Швайковой)

2. Метод изолирования водой, подкисленной серной кислотой (pH 2–3) (В. И. Поповой). Полученное извлечение процеживают и центрифугируют. Извлечение наряду с молекулами барбитуратов содержит крупные молекулы белков, пептидов, нуклеиновых кислот и пр. Очистку извлечения проводят методом гель-хроматографии (рис. 25).



Рис. 25. Метод изолирования барбитуратов подкисленной водой (метод Поповой)

*Гель-хроматография* основана на использовании в качестве неподвижной фазы геля (чаще всего сефадекса) — набухших полимерных частиц размером около 100 мкм с порами определенного размера, которые несколько меньше, чем размеры молекул белков и пептидов. При пропускании элюента через колонку, заполненную гелем, мелкие частицы (в том числе и барбитураты) проникают в поры геля. Крупные частицы в поры не проникают, поэтому они проходят между частиц неподвижной фазы. Поэтому фракция элюента, содержащая крупные частицы, выходит из колонки гораздо раньше, чем фракция, содержащая мелкие частицы. За счет этого и достигается разделение.

Поскольку в процессе хроматографирования затрачиваются большие объемы элюента, концентрация производных барбитуровой кислоты в получаемых элюатах очень низкая, что не позволяет проводить качественные реакции. Поэтому после очистки извлечения проводят экстракционное концентрирование хлороформом. Затем хлороформ отгоняют при 70 °С и раствор выпаривают.

3. Метод изолирования подщелоченной водой применил П. Валов, усовершенствовала Швайкова. Согласно этому методу, биоматериал заливают 10%-ным NaOH на 30 мин. Затем центрифугируют. К центрифугату прибавляют 10%-ный  $\text{Na}_2\text{WO}_4$ , прибавляют 0,5 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (осаждение примесей), нагревают, центрифугируют, процеживают. Затем экстрагируют эфиром, реэкстракцию проводят 10%-ным NaOH, подкисляют  $\text{H}_2\text{SO}_4$  до pH = 2 и барбитураты экстрагируют эфиром (рис. 26).



Рис. 26. Метод изолирования барбитуратов подщелоченной водой (метод Валова)

## МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ, КАЧЕСТВЕННОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НАЛИЧИЯ БАРБИТУРАТОВ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

Для обнаружения барбитуратов применяются как химические, так и инструментальные (физико-химические) методы, микрокристаллические методы. Химический метод основан на применении характерных цветных реакций. Различают общие и частные реакции обнаружения барбитуратов.

### **Общие реакции обнаружения барбитуратов:**

1. Реакция с ацетатом кобальта (II) и гидроксидом лития — предварительная реакция (не специфична). Выполнение реакции: полученный эфирный экстракт из мочи упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в хлороформе, прибавляют раствор ацетата кобальта (II) в метаноле, раствор гидроксида лития в метаноле и взбалтывают. При наличии барбитуратов развивается голубая окраска.

2. Реакция с изопропиламином и ацетатом кобальта (II) (малочувствительна и неспецифична) должна проводиться в безводной среде, поскольку в присутствии воды образующееся соединение разрушается. Выполнение реакции: к хлороформному экстракту прибавляют раствор ацетата кобальта (II) в этаноле и раствор изопропиламина в этаноле или метаноле. При наличии барбитуратов фиолетовая окраска.

3. Реакция с пиридином и солями меди. В присутствии пиридина и солей меди происходит образование положительно заряженного комплексного иона  $[\text{Cu}(\text{Pur})_2]^{2+}$ , который, взаимодействуя с частично ионизированными молекулами барбитуратов, образует внутрикмоплексное соединение красно-фиолетового цвета (при наличии тиобарбитуратов — зеленого цвета). Выполнение реакции: на предметное стекло наносят раствор исследуемого вещества в хлороформе и выпаривают. Прибавляют раствор аммиака и раствор сульфата меди (II) в аммиаке и пиридине. При наличии барбитуратов через 10–15 мин появляется кристаллический или аморфный осадок.

4. Мурексидная проба (положительная также для пуриновых алкалоидов). Для обнаружения барбитуратов существует несколько вариантов мурексидной реакции. Все они сводятся к использованию окислителя (пероксид водорода, бром, периодат калия и др.), а затем прибавляют раствор аммиака. Реакция характерна для барбитала, фенобарбитала, амобарбитала натрия, пентобарбитала натрия. Методика выполнения: к сухому остатку после выпаривания исследуемого раствора прибавляют раствор пероксида водорода или кристаллики периодата калия и раствор соли Мора и хлорида аммония. Нагревают до появления белых паров. После охлаждения прибавляют раствор аммиака. При наличии барбитуратов появляется розовая окраска.

5. Выделение кислотной формы барбитуратов. На предметное стекло наносят несколько капель исследуемого хлороформного экстракта

и выпаривают при комнатной температуре. После выпаривания на то же место наносят следующую каплю раствора, который также выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в одной капле концентрированной серной кислоты. Через 3–5 мин после охлаждения раствора рядом с ним наносят каплю воды. Затем эти капли соединяют. Через 10–20 мин (при малых количествах барбитуратов через 1–2 ч) появляются кристаллические осадки.

#### **Частные реакции обнаружения барбитуратов:**

1. Реакция с хлорцинкиодом. На предметное стекло наносят несколько капель хлороформного экстракта и выпаривают. К сухому остатку прибавляют раствор хлорцинкиода (смесь хлорида цинка, иода и калия йодида). Через 10–15 мин под микроскопом наблюдают кристаллы характерной формы.

2. Реакция с железоиодидным реактивом. На предметное стекло наносят несколько капель раствора исследуемого вещества в хлороформе. Выпаривают досуха. Прибавляют каплю реактива (раствор хлорида железа (III), содержащий иодид калия). При наличии барбитуратов в исследуемом растворе через 10–15 мин появляются кристаллы характерной формы.

3. Реакция с родамином 6G. Реакция характерна для *солей барбитуратов* (амобарбитал натрия, гексобарбитал натрия, пентобарбитал натрия). При взаимодействии перечисленных барбитуратов с родамином 6G образуются ионные ассоциаты, экстрагирующиеся тетрахлорметаном, при наличии в растворе солей органическая фаза окрашивается в светло-оранжевый или оранжево-красный цвет.

*Инструментальные методы определения барбитуратов, УФ- и ИК-спектрометрия.* В зависимости от значения рН раствора производные барбитуровой кислоты могут находиться в неионизированном и ионизированном состоянии. При ионизации в структуре молекул 5,5-замещенных барбитуратов появляются двойные связи, что приводит к bathochromному смещению полос поглощения. В кислой среде, рН = 2 (имидная форма) барбитураты незначительно поглощают в области  $\geq 240$  нм, при значении рН = 9–10 (имидольная форма) появляется полоса поглощения при длине волны около 240 нм; при значениях рН = 13–14 (диимидольная форма) — около 260 нм. Трех-замещенные производные барбитуратов имеют лишь одну ионизированную форму (имидольную), поэтому их поглощение не меняется с переходом от рН = 10 к рН = 13, и они обладают одним максимумом в щелочной среде. На этом основана методика обнаружения барбитуратов по УФ-спектрам поглощения (рис. 27).

В ИК-спектрах барбитуратов обнаруживаются характеристические частоты колебаний определенных групп атомов.

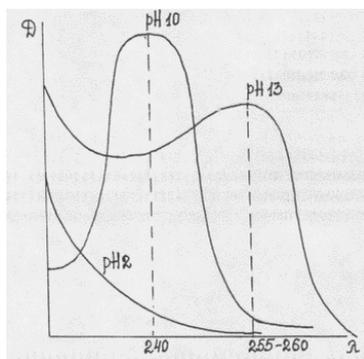


Рис. 27. Спектры барбитуратов при разных значениях pH

*Обнаружение барбитуратов методом ТСХ.* Метод тонкослойной хроматографии позволяет не только обнаруживать отдельные барбитураты, но и отличать барбитураты друг от друга. Разделение обычно проводят в тонком слое силикагеля. На хроматографическую пластинку наносят исследуемое хлороформное извлечение, а рядом на линию старта — растворы образцов различных барбитуратов «метчиков».

В качестве подвижной фазы используют различные системы растворителей: толуол – ацетон – этанол – 25%-ный раствор аммиака (45 : 45 : 7,5 : 2,5) (применяется в экспресс-анализе интоксикаций); хлороформ – н-бутанол – 25%-ный раствор аммиака (70 : 40 : 5); хлороформ – ацетон (80 : 20); хлороформ – бензол – ацетон (70 : 15 : 15), этилацетат – метанол – 25%-ный раствор  $\text{NH}_3$  (85 : 10 : 5) и др.

Проявление пятен осуществляют раствором сульфата или хлорида ртути (II), затем раствором дифенилкарбазида. При наличии барбитуратов наблюдают развитие окраски от сине-фиолетовой до красно-фиолетовой. Внутрigrупповую идентификацию барбитуратов осуществляют по совпадению значений  $R_f$  пятна исследуемого извлечения и раствора «свидетеля», либо по совпадению значений  $R_{st}$ , рассчитанного относительно метчика, и справочных значений.

*Иммунохимические методы* (ИФА, поляризационный флюороиммунанализ (ПФИА), радиоиммунанализ (РИА)) применяются для скринингового исследования мочи, крови, слюны. При положительном результате обязательно проводят подтверждающие исследования с применением других методов.

*Метод газовой хроматографии* применяется как для идентификации, так и для количественного определения барбитуратов. В ряде случаев проводится дериватизация с применением метилирующих или ацетилирующих реактивов.

Определение методом ВЭЖХ проводят в большинстве случаев с обращенно-фазовыми сорбентами С8 или С18. Подвижные фазы — это смеси метанола и фосфатного буферного раствора, ацетонитрила и воды дистиллированной, или смеси, содержащие несколько органических растворителей.

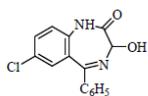
Количественное определение барбитуратов методом УФ-спектрометрии возможно как способами прямой, так и дифференциальной УФ-спектрометрии. В первом случае измеряют оптическую плотность растворов при 240 нм и рН 10. Способ дифференциальной УФ-спектрометрии барбитуратов основан на определении разности  $A(\text{pH } 10) - A(\text{pH } 2)$  при 240 нм или  $A(\text{pH } 13) - A(\text{pH } 10)$  при 260 нм и построении соответствующего градуировочного графика.

### Производные 1,4-бензодиазепина. Общая характеристика группы. Токсичность. Пути метаболизма. Антидоты

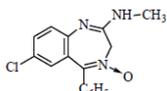
Производные 1,4-бензодиазепина — это транквилизаторы (успокоение), анксиолитики (анксис — тревожный, литик — успокоение), атарактики (невозмутимость). С 1988 г. 33 производных бензодиазепина находятся под контролем (в Республике Беларусь — 36 — это список опасных психотропных веществ).

Действие бензодиазепинов связано с воздействием на рецепторы ГАМК (гамма-аминомасляной кислоты). Большинство из них являются транквилизаторами, некоторые используются как снотворные средства. В большей или меньшей степени бензодиазепинам свойственно противосудорожное действие, некоторые используют для борьбы с эпилепсией. Бензодиазепины входят в широкую группу веществ-депрессантов центральной нервной системы, подлежат обязательному судебно-химическому исследованию.

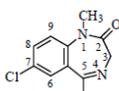
Высокая фармацевтическая активность, широкий спектр терапевтического действия и малая токсичность позволяет производным бензодиазепина занимать ведущее место среди транквилизаторов. Они используются и как снотворные (нитразепам), и как противосудорожные (диазепам). Наряду с применяемыми 1,4-бензодиазепинами в практику внедряются новые производные 1,5- и 2,3-бензодиазепина (рис. 28).



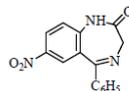
**Оксазепам**  
Нозепам, алепам, анксиолит, бензотран, мурелакс, оксабенз, серенал, ускан; 7-хлор-1,3-дигидро-3-гидрокси-5-фенил-2H-1,4-бензодиазепин-2-он



**Хлоразепоксид**  
Хлозепид, эленгум, метаминодиазепоксид, либринум, синлибрин, менриум; 7-хлор-N-метил-5-фенил-3H-1,4-бензодиазепин-2-амин-4-оксид



**Диазепам**  
Сибазон, реланиум, антнекс, апозепам, диапам, римапам, валлум; 7-хлор-1,3-дигидро-1-метил-5-фенил-2H-1,4-бензодиазепин-2-он



**Нитразепам**  
Эуноктин, алодорм, дормалон, раделорм, сонобон, унисомин; 1,3-дигидро-7-нитро-5-фенил-2H-1,4-бензодиазепин-2-он

Рис. 28. Бензодиазепины

Большинство производных 1,4-бензодиазепинов — бесцветные (нитразепам — желто-зеленый), хорошо кристаллизующиеся вещества, практически нерастворимые в воде (хлозепид хорошо растворяется в воде). Соли их хорошо растворимы в воде. Развитие толерантности и зависимости — основная проблема хронического приема бензодиазепинов. Толерантность проявляется в виде ослабления фармакологических эффектов и развивается достаточно быстро к седативному, снотворному, противосудорожному и миорелаксирующему действиям бензодиазепинов. Толерантность к успокаивающему эффекту развивается более медленно, к амнестическому — в целом не возникает.

Некоторые бензодиазепины поглощают в УФ-области, причем форма спектров зависит от значения pH водной фазы. В спектрах поглощения выделяют три характерные полосы с максимумами при 200–215, 220–240 и 290–330 нм. Поглощение производных 1,4-бензодиазепина в УФ-области изменяется в зависимости от величины pH. В кислой среде происходит протонирование атома азота 1 (хлозепид) и 4 (диазепам, нитразепам, оксазепам), а в щелочной среде изменяется хромоформная система в результате увеличения сопряжения за счет лактим-лактамной таутомерии азометиновой связи 1,2 (нитразепам, оксазепам).

В ИК-спектрах производных 1,4-бензодиазепина наблюдается много полос поглощения.

По *кислотно-основным свойствам* они — слабые основания. Основность зависит от заместителей. Введение нитро-, карбонильных, гидроксид- и карбоксильных групп снижает основной характер. Нитразепам и оксазепам проявляют кислотные свойства за счет амидной группы, то есть амфолиты.

Производные 1,4-бензодиазепина подвергаются гидролизу. Устойчивость растворов производных 1,4-бензодиазепина зависит от растворителя и природы соединения. Более устойчивы *спиртовые* растворы по сравнению с водными. В кислых растворах производные 1,4-бензодиазепина со временем гидролизуются (особенно оксазепам и диазепам) с образованием продуктов желтой окраски.

Сохраняемость производных 1,4-бензодиазепина в биообъектах различается в зависимости от структуры соединения. *Диазепам* в плазме устойчив в течение трех недель при комнатной температуре, а при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  — в течение 1 года. При длительном хранении 1,4-бензодиазепинов при комнатной температуре они разлагаются. Например, нитразепам восстанавливается до 7-аминопр-го и гидролизует до 2-амино-5-нитробензофенона.

По продолжительности действия различают производные 1,4-бензодиазепина длительного, среднего и короткого действия. К первой группе ( $T_{1/2}$  более 24 ч) относятся диазепам, клоназепам, нитразепам, феназепам и др.), ко второй ( $T_{1/2}$  10–24 ч) — алпразолам, лоразепам, оксазепам и др.,

к третьей ( $T_{1/2}$  менее 10 ч) — мидазолам, триазолам. Но следует иметь в виду, что продолжительность действия зависит как от  $T_{1/2}$  ЛВ, так и от  $T_{1/2}$  образующихся фармакологически активных метаболитов. Например,  $T_{1/2}$  медазепам 1–2 ч, но при метаболизме образуется активный нордазепам, поэтому медазепам относят к бензодиазепинам длительного действия.

Острые отравления производными бензодиазепина сопровождаются тахикардией, снижением АД, гипотонией мышц. Смерть может наступить из-за угнетения дыхательного центра (редко).

Всасывание производных бензодиазепина хорошо и относительно быстро через ЖКТ (максимальная концентрация в крови наступает через 1–2 ч). Поступая в кровь, на ~90 % связываются с белками плазмы. Распределение по органам происходит в три стадии: накопление в паренхиматозных органах и падение концентрации в крови; накопление во всех органах и тканях; накопление в органах выделения (печени и почках), третья стадия — самая продолжительная во времени.

Выведение происходит в неизменном виде и в виде метаболитов преимущественно почками.

#### **Метаболизм.**

I фаза:

1. N-деметилирование (нордазепам).
2. Гидролиз → МХБ + АХБ (при деметилировании).
3. Ацетилирование аминогруппы.
4. Восстановление нитрогруппы (нитразепам, клоназепам, флунизепам) до аминогруппы.
5. Гидролиз 1,2 и 4,5.
6. Гидроксилирование в п-положение.

II фаза: конъюгация с глюкуроновой кислотой, элиминация, гидролиз и образование глюкуронидов приводит к полной потере активности. Выводятся все почками. Особенно быстро метаболизируют диазепам, нитразепам, медленно — феназепам. Свет активизирует процессы разложения. Метаболиты различаются по активности. Фармакологически активны метаболиты, образующиеся при окислении и восстановлении. Глюкурониды и продукты гидролиза не проявляют активности.

После приема внутрь токсической дозы производных 1,4-бензодиазепина промывают желудок, затем назначают раствор сульфата натрия с активированным углем. Далее проводится симптоматическое лечение.

Существует антагонист бензодиазепинов — флумазенил (антидот).

## СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ТРУПА НА НАЛИЧИЕ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-БЕНЗОДИАЗЕПИНА ПО НАТИВНЫМ ВЕЩЕСТВАМ, ПО МЕТАБОЛИТАМ

Основными объектами исследования являются ЛС, биожидкости (кровь и моча), секционный материал (печень, почки, ЖКТ). В моче и секционном материале содержатся как основное соединение, так и метаболиты. Кровь содержит в основном неизмененное соединение.

Изолирование *из секционного материала* проводят подкисленным спиртом или подкисленной водой, а затем экстрагируют хлороформом при рН 2 и рН 10.

ХТА на производные 1,4-бензодиазепина проводится по двум направлениям:

- а) по продуктам гидролиза (2-аминобензофенонам);
- б) по нативным соединениям совместно с метаболитами.

Исследование по продуктам гидролиза позволяет суммарно определить нативные соединения и метаболиты. Такое исследование имеет отрицательное судебно-химическое значение. При получении положительного результата продолжают исследования по второму направлению (определение нативного соединения и метаболитов), что позволяет уточнить природу токсиканта.

*Основные этапы исследования по продуктам гидролиза:*

- 1) изолирование полярными растворителями;
- 2) гидролиз до 2-аминобензофенонов (при температуре 120–140 °С, 30–60 мин добавляем 6 М HCl);
- 3) жидкость-жидкостная (элюенты: хлороформ или гептан, рН 6–8) или твердофазная экстракция;
- 4) ТСХ (подвижная фаза — бензол);
- 5) подтверждающее исследование (ГХ, ВЭЖХ, УФ).

### **Бензофеноны (АНБ, АХБ, МХБ, АБХБ):**

- |   |   |               |
|---|---|---------------|
| 1) АНБ (2-Амино-5-НитроБензофенон),         | ← | НИТРОЗЕПАМ    |
|   |   | ХЛОРДИАПОКСИД |
| 2) АХБ (2-Амино-5-ХлорБензофенон)←          | ← | ОКСАЗЕПАМ     |
| 4) МХБ (2-Метиламино-5-ХлорБензофенон).←    | ← | ДИАЗЕПАМ      |
| 3) АБХБ (2-Амино-5-Бром-2'-ХлорБензофенон)← | ← | ФЕНОЗЕПАМ     |

Исследование по 2-аминобензофенонам проводят по окраске бензофенонов, по образованию азокрасителя с солью диазония аминобензофенонов и щелочным раствором β-нафтола или N-2-нафтилэтилендиамина (реакция Браттона-Маршалла), а также по характерной флуоресценции в УФ-свете (254–360 нм) (рис. 29).

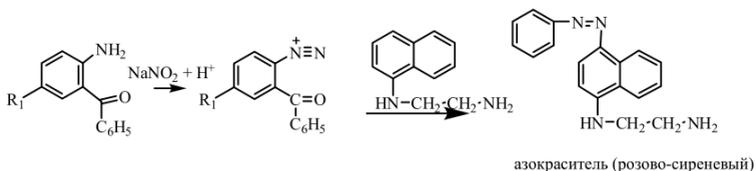


Рис. 29. Химизм реакции Браттона-Маршалла

Реакция образования азокрасителей характерна для бензофенонов, содержащих первичную аминогруппу. Некоторые бензодиазепины (диазепам, камазепам, кетазолам, медазепам, ниметазепам, темазепам и др.) при гидролизе образуют бензофеноны, не содержащие первичную аминогруппу, и не образующие азокрасителей. Известны бензодиазепины (алпразолам, бротизолам, лопразолам, триазолам, эстазолам), которые не образуют бензофеноны. Поэтому реакция для идентификации имеет ограниченное применение.

*Исследования по нативному соединению и основным метаболитам:*

- 1) изолирование полярными растворителями;
- 2) концентрирование (ЖЖЭ или ТФЭ);
- 3) ТСХ;
- 4) подтверждающее исследование (ГХ, ВЭЖХ, УФ).

Для хроматографического разделения и идентификации производных 1,4-бензодиазепина методом ТСХ в качестве подвижной фазы используют системы:

- 1) хлороформ – ацетон (9 : 1);
- 2) хлороформ – метанол (9 : 1);
- 3) этилацетат – метанол – 25%-ный раствор аммиака (85 : 10 : 5);
- 4) хлороформ – пропанол – ацетон (45 : 2 : 5) и др.

Пятна на пластинах силикагеля или «силуфол» проявляют с помощью реактивов Драгендорфа, Марки, Фреде, FPN, а также по образованию азокрасителя после гидролиза соединений на хроматограмме. При взаимодействии производных 1,4-бензодиазепина с реактивами Марки, Фреде или FPN образуются продукты, имеющие желтую окраску. Возможна и детекция производных 1,4-бензодиазепина на хроматографических пластинках, содержащих флуоресцентные добавки.

Применение инструментальных методов (ГХ, ВЭЖХ, УФ-спектроскопия) позволяет провести внутригрупповую идентификацию производных 1,4-бензодиазепина и подтвердить результаты анализа по бензофенонам.

При ВЭЖХ-определении в моче по нативным соединениям проводят ЖЖЭ при pH 5–8. При анализе по соответствующим бензофенонам проводят предварительную (перед экстракцией) обработку биообъекта кислотой

при нагревании с целью перевода нативных соединений и их метаболитов в аминокбензофеноны. Полученный сухой экстракт после пробоподготовки растворяют в 100 мкл подвижной фазы и вводят в хроматографическую колонку.

Количественное определение методом ВЭЖХ проводят по нативным соединениям или бензофенонам (используют методы добавок, внешнего и внутреннего стандарта). Спектрометрическое определение основано на гидролизе до аминокбензофенонов и проведении реакции Браттона-Маршалла.

### ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРАЗОЛА (ФЕНАЗОН, МЕТАМИЗОЛ НАТРИЯ, ФЕНИЛБУТАЗОН). ТОКСИЧНОСТЬ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Из производных пиразола в медицинской практике применяются производные пиразолона-5 (феназон, метамизол натрия, пропифеназон) и производные пиразолидин-3,5-диона (фенилбутазон) (рис. 30). Амидопирин (1-фенил-2,3-диметил-4-диметиламино-пиразолон-3) в настоящее время не применяется, так как при приеме амидопирина наблюдалось угнетение кроветворения (гранулоцитопения и агранулоцитоз), а также развитие анафилактических реакций.

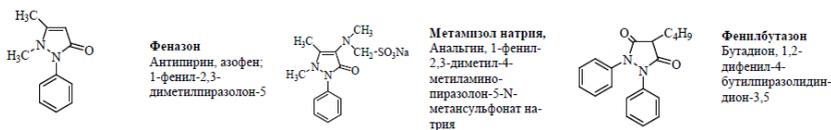


Рис. 30. Производные пиразола

Производные пиразола представляют собой белые или почти белые кристаллические порошки, горькие на вкус. Феназон и метамизол натрия легко растворимы в воде. Метамизол натрия, в отличие от феназона, мало растворим в этаноле, в эфире, хлороформе и ацетоне. Несмотря на сходство химической структуры, производные пиразола отличаются друг от друга по химическим свойствам. Феназон вступает в реакции замещения (например, с иодом, нитритом натрия), что используется для качественного и количественного анализа. Основные свойства производных пиразолона обусловлены наличием двух атомов азота. Сопряжение неподеленной электронной пары атомов азота с фенильным радикалом приводит к тому, что производные пиразолона являются слабыми основаниями. Кроме того, сила этих оснований зависит от характера заместителя в четвертом положении. Способность производных пиразола к комплексообразованию, например, с солями железа (III) обусловлена образованием при растворении в воде *цветер-иона* бетаиновой структуры (рис. 31).

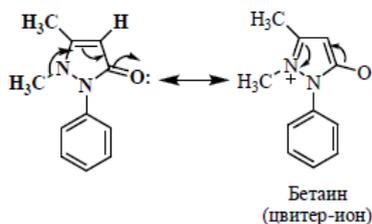


Рис. 31. Образование комплексов пиразола

Производные пиразола применяются как болеутоляющие, жаропонижающие и противовоспалительные ЛС. По анальгезирующей активности они близки к производным салициловой кислоты. Они уменьшают проницаемость капилляров и препятствуют воспалительной реакции. Анальгин, вследствие лучшей растворимости, действует быстрее, чем амидопирин. В настоящее время анальгин широко применяется в качестве анальгезирующего средства.

При приеме внутрь больших доз производных пиразола появляются тошнота, боли в животе, диарея. Возможна потеря сознания, состояние возбуждения. В некоторых случаях развиваются нарушения функции ССС, цианоз, коллапс. Смерть наступает при явлениях сердечно-сосудистой недостаточности.

При поступлении производных пиразолона в ЖКТ они всасываются быстро и полностью. После всасывания они подвергаются метаболизму. При отравлении производными пиразола необходимо осторожно (во избежание судорог) произвести промывание желудка. Принимают слабительное (натрия сульфат или касторовое масло). Проводят форсированный диурез с поддержанием баланса жидкости в организме.

Изолирование проводят методами Стаса–Отто, Крамаренко, Швайковой-Васильевой. Производные пиразола являются слабыми основаниями, поэтому они экстрагируются хлороформом как из щелочной, так и умеренно кислой среды. Метамизол натрия — амфолит, полностью экстрагируется органическими растворителями из щелочной среды (рН 8–9).

#### **Обнаружение производных пиразола:**

1. *Реакция с реактивом Драгендорфа.* В кислых растворах производные пиразола находятся в протонированной катионной форме и способны к взаимодействию с общеалкалоидными реактивами (реактив Драгендорфа, танин, пикриновая кислота, реактив Майера и т. д.) Выполнение реакции: хлороформный экстракт упаривают, растворяют в растворе хлороводородной кислоты и прибавляют реактив Драгендорфа — появляется оранжевый осадок.

2. *Реакция с хлоридом железа (III)* (феназон, метамизол натрия). На предметное стекло наносят исследуемый хлороформный экстракт

и упаривают. К сухому остатку прибавляют хлорид железа (III). Появление красной или синей окраски указывает на наличие феназона или метамизола натрия.

3. *Реакция феназона с натрия нитритом.* Происходит замещение атома водорода в четвертом положении на нитрозогруппу. При наличии феназона в пробе появляется желто-зеленая окраска нитрозофеназона.

4. *Реакция образования азокрасителя (феназон).* При взаимодействии феназона с нитритом натрия образуется нитрозофеназон, который способен вступать в реакцию с  $\alpha$ -нафтиламином с образованием азокрасителя. Для удаления избытка нитрита натрия в пробирку вносят небольшое количество азида натрия. В зависимости от количества феназона появляется темно- или светло-фиолетовая окраска.

5. *Реакция с хромотроповой кислотой.* При нагревании метамизола натрия с разбавленными минеральными кислотами происходит выделение формальдегида, который взаимодействует с хромотроповой кислотой. Появление фиолетовой окраски указывает на наличие метамизола натрия.

6. *Реакция с иодатом калия.* При взаимодействии метамизола натрия с иодатом калия в среде хлороводородной кислоты вначале происходит гидролиз метамизола натрия с выделением диоксида серы. Последний, взаимодействуя с иодатом калия, окисляется. При восстановлении иодата калия происходит выделение иода и иодида калия. Образование малинового окрашивания.

7. *Реакция с реактивом Миллона.* При взаимодействии метамизола натрия с реактивом Миллона  $[\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2]$  появляется темно-синее окрашивание.

*Тонкослойная хроматография.* Неподвижная фаза — силикагель, подвижные фазы — хлороформ – ацетон (9 : 1), ацетон – циклогексан (5 : 1). Реактивы: раствор хлорида железа (III), реактив Драгендорфа. При наличии — коричневые пятна.

*УФ- и ИК-спектры.* В ИК-спектрах производных пиразола имеются характерные пики, которые идентифицируют с помощью специальных атласов или сравнением полученных ИК-спектров с ИК-спектрами стандартных веществ.

*Количественное определение:* УФ-спектрометрия при соответствующих длинах волн, ВЭЖХ (УФ-спектрометрический детектор, обращеннофазовый сорбент «С-18»).

**ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ПРОИЗВОДНЫЕ  
ПАРА-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ (ПРОКАИН, НОВОКАИН).  
ТОКСИЧНОСТЬ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ  
И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ**

Из производных ароматических аминокислот (анестезин, прокаин, прокаинамид, кислота мефенаминовая, натрия диклофенак) определенный токсикологический интерес представляют производные пара-аминобензойной кислоты (прокаин и прокаинамид) (рис. 32).

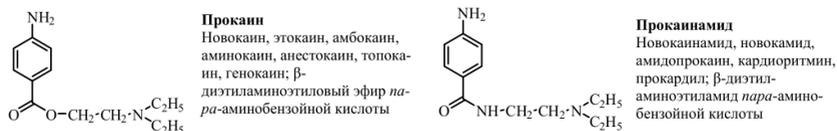


Рис. 32. Производные пара-аминобензойной кислоты

Гидрохлориды прокаина и прокаинамида представляют собой белые или белые с кремоватым оттенком кристаллические порошки, без запаха, гигроскопичные. Гидрохлориды прокаина и прокаинамида очень легко растворимы в воде, легко — в этаноле, мало растворимы в хлороформе, практически нерастворимы в эфире. Прокаин и прокаинамид являются органическими основаниями, обладают характерными спектрами поглощения в УФ-области, форма которых зависит от рН среды. Прокаин в сильнощелочных растворах легко гидролизуются с образованием соли пара-аминобензойной кислоты и диэтиламиноэтанола.

Прокаин является местноанестезирующим ЛС. По способности вызывать поверхностную анестезию он менее активен, чем кокаин, но значительно менее токсичен. Не вызывает наркомании. Помимо этого, оказывает общее влияние на организм: уменьшает выработку ацетилхолина, оказывает блокирующее действие на вегетативные ганглии, уменьшает спазмы гладкой мускулатуры, понижает возбудимость сердечной мышцы и моторной зоны коры головного мозга.

Прокаинамид обладает фармакологическим действием, сходным с прокаином, но снижение возбудимости сердечной мышцы у него выражено в значительно большей степени, чем у прокаина. Поэтому применяется как антиаритмическое средство. Он менее токсичен, чем прокаин.

При передозировке производных ПАБК развивается саливация, тошнота, рвота, чувство угнетенности и головокружение. Появляются возбуждение, мышечные подергивания, судороги. Нарушается ЧСС и сердечного ритма вплоть до тотальной блокады сердца. Снижается АД вплоть до коллапса. Смерть наступает при сердечной недостаточности или параличе дыхательного

центра. Прокаин и прокаинамид медленно всасываются через слизистые оболочки и пищеварительный тракт, но зато быстро всасываются из тканей после инъекции. Под действием эстераз крови прокаин быстро гидролизуется с образованием диэтиламиноэтанола (воздействует на нервные окончания и на тонус сосудов) и п-аминобензойной кислоты (вызывает аллергические реакции); последняя частично подвергается глюкуронизации.

Около 90 % дозы прокаина выводится с мочой в виде ПАБК (в свободной форме и в виде конъюгатов). Только 2 % прокаина выделяется с мочой в неизменном виде в течение первых 24 ч. Около 33 % диэтанолamina выводится в свободном виде.

Прокаинамид гораздо более устойчив к действию эстераз, чем прокаин. Поэтому гидролиз его осуществляется значительно медленней. Основным метаболитом прокаинамида является N-ацетил-прокаинамид; лишь 2–10 % дозы введенного прокаинамида метаболизируется до ПАБК. Обнаружены также N-деэтилированные метаболиты. Около 50–60 % прокаинамида выводится с мочой в неизменном виде в течении 24 ч.

Выведение производных ПАБК и их метаболитов происходит преимущественно через почки.

При пероральном отравлении необходимо вызвать рвоту, промыть желудок, дать активированный уголь, сульфат натрия. При случайном введении токсичной дозы необходимо сразу же наложить жгут проксимальнее места введения и создать венозный застой. Жгут распускать через каждые 15 мин. Необходимо обеспечить достаточное дыхание, при необходимости дать кислород, произвести искусственное дыхание.

Изолирование проводят методами Стаса-Отто, Крамаренко, Швайковой-Васильевой. Поскольку прокаин и прокаинамид являются достаточно сильными основаниями, они экстрагируются хлороформом из щелочной среды (рН 8–10). При исследовании содержания прокаина в плазме необходимо прибавлять натрия фторид для подавления активности эстераз крови.

Для обнаружения производных ПАБК применяют реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами; реакции Витали-Морена, образования азокрасителя и др.:

1. *Выполнение реакции с реактивом Драгендорфа.* Появление осадка, состоящего из кристаллов красно-оранжевого цвета, указывает на наличие прокаина или прокаинамида в экстракте.

2. *При микрокристаллоскопическом исследовании* кристаллов прокаина с пикриновой и стифниновой кислотами под микроскопом видны характерные призматические кристаллы.

3. *Реакция образования азокрасителя.* Хлороформный экстракт упаривают, сухой остаток растворяют в растворе хлороводородной кислоты и прибавляют кристаллики нитрита натрия. Через 5 мин жидкость подщелачивают

раствором гидроксида натрия до щелочной реакции и прибавляют щелочной раствор β-нафтола. Раствор приобретает красно-оранжевую окраску.

4. *Выполнение реакции Витали-Морена.* Хлороформный экстракт упаривают. К сухому остатку прибавляют концентрированную азотную кислоту и на кипящей водяной бане упаривают. Сухой остаток приобретает желтую окраску. После добавления к нему ацетона и этанольного раствора КОН желтая окраска сохраняется.

*УФ-спектры.* Прокаин и прокаинамид интенсивно поглощают в УФ-области спектра.

*Тонкослойная хроматография.* Подвижные фазы: хлороформ – этанол (20 : 1), циклогексан – бензол – диэтиламин (75 : 15 : 10); неподвижная фаза — силикагель; обработка реактивом Драгендорфа.

Количественное определение: УФ-спектрометрия, фотометрия по образованию азокрасителя, ВЭЖХ.

#### **ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОТИАЗИНА (АМИНАЗИН, ЛЕВОМЕПРОМАЗИН). ТОКСИЧНОСТЬ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ**

В медицинской практике применяются более 50 лекарственных средств, содержащих производные фенотиазина. Наряду с отравлениями производными фенотиазина наблюдаются и комбинированные отравления производными фенотиазина и производными барбитуровой кислоты или производными 1,4-бензодиазепина и т. п.

Различают 10-алкилпроизводные, у которых к N10 присоединена группа, состоящая в большинстве случаев из 3 углеродных атомов и диалкиламиногруппы (аминазин, дипразин, левомепромазин), ядро пиперидина (тиоридазин), пиперазина (трифлуоперазин, флуфеназин и др.) и 10-ацилпроизводные — к N10 присоединена ацильная и диалкиламиногруппы (этмозин, этализин) (рис. 33).

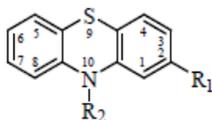


Рис. 33. Производные фенотиазина

*Общая характеристика и токсикологическое значение производных фенотиазина.* Производные фенотиазинов в виде гидрохлоридов представляют собой белые или белые с кремоватым оттенком кристаллические порошки, гигроскопичные, хорошо растворимые в воде, этаноле, хлороформе,

практически нерастворимые в эфире и бензоле. Основания фенотиазинов также хорошо растворимы в этаноле, хлороформе и эфире, плохо — в воде. Константы распределения оснований и хлоридов фенотиазинов в системе хлороформ-вода различаются незначительно (12,3 и 16,6). Производные фенотиазина являются очень лабильными соединениями и легко окисляются кислородом воздуха в процессе хранения и изолирования из биоматериала.

УФ-спектры солей и оснований производных фенотиазина практически идентичны и характеризуются двумя максимумами: 250–260 нм ( $\epsilon = 35000$ ) и 300–315 нм ( $\epsilon = 4500$ ). Некоторое исключение составляют производные фенотиазина, содержащие во втором положении радикалы со свободными  $\pi$ -электронами (левомепромазин и тиоридазин). Спектральные характеристики сульфоксидов (основные метаболиты) в УФ-области более информативны, так как в отличие от нативных соединений они имеют по 3–4 максимума поглощения.

*Аминазин* является одним из основных представителей нейролептиков. Несмотря на появление многочисленных новых нейролептических лекарственных средств, он продолжает широко применяться в медицинской практике. Одной из главных особенностей действия аминазина на центральную нервную систему является относительно сильный седативный эффект. Нарастающее с увеличением дозы аминазина общее успокоение сопровождается угнетением условно-рефлекторной деятельности, уменьшением спонтанной двигательной активности и некоторым расслаблением скелетной мускулатуры; наступает состояние пониженной реактивности к эндогенным и экзогенным стимулам, при больших дозах может развиваться состояние сна. Аминазин усиливает действие снотворных, наркотиков, анальгетиков, местноанестезирующих веществ. Действие противосудорожных средств под влиянием аминазина усиливается, но в отдельных случаях аминазин может вызвать судорожные явления. Аминазин оказывает сильное противорвотное действие и успокаивает икоту, оказывает гипотермическое действие, особенно при искусственном охлаждении организма. В отдельных же случаях у больных при парентеральном введении температура повышается, что связано с влиянием на центры терморегуляции и частично с местным раздражающим действием. Важным свойством аминазина является его блокирующее влияние на центральные адренергические и дофаминергические рецепторы. Он уменьшает или даже полностью устраняет повышение артериального давления и другие эффекты, вызываемые адреналином. Важнейшее свойство аминазина — его антипсихотическое действие и способность влиять на эмоциональную сферу человека. При помощи аминазина удается купировать различные виды психомоторного возбуждения, ослаблять или полностью купировать бред и галлюцинации, уменьшать или снимать страх, тревогу, напряжение у больных психозами и неврозами. Поэтому он широко применяется в психиатрической практике.

*Левомепромазин* обладает фармакологическими свойствами, близкими к аминазину. Он обладает более выраженной способностью потенцировать анальгетики и снотворные лекарственные средства, большим гипотермическим действием, выраженной противогистаминной активностью.

*Тиоридазин* по антипсихотической активности уступает аминазину и левомепромазину. Антипсихотическое действие сочетается с успокаивающим эффектом без выраженной заторможенности, вялости, эмоциональной индифферентности. Оказывает умеренное стимулирующее действие. Наряду с нейролептическим действием оказывает умеренный антидепрессивный эффект.

Наиболее важной особенностью *дипразина* является выраженный противогистаминный эффект. Поэтому он применяется при лечении аллергических заболеваний.

Основным побочным эффектом нейролептиков является паркинсонический синдром (дрожание конечностей, замедленность движений, снижение двигательной активности и др.). Кроме того, в результате применения нейролептиков развивается депрессия, поражаются печень и кровь, наблюдаются эндокринные нарушения. Клиника течения отравлений нейролептиками зависит от возраста, пола, дозы принятого лекарственного средства и не является характерной. При отравлении производными фенотиазина развивается сухость слизистых оболочек, головокружение, нарушение ориентировки, тошнота, тахикардия. Снижается артериальное давление, возникает сердечная недостаточность. Иногда наблюдается возбуждение и судороги. Характерна лабильность температуры тела. Смерть наступает вследствие дыхательной и циркуляторной недостаточности. При пероральном введении производные фенотиазина быстро всасываются из желудочно-кишечного тракта, и их действие проявляется через 30–60 мин, а при парентеральном введении — через 15–20 мин. Максимум концентрации в крови наблюдается через 2–4 ч при пероральном введении и через 1–2 ч — при внутривенном. Производные фенотиазина всасываются преимущественно из кишечника. Гидрофобный характер фенотиазинов способствует взаимодействию их с белками (95–99 % для аминазина). Высокое значение кажущегося объема распределения производных фенотиазина обуславливает их накопление в жировой ткани и в тканях паренхиматозных органов. В печени и почках накапливается значительно больше, чем в мозге. Производные фенотиазина легко проникают через гематоэнцефалический и плацентарный барьеры. Выведение производных фенотиазина осуществляется главным образом через почки в виде метаболитов, отчасти с калом; в неизмененном виде выделяется только около 6 % производных фенотиазина. Аминазин метаболизируется с образованием более 100 метаболитов. Главными метаболитами являются 6-гидроксипроизводное аминазина, дезмонотиламиназин, их сульфоксиды и конъюгаты с глюкуроновой кислотой.

Основными путями метаболизма дипразина, левомепромазина и тиопридазина является ароматическое гидроксирование с образованием 3- и 6-гидроксипроизводных, N-, O-, S-деметилирование, образование сульфоксидов и конъюгатов с глюкуроновой кислотой.

При отравлении производными фенотиазина больному необходимо придать горизонтальное положение, предохранить его от значительных температурных влияний. Яд удаляют промыванием желудка (с активированным углем) или вызыванием рвоты. Затем проводят симптоматическое лечение.

Особенность изолирования производных фенотиазина заключается в том, что водой из биоматериала производные фенотиазина извлекаются незначительно (15 % по методу Васильевой и около 2 % по методу Крамаренко), что, возможно, связано с их высокой гидрофобностью и, как следствие, прочным связыванием с белками. Поэтому значительные количества производных фенотиазина можно извлечь этанолом или ацетонитрилом, которые разрушают связь с белком. В связи с тем, что соли производных фенотиазина растворяются в хлороформе, но не растворяются в эфире, для очистки извлечения от липофильных примесей применяют эфир. В основе современного метода изолирования фенотиазинов из биоматериала лежит модифицированный Е. М. Саломатиным метод Стаса–Отто. Выход анализируемых соединений составляет около 50 %. Производные фенотиазина изолируют из биоматериала (желудок, печень, почки) спиртом, подкисленным щавелевой кислотой. Эфиром экстрагируют примеси из кислой среды, водную фазу подщелачивают до  $\text{pH} = 13$  и экстрагируют производные фенотиазина (эфиром). Вместо спирта можно использовать ацетонитрил, что позволяет ускорить в 5–6 раз изолирование. Для обнаружения производных фенотиазина в моче и крови 2–5 мл их подщелачивают 50%-ном  $\text{NaOH}$  до  $\text{pH} = 13$  и кипятят смесь 10 мин. Полученный гидролизат охлаждают и экстрагируют *n*-гептаном, содержащим 3 % изоамилового спирта. Гептановые извлечения объединяют и промывают водой, насыщенной гептаном, после чего исследуют.

В качестве предварительного теста при обнаружении фенотиазинов в моче используют реактив FPN (смесь 5%-ного раствора  $\text{FeCl}_3$ , 20%-ного раствора  $\text{HClO}_4$  и 50%-ного раствора  $\text{HNO}_3$  в соотношении 5 : 45 : 50). При этом 1 мл мочи смешивают с 1 мл реактива и наблюдают красное или краснофиолетовое окрашивание (реакцию дают также салицилаты и желчные кислоты). Второй предварительной пробой на аминазин является реакция с реактивом, содержащим серную кислоту и хлорид железа (III): к 1 мл мочи прибавляют 1 мл реактива, состоящего из 80 мл 10%-ного раствора серной кислоты и 20 мл 5%-ного раствора хлорида железа (III). При наличии аминазина появляется розовая окраска.

*Обнаружение производных фенотиазина.* Наиболее чувствительными осадительными реактивами для обнаружения производных фенотиазина являются реактивы Драгендорфа и фосфорномолибденовая кислота.

Методика выполнения реакции: 0,5 мл исследуемой органической фазы упаривают на предметном стекле досуха, сухой остаток растворяют в 1 капле 0,1 М раствора хлороводородной кислоты, прибавляют каплю общеалкалоидного реактива. При наличии производных фенотиазина образуются осадки характерной окраски и с характерной формой кристаллов.

Реакции окрашивания. В основе реакций окрашивания лежат такие процессы, как дегидрирование в присутствии кислот (концентрированная серная кислота), каталитическое окисление (смесь «хлорная кислота и нитрит натрия», реактив Фреде, реактив Манделина), конденсация с альдегидами в присутствии водоотнимающих средств (реактив Марки); обнаруживают с помощью цветных реакций с окислителями — он дает зеленую окраску с хлоридом железа (III)  $\text{FeCl}_3$  и красную — с  $\text{H}_2\text{O}_2$  в кислой среде.

*УФ-спектрометрия.* В УФ-спектрах производных фенотиазина наблюдается две полосы: 250–260 нм и 300–315 нм. Если производные во втором положении не содержат заместителя или содержат метокси-группу (дипразин, левомепромазин) максимумы наблюдаются при 250–254 нм; при наличии атома хлора во втором положении (аминазин, эта-перазин, френолон) — при 255–256 нм; если во втором положении имеется метилмеркаптогруппа (тиоридазин), максимум наблюдается при 263 нм.

УФ-спектры сульфоксидов, образующихся при окислении производных фенотиазина, имеют 4 полосы поглощения. Сульфоксиды получают окислением соответствующих фенотиозинов смесью  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{CH}_3\text{COOH}$  при 60 °С. Спектрометрия производных фенотиазина и их сульфоксидов в УФ-области позволяет идентифицировать их и дифференцировать от других групп токсикологически важных веществ. Например, для УФ-спектра сульфоксида аминазина характерны максимумы полос поглощения при 238–240, 273–274, 298–300 и 340–341 нм, а для сульфоксида дипразина — при 232–233, 267–268, 293 и 336–337 нм. Максимумы полос поглощения сульфоксидов производных фенотиазина зависят от природы заместителей во 2-м и 10-м положениях фенотиозинового ядра.

*Тонкослойная хроматография.* В качестве подвижных фаз для разделения и обнаружения производных фенотиазина применяются различные системы:

- 1) этилацетат – ацетон – 25%-ный раствор аммиака (50 : 45 : 1);
- 2) этилацетат – метанол – 25%-ный раствор аммиака (17 : 12 : 1);
- 3) бензол – диоксан – 25%-ный раствор аммиака (75 : 20 : 5);
- 4) толуол – ацетон – этанол – 25%-ный раствор аммиака (45 : 47,5 : 7,5 : 2,5);

- 5) метанол – н-бутанол (6 : 4);
- 6) диоксан – хлороформ – ацетон – 25%-ный раствор аммиака (47,5 : 45 : 5 : 2,5) и другие.

Для проявления хроматограмм используют смесь 50%-ного раствора серной кислоты и этанола (1 : 1) или реактив Марки. Если ТСХ не позволяет идентифицировать производные фенотиазина, то используют ГЖХ.

*Количественное определение.* Широкое применение ВЭЖХ при определении производных фенотиазина обусловлено возможностью УФ-детектирования (фенотиазины поглощают при 245–260 нм). Для газохроматографического определения производных фенотиазина используются среднеполярные неполярные жидкие фазы (например, OV-225) (содержит 25 % метильных, фенильных, цианопропильных групп), стеклянные микроколонки при 200–250 °С, температура инжектора — 250–300 °С. Для регистрации наиболее подходящими являются селективные азотно-фосфорные и электронно-захватные детекторы. Внутренний стандарт — имизин. Методы ГЖХ и ВЭЖХ позволяют одновременно проводить обнаружение и количественное определение производных фенотиазина.

Основным недостатком предложенных методик спектрометрического определения (в УФ и видимой областях спектра) производных фенотиазина является возможность обугливания соэкстрактивных веществ. Поэтому требуется высокая степень очистки от соэкстрактивных веществ. Применение в качестве окислителя 1 М раствора мышьяковой кислоты в среде 18%-ного раствора хлороводородной кислоты исключает возможность обугливания соэкстрактивных веществ в отличие от методов с применением концентрированной серной кислоты и реактива Манделина.

**ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ  
НАРКОТИЧЕСКОГО ОПЬЯНЕНИЯ. НАРКОТИЧЕСКИЕ АНАЛЬГЕТИКИ,  
ПРОИЗВОДНЫЕ ФЕНАНТРЕНИЗОХИНОЛИНА (МОРФИН, КОДЕИН) —  
ТОКСИЧНОСТЬ, МЕТАБОЛИЗМ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ  
И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ**

Вещества, близкие по строению к морфину, относят к опиатам (морфин, кодеин, героин, 6-моноацетилморфин — основной метаболит героина). Опиоиды — вещества, подобные на морфин по механизму действия (взаимодействуют с опиоидными рецепторами), но имеющие иную химическую структуру (метадон, фентанил, промедол и др.) (рис. 34).

**Производные фенантренизохинолина.** Производные фенантренизохинолина (морфин и кодеин) являются алкалоидами, содержащимися в опиине — продукте, выделяемом из надрезанных незрелых головок опийного мака. Алкалоиды (их более 20) в опиине находятся в виде солей меконовой, серной

и молочной кислот. Содержание алкалоидов колеблется от 2–3 до 15–20 % в зависимости от сорта растения, условий произрастания. Гидрохлориды алкалоидов опия входят в состав омнопона (пантопон): около 50 % морфина и 32–35 % других алкалоидов. При исследовании биологического материала на наличие омнопона определяют морфин, кодеин, а при исследовании биоматериала на наличие опия определяют опиинные алкалоиды, меконовую кислоту и меконин, который образуется из наркотина при изолировании.

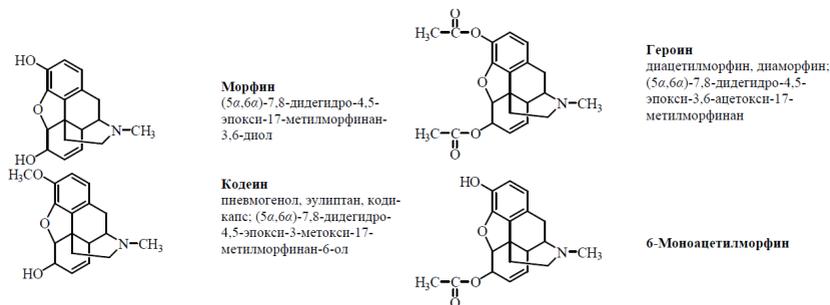


Рис. 34. Производные фенантренизохинолина

Вещество, выделенное в 1803 г. из опия, Сертюрнер назвал морфином в честь греческого бога сна Морфея. Через 150 лет был осуществлен синтез морфина, который оказался дорогостоящим, поэтому морфин получают из опия-сырца.

Содержание кодеина в опиине невелико (0,2–2,0 %), поэтому его получают метилированием морфина. Героин является полусинтетическим аналогом морфина, получаемым путем ацетилирования морфина. В настоящее время большая часть героина производится в подпольных лабораториях (запрещен к использованию в 1924 г.). Поэтому продаваемый на черном рынке героин загрязнен уксусной кислотой, органическими растворителями и другими продуктами, используемыми в технологической схеме производства героина.

*Общая характеристика и токсикологическое значение производных фенантренизохинолина.* По физическим свойствам производные фенантренизохинолина (морфинана) представляют собой белые кристаллические порошки. Соли производных морфинана хорошо растворимы в воде (за исключением кодеина фосфата, который медленно растворим в воде). В этаноле и хлороформе хорошо растворимо основание кодеина и героина, основание морфина мало растворяется в воде, в эфире, хлороформе, бензоле.

Благодаря наличию третичного атома азота, морфин и его аналоги обладают основными свойствами. Морфин имеет в молекуле свободный фенольный

гидроксил, обуславливающий кислотные свойства. Поэтому морфин является амфолитом.

**Морфин** оказывает сильное болеутоляющее действие. Понижая возбудимость болевых центров, он оказывает также противошоковое действие при травмах. В больших дозах вызывает снотворный эффект, который более выражен при нарушениях сна, связанных с болевыми ощущениями. Морфин вызывает выраженную эйфорию, и при его повторном применении быстро развивается зависимость (морфинизм). Морфин провоцирует тормозящее влияние на условные рефлексы, усиливает действие наркотических, снотворных и местноанестезирующих средств. Он понижает возбудимость кашлевого центра, угнетает дыхательный центр. Морфин вызывает также возбуждение центра блуждающих нервов с появлением брадикардии. В результате активации нейронов глазодвигательных нервов морфин вызывает у людей миоз. Рвота, которая может наблюдаться при применении морфина, связана с возбуждением хеморецепторных пусковых («триггерных») зон продолговатого мозга. Морфин угнетает рвотный центр, поэтому повторные дозы морфина и рвотные средства, вводимые после морфина, рвоты не вызывают. Под влиянием морфина повышается тонус гладкой мускулатуры внутренних органов. Наблюдается повышение тонуса сфинктеров желудочно-кишечного тракта, тонуса мускулатуры желудка, тонкого и толстого отделов кишечника, ослабляется перистальтика, замедляется продвижение пищевых масс, что приводит к развитию запора. Наблюдается спазм мускулатуры желчевыводящих путей, усиливается тонус сфинктеров мочевого пузыря. В течение суток с мочой выводится 80–90 % морфина, в неизменном виде — 3–10 %. Применяется морфин преимущественно для купирования боли.

Основные пути метаболизма морфина — метилирование с образованием кодеина, глюкуронизация с образованием морфин-3- и морфин-6-глюкуронидов и сульфатов, N-деметилирование с образованием норморфина. Накапливается морфин в печени, почках, мозге, легких. Обнаруживается в волосах и ногтях наркоманов, которые длительное время применяли морфин.

**Кодеин** по действию близок к морфину, однако болеутоляющие свойства у него выражены слабее, сильнее выражена способность уменьшать возбудимость противокашлевого центра, в меньшей степени, чем морфин, он угнетает дыхание, меньше тормозит деятельность желудочно-кишечного тракта. Применяется кодеин преимущественно как противокашлевое лекарственное средство.

Кодеин метаболизируется с образованием морфина, который подвергается дальнейшему метаболизму, норкодеина, 6-О-глюкуронида кодеина. В течение 20 мин в моче обнаруживаются в основном конъюгаты кодеина, а затем конъюгаты морфина.

**Героин** (диацетилморфин) более липофилен, чем морфин. Это способствует быстрому всасыванию и легкому прохождению героина через

гематоэнцефалический барьер. Основные способы введения героина — вдыхание паров, курение, внутривенное введение и ингаляция. «Уличный» героин обычно содержит около 5 % героина, остальное — барбитураты, кофеин, производные пиразола, бензодиазепина, органические кислоты и различные наполнители (глюкоза, крахмал, хлорид натрия и др.). Период полувыведения героина составляет 3–5 мин (внутривенно) и 1–1,5 ч (перорально).

В крови героин быстро метаболизируется до 6-О-ацетилморфина, затем до морфина, который образует морфин-6-глюкуронид и морфин-3-глюкуронид. Обнаружены также норморфин, его глюкуронид, 6-ацетил-3-глюкуронид, норкодеин. Около 80 % принятой дозы выделяется с мочой в течение первых суток. *6-моноацетилморфин* является основным метаболитом героина и служит маркером его употребления.

На основании результатов исследования биоматериала на содержание производных фенантренизохинолина и их метаболитов можно сделать выводы о лекарственном и нелекарственном употреблении опиатов. Наличие морфина или его конъюгатов в моче указывает на использование морфина или злоупотребление героином одним или двумя днями ранее. Наличие в моче одновременно морфина и кодеина может свидетельствовать о лекарственном употреблении кодеина. При использовании терапевтических доз кодеина (до 30 мг) морфин и кодеин детектируются только в течение нескольких часов после употребления. Другие метаболиты обнаруживаются через 2–3 дня после употребления. Низкие концентрации морфина и кодеина в моче не позволяют сделать однозначный вывод о том, какой опиат был употреблен (морфин, кодеин или героин). Доказательством употребления героина является обнаружение его основного метаболита — *6-О-ацетилморфина*, который образуется только при метаболизме героина.

Центральное фармакологическое действие героина заключается в седативном эффекте, снижении уровня сознания, ощущении тепла, сонливости и эйфории. В настоящее время героин в качестве лекарственного средства не применяется.

При отравлении алкалоидами опия и их синтетическими аналогами развивается гиперемия лица, головокружение, ощущение жары и жажды, тошнота. Затем проявляется бледность кожи, брадикардия, гипотермия. Больной впадает в кому, для которой характерно поверхностное нерегулярное дыхание, сужение зрачков, цианоз, арефлексия. В результате спазма сфинктеров происходит переполнение мочевого пузыря и кишечника. Летальный исход наступает вследствие прекращения дыхания.

Поступление в организм производных фенантренизохинолина происходит через желудочно-кишечный тракт или парентерально. Выведение из организма происходит главным образом путем метаболизма в печени и выведения через почки, отчасти через кишечник.

При отравлении алкалоидами опия и их синтетическими аналогами промывают желудок 0,05–0,1%-ным раствором перманганата калия, затем назначают обильное питье с добавлением касторового масла или сульфата натрия с активированным углем.

*Изолирование и определение* производных фенантренизохинолина. Изолирование алкалоидов опия и их производных проводят частными и общими методами изолирования в зависимости от вида анализа и состояния исследуемого объекта. Экстракцию производных морфинана из водной вытяжки проводят при рН 8–10.

Морфин является амфолитом, поэтому при  $\text{pH} < 8$  и  $\text{pH} > 10$  он находится в ионизированном состоянии. Хотя при значении рН 8–10 происходит образование максимального количества неионизированной формы морфина, однако при этих значениях рН хлороформом экстрагируется 20–30 % морфина. Изоамиловый спирт при рН 8,5–9,5 экстрагирует 70–80 % морфина. В настоящее время в качестве экстрагента в основном используют смесь, состоящую из полярного и неполярного органического растворителя (хлороформ – бутанол (9 : 1), хлороформ – изопропанол (9 : 1), хлороформ – этанол (2 : 1)).

В моче основные количества опийных алкалоидов находятся в виде конъюгатов. Поэтому образец мочи (20 мл) подвергают кислотному гидролизу (4 мл концентрированной HCl) на водяной бане в течение 15 мин. Раствор переносят в стакан, прибавляют твердый гидрокарбонат натрия до рН 8,5–9,0 и экстрагируют (дважды по 10 мл) смесью хлороформ-изопропанол (9 : 1). Экстракты объединяют, фильтруют через безводный  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривают досуха в токе теплого воздуха или азота.

Изолирование опиатов (морфин, кодеин) из крови несколько отличается. После кислотного гидролиза осаждают белки с помощью трихлоруксусной кислоты, центрифугируют и водный супернатант очищают от липидов экстракцией гексаном. Кислую водную фазу отделяют, с помощью карбонатного буфера создают рН 9,4, экстрагируют опиаты смесью хлороформ – н-бутанол (9 : 1) и центрифугируют. Исследуемую кровь хранят в замороженном состоянии при  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ , а исследуемые экстракты — при температуре не выше  $4\text{ }^\circ\text{C}$ . Применение фторида натрия в качестве консерванта способствует сохранности морфина в крови в течение 2 лет. Метод ГХ-МС позволяет определять морфин и кодеин в волосах: 10–30 мг волос промывают  $5 \times 1$  мл метанолом (этанолом) и водой. Образец высушивают и измельчают в ступке с добавлением битого стекла и 1 мл 6 М HCl. Гомогенат выдерживают при  $80\text{ }^\circ\text{C}$  в течение 30–45 мин, в охлажденную смесь добавляют 0,5–1 мл воды и 25%-ный раствор аммиака до рН 10. Экстракцию проводят  $4 \times 2$  мл смесью хлороформ – изопропанол (9 : 1). Органическую фазу сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривают в токе воздуха.

*Реакция с общеалкалоидными осадительными реактивами.* Морфин, кодеин и героин содержат в молекуле третичный атом азота и вступают в реакцию с общеалкалоидными реактивами, такими, как реактив Драгендорфа, Майера, Бушарда, соль Рейнеке с образованием характерных осадков. *Методика выполнения реакции:* 0,5 мл исследуемой органической фазы упаривают на предметном стекле досуха, сухой остаток растворяют в 1 капле 0,1 М раствора хлороводородной кислоты, прибавляют каплю общеалкалоидного реактива. При наличии производных фенантренизохинолина образуются осадки характерной окраски и с характерной формой кристаллов.

*Реакция морфина и кодеина с реактивами Эрдмана, Манделина, Фреде, Марки.* Морфин и кодеин дают цветные реакции с реактивом Марки (концентрированная серная кислота, содержащая формальдегид), реактивом Фреде (концентрированная серная кислота, содержащая молибденовую кислоту), реактивом Манделина (концентрированная серная кислота, содержащая ванадиевую кислоту).

*При взаимодействии морфина с реактивом Фреде* появляется фиолетовое окрашивание, переходящее в синее, а затем в зеленое. Чувствительность реакции — 0,05 мкг морфина. Кодеин в этих условиях дает продукт фиолетового цвета. При взаимодействии морфина с реактивом Марки развивается пурпурное окрашивание, переходящее в фиолетовое. Кодеин в таких условиях дает сине-фиолетовую окраску. Чувствительность реакции — 0,05 мкг морфина (кодеина). *Методика выполнения реакции:* несколько капель исследуемого хлороформного экстракта упаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 1 каплю реактива Эрдмана.

*Реакция опиатов с концентрированной азотной кислотой.* С концентрированной азотной кислотой опиаты образуют внутримолекулярные комплексы с характерной окраской. Применение теста с азотной кислотой позволяет предположительно отличить героин от морфина и кодеина. Медленное изменение желтой окраски до светло-зеленой указывает на возможное присутствие героина; быстрый переход оранжевой окраски в красную, а затем медленно в желтую — на присутствие морфина; медленный переход оранжевой окраски в желтую — на присутствие кодеина.

*Реакция морфина с хлоридом железа (III).* Наличие фенольного гидроксильного остатка в молекуле морфина способствует образованию комплекса с хлоридом железа (III). Эта реакция позволяет отличить морфин от кодеина и героина. *Методика выполнения реакции:* в фарфоровую чашку вносят несколько капель исследуемого экстракта и упаривают при комнатной температуре досуха. К сухому остатку прибавляют 1–2 капли свежеприготовленного 2%-ного раствора хлорида железа (III). При наличии морфина появляется синяя окраска.

*Реакция образования берлинской лазури.* Благодаря наличию фенольного гидроксильного остатка морфин способен легко окисляться. При действии на него

в кислой среде гексацианоферрата (III) калия морфин окисляется в дегидроморфин (псевдоморфин), а гексациано-феррат (III) калия восстанавливается в гексацианоферрат (II) калия. Последний вступает в реакцию с хлоридом железа (III) с образованием берлинской лазури:  $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$  или  $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ . *Методика выполнения реакции:* к водному раствору исследуемого вещества прибавляют несколько капель смеси растворов гексацианоферрата (III) калия и хлорида железа (III). При наличии морфина появляется синяя окраска раствора или выпадает осадок синего цвета.

*Реакцию с гексацианоферратом (III) калия* применяют для обнаружения морфина в лекарственных смесях и в хорошо очищенных вытяжках из биологического материала, так как мешают примеси из биоматериала.

Характерной реакцией для обнаружения морфина является *реакция с раствором нитрита натрия* в кислой среде при последующем прибавлении раствора аммиака. Появление окраски раствора обусловлено образованием окрашенной аммонийной соли. Этой реакции не мешает кодеин, так как он является метиловым эфиром морфина и не вступает в реакцию с натрия нитритом. При обнаружении морфина, кодеина и подозрении на отравление опиумом проводят исследование биоматериала (органы трупа, рвотные массы и др.) на меконовую кислоту. Изолирование проводят спиртом, подкисленным хлороводородной кислотой. Полученный раствор выпаривают досуха, остаток растворяют в воде, фильтруют и фильтрат взбалтывают с бензолом. Бензольный экстракт используют для дальнейшего исследования. К водной фазе прибавляют избыток оксида магния и нагревают. К слабо подкисленному (HCl) фильтрату прибавляют 1%-ный раствор хлорида железа (III) — при наличии меконовой кислоты появляется кроваво-красное окрашивание. Такой способ позволяет обнаружить меконовую кислоту при наличии 0,05 г опия. В опиуме в значительных количествах (до 10 %) содержится наркотин, который при изолировании переходит в меконин, экстрагируемый бензолом. Для обнаружения меконина бензольный экстракт выпаривают, к сухому остатку прибавляют несколько капель концентрированной серной кислоты. Появление зеленого окрашивания, переходящего в красное, указывает на наличие меконина.

Обнаружение производных фенантренизохинолина *методом ТСХ* проводят на хроматографических пластинках в системах: хлороформ – гексан – триэтиламин (9 : 1 : 1), бензол – этанол – триэтиламин (9 : 1 : 1), эфир – ацетон – 25%-ный раствор аммиака (40 : 20 : 2), хлороформ – ацетон – диэтиламин (50 : 30 : 2), этилацетат – метанол – 25%-ный раствор аммиака (17 : 2 : 1). Проявление хроматографических пятен проводят раствором иод-платината калия, реактивом Драгендорфа, реактивом Марки. Предложены и другие способы обнаружения производных фенантренизохинолина методом ТСХ.

*УФ и ИК-спектроскопия.* Методы газовой хроматографии и ВЭЖХ используются для идентификации и количественного определения производных морфина в биологических объектах. Выделение опиатов из биологических жидкостей проводят методами ЖЖЭ или ТФЭ после предварительного гидролиза конъюгатов. В качестве детекторов при газохроматографическом определении опиатов применяют ДИП, ЭЗД, МС-детектор. Иногда используют прием дериватизации (триметилсилилирование или с трифторуксусным ангидридом), так как при кислотном гидролизе разрушаются метаболиты героина.

В качестве подвижной фазы при ВЭЖХ-определении опиатов используют различные смеси. Например, смесь 0,01 М водного раствора ацетата аммония и ацетонитрила (65 : 35) или смесь 0,05 М раствора двузамещенного фосфата аммония и метанола (60 : 40). Хроматографическая колонка заполнена обращенно-фазовым сорбентом «С-18».

**ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ  
НАРКОТИЧЕСКОГО ОПЬЯНЕНИЯ. ФЕНИЛАЛКИЛАМИНЫ (ЭФЕДРИН,  
АМФЕТАМИН, МЕТАМФЕТАМИН) — ТОКСИЧНОСТЬ, МЕТАБОЛИЗМ,  
ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ**

Различают фенилалкиламины (ФАА) природного и синтетического происхождения. Природные ФАА содержатся в эфедре (эфедрин), кате съедобном (катин и катинон), пейоте (мескалин). Синтетические ФАА в настоящее время получили широкое распространение среди молодежи, так как вызывают психическое состояние, при котором обостряются чувства и повышается эмоциональная свобода. Широкое распространение получили около 20 производных амфетамина и метамфетамина.

**Эфедрин** является алкалоидом, содержащимся в растениях семейства эфедровых. Гидрохлорид эфедрина представляет собой белый кристаллический порошок, хорошо растворимый в воде, этаноле, практически нерастворимый в эфире. Основание эфедрина растворимо в воде, эфире, хлороформе и этаноле. По фармакологическим свойствам эфедрин близок к адреналину, стимулирует  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторы. Вызывает сужение сосудов, повышение артериального давления, расширение бронхов, торможение перистальтики кишечника, расширение зрачков, повышение содержания сахара в крови. Сравнительно с адреналином эфедрин оказывает менее резкое, но значительно более продолжительное действие. В связи с большей стойкостью эфедрин эффективен при введении внутрь и удобен для применения при курсовом лечении (например, при аллергических заболеваниях). Эфедрин оказывает возбуждающее действие на центральную нервную систему, повышает возбудимость дыхательного центра. При отравлении наркотическими

и снотворными средствами оказывает пробуждающее действие. Применяют эфедрин при бронхиальной астме, сенной лихорадке, крапивнице, сывороточной болезни и других аллергических заболеваниях, для сужения сосудов и уменьшения воспалительных явлений при ринитах, как средство для повышения артериального давления при оперативных вмешательствах (особенно при спинномозговой анестезии), при травмах, гипотонической болезни.

**Псевдоэфедрин** — алкалоид, выделяемый из побегов эфедры хвощевой, в которых содержится совместно с эфедрином. По химической структуре является гидрохлоридом псевдоэфедрина. Бесцветные игольчатые кристаллы или белый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом, легко растворим в воде и этаноле, умеренно — в хлороформе. Фармакологическое действие — адреномиметическое, антиконгестивное, бронходилатирующее, сосудосуживающее. Применение псевдоэфедрина: бронхиальная астма (легкой и средней тяжести), обструктивный бронхит, отечность слизистой оболочки носа, околоносовых пазух и евстахиевой трубы при рините, синусите, аэроотите, среднем отите крупе, остром трахеобронхите, в том числе в качестве вспомогательного средства при комбинированной терапии с анальгезирующими, антигистаминными, противокашлевыми, отхаркивающими средствами и антибиотиками.

**Амфетамин и метамфетамин** (синтезированы в 1887 г. и 1919 г. соответственно) являются сильными стимуляторами ЦНС. Основание амфетамина — бесцветная, подвижная, слаболетучая жидкость. Поглощает  $\text{CO}_2$  из воздуха и переходит в летучую соль — карбонат. Соли амфетамина представляют собой белые кристаллические порошки, растворимые в воде и спиртах. Не растворимы в хлороформе или эфире. Гидрохлорид амфетамина сильно гигроскопичен. Амфетамин обладает свойством стереоизомерии. Соли метамфетамина представляют собой белые кристаллические вещества, хорошо растворимые в воде, этаноле, хлороформе, практически не растворимы в эфире.

Стимулирующее действие препаратов связано в значительной мере с их влиянием на стволовую часть мозга. В нейрохимическом механизме действия амфетамина и метамфетамина большую роль играет его способность вызывать высвобождение из гранул пресинаптических нервных окончаний норадреналина и дофамина и стимулировать таким образом центральные норадренергические и в большей степени дофаминергические рецепторы. Они оказывают также небольшое ингибирующее влияние на активность моноаминоксидазы и тормозят обратный нейрональный захват дофамина и норадреналина. Амфетамины обладают также периферической адренергической активностью (стимулируют  $\alpha$  и  $\beta$ -адренорецепторы); они вызывают сужение периферических сосудов, усиление сокращений сердца, повышение артериального давления, расслабление мускулатуры бронхов, расширение зрачков.

Эти эффекты более продолжительны, но менее выражены, чем у адреналина и эфедрина. При правильном дозировании амфетамины, усиливая процессы возбуждения в ЦНС, уменьшают чувство утомления, оказывают общее возбуждающее влияние, выражающееся в улучшении настроения, ощущении прилива сил, бодрости, повышении работоспособности, снижении потребности во сне. Ранее амфетамины применялись для борьбы со сном во время несения боевых дежурств. В настоящее время широко применяются наркоманами.

**Эфедрон** — продукт деятельности «уличных» наркоманов, он быстро вызывает слабоумие. Его считают плохим вариантом амфетамина. Метилendioксипроизводные фенилалкиламина (МДА, МДМА) вызывают психическую зависимость средней и высокой силы и распространяются под названием «экстази». Диметоксипроизводные ФАА (ДОБ, ДОХ) оказывают галлюциногенное действие, превосходящее в 100 раз действие 3,4-метилendioксиамфетамина. По наркотическому эффекту они приближаются к ЛСД (диэтиламид d-лизергиновой кислоты). При отравлении производными фенилалкиламинов наблюдается возбуждение, затем тошнота, рвота, сердцебиение, потоотделение, бледность, подъем артериального давления. В тяжелых случаях артериальное давление, напротив, падает, наступает мерцание желудочков сердца, коллапс, отек легких, судороги, потеря сознания, смерть. Поступление в организм производных фенилалкиламина происходит через желудочно-кишечный тракт, органы дыхания и инъекционным путем. Из места введения препараты быстро всасываются и немедленно начинают оказывать действие.

Гидроксилированные метаболиты с глюкуроновой и серной кислотами образуют конъюгаты. Выведение фенилалкиламинов и их метаболитов осуществляется преимущественно с мочой, причем при кислом значении рН мочи максимален выход вещества в неизменном виде, а при щелочном увеличивается выход метаболитов и снижается период полувыведения. При отравлении производными фенилалкиламинов больному необходимо придать горизонтальное положение для разгрузки кровообращения и предупреждения ишемии головного мозга, следует поддерживать жизненно важные функции организма. После приема токсичной дозы внутрь необходимо вызвать рвоту и промыть желудок, а потом назначить сульфат натрия и активированный уголь.

*Изолирование и определение производных фенилалкиламинов.* Выбор метода изолирования зависит от вида объекта исследования (органы трупа или биожидкости). При исследовании трупных органов изолирование ФАА проводят полярными растворителями (подкисленным спиртом или подкисленной водой). Жидкость-жидкостная экстракция ФАА проводится хлороформом, эфиром или толуолом из щелочной среды (рН 8–10 при общем анализе и при рН = 12 при направленном анализе).

### **Обнаружение производных фенилалкиламина:**

1. *Реакция эфедрина с реактивом Драгендорфа.* Эфедрин образует характерные кристаллы с общеалкалоидными реактивами. *Методика выполнения реакции:* 0,5 мл исследуемой органической фазы упаривают на предметном стекле досуха, сухой остаток растворяют в 1 капле 0,1 М раствора хлороводородной кислоты, прибавляют каплю реактива Драгендорфа. При наличии эфедрина образуется осадок характерной окраски и с характерной формой кристаллов. Чувствительность реакции — 0,5 мкг эфедрина.

2. *Реакции фенилалкиламинов с 2,4-динитрохлорбензолом.* Эфедрин и другие соединения, имеющие ОН-группу в  $\alpha$ -положении и аминогруппу в  $\beta$ -положении по отношению к ароматическому кольцу, при нагревании претерпевают гидраминное расщепление. При этом образуются фенилэтилкетон и амин. Последний при реакции с 2,4-динитрохлорбензолом образует соединение желтого цвета, экстрагирующееся хлороформом. *Методика выполнения реакции:* к 1–2 каплям исследуемого раствора прибавляют каплю 5 М раствора NaOH и каплю 5%-ного спиртового раствора 2,4-динитрохлорбензола, нагревают в течение 5 минут на водяной бане. При появлении желто-коричневой окраски к охлажденному раствору прибавляют 2–5 капель хлороформа и взбалтывают — наблюдают желтую окраску хлороформного слоя. Чувствительность реакции 5 мкг эфедрина.

3. *Реакция эфедрина с сульфатом меди и сероуглеродом.* При взаимодействии эфедрина с сероуглеродом и щелочным раствором сульфата меди образуется производное дитиокарбаминной кислоты, растворимое в бензоле. *Методика выполнения реакции:* в пробирку вносят каплю исследуемого раствора, подкисленного уксусной кислотой, прибавляют каплю 5%-ного раствора сульфата меди (II) и раствор аммиака до щелочной реакции. Затем к полученному раствору прибавляют 2 капли смеси сероуглерода и бензола (1 : 3), взбалтывают. При наличии эфедрина бензольный слой приобретает коричневую или желтую окраску. Чувствительность реакции — 2 мкг эфедрина.

4. *Реакции фенилалкиламинов с реактивами окрашивания.* При проведении реакций с реактивами окрашивания на предметное стекло помещают исследуемый раствор, прибавляют соответствующий реактив и через 1–2 мин наблюдают аналитический эффект. Если реактив двухкомпонентный, то последовательно прибавляют первый и второй компоненты.

*УФ и ИК-спектрометрия* основана на исследовании спектральных характеристик анализируемых растворов.

*Тонкослойная хроматография.* В качестве подвижных фаз используют:

- 1) бензол – этанол – диэтиламин (9 : 1 : 1);
- 2) толуол – этанол – триэтиламин (9 : 1 : 1);
- 3) хлороформ – ацетон – этанол – 25%-ный раствор аммиака (20 : 20 : 3 : 1).

Неподвижная фаза — силикагель. Для проявления используют свежеприготовленный раствор нингидрина в ацетоне, реактив Драгендорфа. ГХ-МС и ВЭЖХ используют для подтверждения результатов, полученных химическим методом и ТСХ. Прием дериватизации фенилалкиламинов (с трифторуксусным ангидридом) значительно улучшает результаты анализа, полученные методами ГХ и ГХ-МС. При определении ФАА в моче методом ВЭЖХ изолирование ФАА проводят экстракцией бензолом из растворов с  $\text{pH} = 11$  (используют 5%-ный раствор гидроксида натрия). Затем бензольный экстракт упаривают в токе холодного воздуха. Сухой экстракт растворяют в подвижной фазе (смесь водного 0,2 М раствора ортофосфорной кислоты, метанола и диэтиламина в соотношении 75 : 20 : 1). Добавление диэтиламина улучшает форму пика и позволяет сократить время анализа. Используется хроматографическая колонка, заполненная обращеннофазным сорбентом «С-18». Идентификация фенилалкиламинов производится сопоставлением времени (объема) удерживания и коэффициентов емкости определяемого компонента и образца сравнения (эталонный раствор) индивидуальных фенилалкиламинов, сравнением УФ-спектров предполагаемого компонента и образца сравнения. Значительное различие коэффициентов молярного поглощения эфедрона и других ФАА при 250 нм позволяет проводить селективный анализ эфедрона в смеси с другими ФАА. Детектирование проводят при двух длинах волн: 210 и 250 нм. Если при 210 нм детектируются все ФАА, то при 250 нм наблюдается селективная чувствительность спектрофотометрического детектора к эфедрону и практически полное отсутствие чувствительности к сопутствующим компонентам.

Количественное определение: ГЖХ, ВЭЖХ.

**ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ  
НАРКОТИЧЕСКОГО ОПЬЯНЕНИЯ. НАРКОТИЧЕСКИЕ АНАЛЬГЕТИКИ,  
ПРОИЗВОДНЫЕ ФЕНИЛПИПЕРИДИНА (ФЕНТАНИЛ, ТРАМАДОЛ) —  
ТОКСИЧНОСТЬ, МЕТАБОЛИЗМ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ  
И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ**

Вещества, близкие по строению к морфину, относят к опиатам (морфин, кодеин, героин, 6-моноацетилморфин — основной метаболит героина). Опиоиды — вещества, подобные на морфин по механизму действия (взаимодействуют с опиоидными рецепторами), но имеющие иную химическую структуру (метадон, фентанил, промедол и др.).

**Фентанил** (N-фенил-N[1-(2-фенилэтил)-4-(1-фенэтил)-4-пиперидинил]про-пионамид) активнее (в 10 раз) героина, отличается коротким действием (до 30 мин). Для аналогов фентанила характерно более сильное обезболивающее действие по сравнению с фentanилом (рис. 35). Различают аналоги фентанила короткого действия и длительного (до 48 ч для лoфентанила).

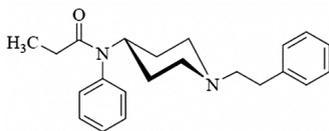


Рис. 35. Фентанил

*Метаболизм фентанила* происходит преимущественно в печени. Около 75 % выводится с мочой преимущественно в виде метаболитов, менее 10 % — в неизменном виде. Около 9 % выводится с фекалиями главным образом в виде метаболитов.

Фентанил превосходит морфин по анальгетической активности в 100 раз. Данное лекарственное средство (вместе с дроперидолом) применяются для нейролептаналгезии. Молекула фентанила значительно более гидрофобна ( $\lg P = 2,3$ ), чем молекула морфина ( $\lg P = -0,1$ ). Данный анальгетик хорошо всасывается через кожу, поэтому с середины 1990-х формой выпуска фентанила являются также трансдермальные терапевтические системы (Дюрогезик и др.), представляющие собой пластырь, содержащий резервуар для лекарственного средства, изготовленный из водного геля на основе гидроксиэтилцеллюлозы, и специальную мембрану, контролирующую высвобождение фентанила. Подобные лекарственные средства используют для купирования сильного хронического болевого синдрома, вызванного, например, онкологическими заболеваниями.

**Трамадол** — психотропный опиоидный анальгетик, относится к группе частичных агонистов опиоидных рецепторов (рис. 36). Обладает сильной анальгезирующей активностью, дает быстрый и длительный эффект. Уступает, однако, по активности морфину при одинаковых дозах (соответственно, применяется в больших дозах). Анальгезирующее действие развивается через 15–30 мин после приема внутрь и продолжается до 6 ч. Трамадол является наиболее часто применяемым моноанальгетиком центрального действия.

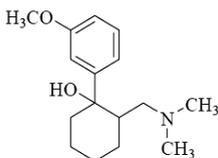


Рис. 36. Трамадол

Сродство трамадола к опиоидным рецепторам в 10 раз слабее, чем у кодеина, и в 6000 раз слабее, чем у морфина, при этом выраженность анальгезирующего действия всего в 5–10 раз слабее морфина. Симптомы передозировки: миоз, рвота, коллапс, кома, судороги, угнетение дыхательного центра, апноэ.

Изолирование опиоидов из биологических объектов проводят методами ЖЖЭ и ТФЭ. Специфических реакций обнаружения опиоидов нет. Для обнаружения опиоидов используют ТСХ и цветные тесты с реактивами Марки, Манделина, Фреде. Количественное определение опиоидов проводят методами ВЭЖХ, ГЖХ и ГХ-МС.

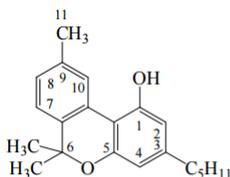
### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ НАРКОТИЧЕСКОГО ОПЬЯНЕНИЯ.

#### КАННАБИНОИДЫ — ТОКСИЧНОСТЬ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

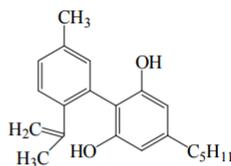
Наркотические средства, полученные из различных частей конопли, относятся к каннабиноидам (марихуана, гашиш, гашишное масло).

Марихуана (каннабис) — смесь высушенных верхушек с листьями и цветками. Содержание тетрагидроканнабинола (ТГК) колеблется в пределах 0,5–5 %, хотя некоторые сорта конопли содержат 20–30 % ТГК. В марихуане содержится более 400 химических веществ, из которых 70 относятся к каннабиноидам.

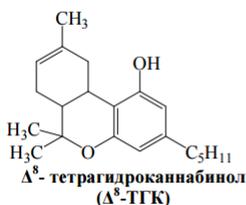
К основным активным компонентам марихуаны относятся каннабинол, каннабидиол, изомеры тетрагидроканнабинола ( $\Delta^9$ -ТГК и  $\Delta^8$ -ТГК), а также  $\Delta^9$ ( $\Delta^8$ )-тетрагидроканнабиноловые кислоты (рис. 37). Высокой активностью отличается  $\Delta^9$ -ТГК (в десять раз активнее каннабинола). Каннабидиол не обладает психоактивностью. Марихуана используется как галлюциноген, обычно марихуану курят. Марихуану относят к «легким» наркотикам.



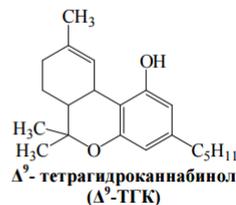
Каннабинол (КБ)



Каннабидиол (КБД)



$\Delta^8$ -тетрагидроканнабинол ( $\Delta^8$ -ТГК)



$\Delta^9$ -тетрагидроканнабинол ( $\Delta^9$ -ТГК)

Рис. 37. Каннабиноиды

**Каннабиноиды** хорошо растворимы в этаноле, ацетоне.  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабиоловая кислота ограничено растворима в хлороформе и диэтиловом эфире, практически нерастворима в воде, бензоле, петролейном эфире. Этанольные растворы  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинола и  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабиоловой кислоты имеют характерные спектры поглощения в УФ-области с максимумами 283, 276 и 283, 278 нм соответственно.  $\Delta^8$ -ТГК-кислота относится к слабым кислотам ( $pK_a = 10,6$ ).

Действие гашиша в большей степени, чем других наркотиков, зависит от установки на ожидаемый эффект. Нередко человек, который выкуривает папиросу с гашишем, не зная об этом, может не испытывать эйфории. Лишь после 2–3-го раза возникает эйфория. Кроме того, первые пробы курения могут сопровождаться неприятными ощущениями: чувством сухости во рту и носоглотке, стеснения в груди, затрудненностью дыхания. Возможны учащенное сердцебиение, головокружение, звон и шум в ушах, тошнота и рвота. Настроение может быть подавленным или тревожным. Опьянение, как правило, сопровождается приподнятым настроением. Смех возникает по любому поводу. Мышление утрачивает свою последовательность, начинает преобладать поверхностность ассоциаций. Общение в группе курящих носит формальный характер, заданные друг другу вопросы не находят ответа. Состояние опьянения сопровождается вегетативными нарушениями (сухость во рту, блеск глаз, гиперемия склер, расширение зрачков). Длительность легкого опьянения зависит от дозы поступивших в организм каннабиноидов, продолжается от 30 мин до нескольких часов. По выходе из интоксикации возникает резкое чувство голода, которое, по-видимому, связано с гипогликемией, развивающейся во время гашишной интоксикации. В дальнейшем отмечаются усталость, повышенная сонливость. В последующие 3–4 сут наблюдаются астения, эмоциональная лабильность, раздражительность, пониженный фон настроения. В некоторых случаях возникновению эйфории предшествует кратковременное состояние тревоги. Увеличение дозы гашиша приводит к смене эйфории страхом и растерянностью, появлению неудержимого и плохо контролируемого потока бессвязных мыслей, грубому нарушению восприятия времени и пространства. При ежедневном или почти ежедневном курении гашиша уже через 1–2 мес. появляются признаки психической зависимости. В отсутствие наркотика у больных возникают вялость, сонливость, снижается настроение, мысли неотступно возвращаются к наркотическому средству и желанию покурить. Начинает расти толерантность. Количество папирос с гашишем, выкуренных за день, постепенно увеличивается (от 2–3 до 4–5 и более), употребляются все более крепкие его сорта, и курение становится более интенсивным.

Особенностью ТГК является способность к кумуляции. Физическая зависимость формируется через 2–3 года регулярного злоупотребления

наркотиком. При длительном злоупотреблении каннабиноидами наблюдается снижение памяти и интеллекта. Хроническое употребление препаратов конопли приводит к развитию соматических нарушений. У гашишманов отмечается повышенный риск развития рака дыхательных путей, а также рождения детей с небольшой массой тела (при употреблении каннабиса во время беременности). При курении марихуаны снижается внутриглазное давление. Однако побочные эффекты (гипертензия, тахикардия) не позволяют широко применять каннабис для лечения глаукомы.

Наиболее распространенный способ употребления конопли — курение. Этот наркотик употребляют и внутрь с пищей, напитками. При курении каннабиноиды всасываются быстрее, чем при приеме внутрь. Фармакологическое действие наступает немедленно и достигает пика в пределах 30 мин. Определенных дозировок не существует, ибо дозы определяются качеством наркотика, числом затяжек, умением использовать вдыхаемый дым; имеют также значение местность, из которой привезен гашиш, и сорт конопли. О толерантности судят по числу выкуренных папирос. Каннабиноиды хорошо растворяются в жирах и поэтому накапливаются в жировых тканях человека. Механизм действия их заключается в подавлении синтеза, освобождении и разрушении ацетилхолина.

*Метаболизируются каннабиноиды в печени и легких.* Метаболизм  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинола происходит с образованием  $8\beta$ -гидрокси- $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинола,  $8\alpha$ -гидрокси- $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинола,  $11$ -гидрокси- $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинола,  $8\beta$ ,  $-11$ -дигидрокси- $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинола,  $8\alpha$ ,  $-11$ -дигидрокси- $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинола,  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабиноловой кислоты. Выделение метаболитов происходит в основном с мочой, калом. С мочой выводятся преимущественно глюкурониды и сульфаты. Метаболиты каннабиноидов выделяются также с секретом подчелюстных и молочных желез.

*Изолирование и определение каннабиноидов.* Ввиду высокой растворимости в липидах и низкой концентрации каннабиноидов в биологических жидкостях (кровь, моча) обнаружение каннабиноидов проводят в смывах с пальцев рук и ротовой полости курильщиков. Смывы производят ватным тампоном, смоченным этанолом. Затем каннабиноиды экстрагируют этилацетатом, гексаном или петролейным эфиром. Полученный экстракт исследуют методом ТСХ. Исследование проводят в системе петролейный эфир – диэтиловый эфир (4 : 1) на хроматографических пластинках. Проявляют хроматографические пятна 0,5%-ным раствором прочного синего Б в 10%-ном растворе карбоната натрия. Значения  $R_f$  хроматографических пятен каннабинола и тетрагидроканнабинола в этих условиях составляют около 0,76 и 0,84 соответственно. Обнаружение каннабиноидов в смывах с рук не является основанием для заключения, что данное лицо курило гашиш (возможно случайное соприкосновение с гашишем).

*Цветные тесты (предварительные пробы):*

1. К аликвоте этанольного смыва добавляют смесь соли прочного синего Б с сульфитом натрия, 1 мл хлороформа и 1–2 капли 0,1 М раствора NaOH — появление красного окрашивания хлороформного слоя указывает на наличие каннабиноидов.

2. К аликвоте прибавляют 2 мл реактива (0,4 г ванилина растворяют в 20 мл 96%-ного этанола и прибавляют 0,5 мл бензальдегида), встряхивают 1 мин и прибавляют 2 мл концентрированной хлороводородной кислоты. После встряхивания оставляют на 2–5 мин, добавляют хлороформ и встряхивают. При наличии каннабиноидов появляется сине-фиолетовая окраска хлороформного слоя.

Обнаружение каннабиноидов в крови, моче, волосах проводят инструментальными методами анализа (ГЖХ, ГХ-МС и др.). При определении каннабиноидов в моче методами ГЖХ и ГХ-МС предварительно проводят щелочной гидролиз конъюгатов Δ<sup>9</sup>-ТГК-кислоты, экстракцию ТГК-кислоты и переводят ее в метиловый эфир. При анализе крови гидролиз не проводится, экстрагируют ТГК толуолом. При определении каннабиноидов в слюне курильщика гашиша каннабиноиды экстрагируют этилацетатом. Экстракт упаривают до небольшого объема и исследуют методом ТСХ. Отрицательный результат не является основанием для вывода, что данное лицо не употребляло гашиш (следы гашиша сохраняются в полости рта до 1 ч, а на коже — до 24 ч). Количественное определение: ГЖХ, ВЭЖХ.

**ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ  
В ДИАГНОСТИКЕ НАРКОТИЧЕСКОГО ОПЬЯНЕНИЯ. СИНТЕТИЧЕСКИЕ  
КАННАБИНОИДЫ (КУРИТЕЛЬНЫЕ СМЕСИ СИНТЕТИЧЕСКОГО  
ПРОИСХОЖДЕНИЯ) — ТОКСИЧНОСТЬ, СОЦИАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ,  
ПРОФИЛАКТИКА**

Курительные смеси — общее название ароматизированных травяных смесей, вызывающих психоактивные эффекты при курении. Активным веществом являются синтетические каннабиноиды.

Курительные миксы — это смеси трав, обработанных химическими веществами (синтетическими каннабиноидами) и полностью произведенные в лабораторных условиях. Обнаруженный в составе курительных смесей синтетический каннабиноид JWH 018 в пять раз сильнее марихуаны.

Как показывают результаты исследований, большая часть наркотических препаратов на современном черном рынке представлена именно синтетическими каннабиноидами (составляет около 60 % от всего их количества). Начиная с 2008 г. стали появляться публикации о негативном действии синтетических каннабиноидов на организм человека. С того времени было

выпущено более 160 новых видов синтетических каннабиноидов, которые входят в состав многих синтетических курительных смесей. Каждый представитель этой группы в среднем задерживается на рынке (по данным таможенных служб) до 24 мес. и затем сменяется новыми препаратами. Из-за большой скорости синтеза новых веществ каждый год происходит обновление списка запрещенных препаратов. Своевременному выявлению синтетических каннабиноидов в травяных смесях мешают наличие в составе смесей растений, потенциально обладающих психоактивными свойствами, добавки большого количества балластных соединений с целью скрыть действующее вещество, а также отсутствие информации о спектральных свойствах синтетических каннабиноидов в большинстве баз данных для масс-спектрометрического анализа.

Признаки опьянения курительными смесями: как правило, человек тревожен, нарушена координация движений, либо двигательная активность хаотична. Возможна также сонливость, заторможенность. Зрачок чаще расширен, возникают трудности с фокусировкой взгляда. Речь невнятная. Возможна выраженная слабость, бледность кожных покровов, тошнота, рвота. Внимание привлекается с трудом. Если имеют место галлюцинаторные расстройства, то поведение человека соответствует мнимым переживаниям. Кроме того, выход из состояния опьянения в этом случае сопровождается более болезненными ощущениями, чем при потреблении наркотических веществ.

Признаки отравления: рвота, судороги, подъем артериального давления, учащенное сердцебиение, галлюцинации, психоз, отсутствие реакции на внешние раздражители, коматозное состояние, возможен смертельный исход. Систематическое курение миксов приводит к необратимым деструктивным процессам в центральной нервной системе: снижается внимание, ухудшается память, замедляется мыслительная деятельность, появляется склонность к депрессиям, суициду. Воздействие курительных смесей со временем может навсегда изменить личность человека, привести к тяжелой инвалидности, превратить его в наркозависимого больного. Основной трудностью в лечении последствий отравления курительными смесями является то, что у пациентов в крови не обнаруживаются наркотические вещества, а потому диагностировать отравление и назначить адекватное лечение очень непросто.

По характеру воздействия курительные смеси близки к стимуляторам центральной нервной системы, но при той или иной частоте употребления они почти все формируют зависимость. Речь идет не только о психической, но и о физической зависимости, об изменении целого ряда биохимических процессов в организме, что крайне опасно для человека.

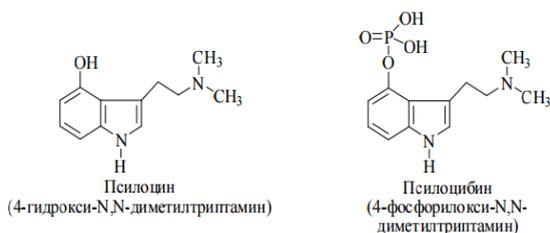
В течение последних десятилетий наблюдается стремительный рост количества острых отравлений синтетическими наркотиками психостимулирующего действия. Тяжесть отравления заключается в развитии острого

психоза и нарушении жизненно важных функций, в том числе нарушений сердечной деятельности (резкое повышение, затем падение артериального давления, учащенное сердцебиение, недостаточность кровообращения), острой дыхательной недостаточности; в некоторых случаях (4–5 % больных) развивается острая почечная или печеночно-почечная недостаточность. Однако наиболее тяжелое проявление данного отравления — неуправляемая гипертермия (до 8 % больных) и развитие отека мозга. При повышении температуры тела более 40–41 °С у многих быстро развивается отек головного мозга, острая дыхательная и сердечно-сосудистая недостаточность, больной умирает через несколько часов. Иногда требуется интенсивная терапия в реанимации, больные нуждаются в гемодиализе. Острое психотическое состояние удается снять в течение 24–48 ч, но часть больных из него не выходит и нуждается в длительном лечении в условиях психиатрического отделения.

Для успешного решения задач, связанных с установлением факта употребления синтетических каннабимиметиков, необходимы своевременно обновляемые сведения о перечне актуальных веществ; указанные сведения могут быть использованы в рамках применения скрининговых методик, реализованных на современном аналитическом оборудовании (методы газовой и жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием).

**ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ  
НАРКОТИЧЕСКОГО ОПЬЯНЕНИЯ. ГАЛЛЮЦИНОГЕНЫ РАСТИТЕЛЬНОГО  
ПРОИСХОЖДЕНИЯ (ПСИЛОЦИН, ПСИЛОЦИБИН, МУСКАРИН) —  
ТОКСИЧНОСТЬ, МЕТАБОЛИЗМ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ  
И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ**

К веществам, обладающим галлюциногенной активностью, относятся как вещества растительного происхождения (псилоцин, псилоцибин, буфотенин, мусказон, мускарин, мусцимол и др.), так и синтетические препараты (ЛСД, фенциклидин, фенилалкиламины и др.). Псилоцин и псилоцибин содержатся в грибах рода *Psilocybe*, *Inocybe*, *Panaeolus* и др. (рис. 38). В пересчете на сухой вес в грибе содержится от менее 0,004 до 0,2 % псилоцина и от менее 0,08 до 0,3 % псилоцибина. Содержание токсинов в грибах зависит от вида и мест произрастания грибов. Основной способ приема таких галлюциногенов — употребление в пищу свежих или высушенных грибов, содержащих галлюциногены. Психические эффекты характеризуются зрительными и слуховыми галлюцинациями, расстройством мышления, беспричинным страхом и депрессией. Наблюдается деградация личности. В некоторых странах учащиеся школ и студенты употребляют псилоцибинсодержащие грибы с целью повышения умственной деятельности. Однако при этом может развиваться психологическая (но не психическая) зависимость.



*Рис. 38.* Псилоцин и псилоцибин

*В результате метаболизма псилоцибина* разрушается сложноэфирная связь. Образующийся псилоцин подвергается деметилированию, дезаминированию и окислению. Выводится псилоцин, в основном, в виде О-глюкуронида.

Изолирование, обнаружение и количественное определение псилоцина, псилоцибина и других грибных токсинов. Из биологической жидкости (5 мл крови, 50 мл мочи) грибные токсины извлекают равным объемом смеси хлороформ – этанол (4 : 1), хлороформный слой отделяют, испаряют, остаток растворяют в 1 мл этанола. Из внутренних органов (50 г) извлечение грибных токсинов проводят 100 мл этанола в течение 2 ч. К центрифугату прибавляют по 100 мл воды и хлороформа, встряхивают. Хлороформный слой отделяют, испаряют и остаток растворяют в этаноле.

Для обнаружения псилоцина и псилоцибина используют реактив Драгендорфа и реакции окрашивания с 4-аминоантипирином, хлоридом железа (III) и др. В качестве подвижной фазы в тонкослойной хроматографии (пластины «Силуфол») используют смесь хлороформ – метанол – 5М уксусная кислота (35 : 14 : 1), реагенты — FPN, бромтимоловый синий и др. УФ-спектрометрия (характерные полосы поглощения псилоцина и псилоцибина в области 266–292 нм), ГХ-МС и ВЭЖХ используются как для идентификации, так и для количественного определения псилоцина, псилоцибина и других грибных токсинов.

**ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ  
НАРКОТИЧЕСКОГО ОПЬЯНЕНИЯ. ГАЛЛЮЦИНОГЕНЫ СИНТЕТИЧЕСКОГО  
ПРОИСХОЖДЕНИЯ (ЛСД, ФЕНЦИКЛИДИН) — ТОКСИЧНОСТЬ,  
МЕТАБОЛИЗМ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ  
И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ**

**Диэтиламид лизергиновой кислоты (LSD, ЛСД)** был синтезирован Хофманом в 1938 г. В качестве лекарственного средства не применяется, так как обладает сильной галлюциногенной активностью. 10–30 мкг ЛСД является

минимальной действующей дозой. Основной способ приема ЛСД — пероральный, так как ЛСД быстро проникает через гематоэнцефалический барьер и достигает мозга.  $T_{1/2}$  составляет 3–5 ч. Применяется в виде порошков, таблеток, капсул и др. Основные пути метаболизма ЛСД — деалкилирование и образование гидроксипроизводных, которые взаимодействуют с глюкуроновой кислотой и в виде конъюгатов выводятся из организма с мочой. В моче обнаруживается около 1 % ЛСД в неизменном состоянии.

Изолирование и определение ЛСД. Для изолирования ЛСД из биологических жидкостей чаще используют смесь растворителей «метиленхлорид-толуол». Реакции окрашивания проводят с остатком, полученным после испарения органических растворителей.

Основные реакции окрашивания: с реактивом Марки появляется коричневое окрашивание, переходящее в фиолетовое; с реактивом Ван-Урка (п-диметиламинобензальдегид, серная кислота и хлорид железа (III)) появляется фиолетовое окрашивание. Для обнаружения ЛСД применяются также реактив Фреде и концентрированная серная кислота. Из спектрометрических методов для обнаружения ЛСД применяются УФ-спектрометрия (максимум поглощения в области 310–315 нм), ИК-спектрометрия, флуориметрия (растворы ЛСД обладают интенсивной флуоресценцией). Тонкослойная хроматография: подвижные фазы — хлороформ – ацетон – этанол – 25%-ный раствор аммиака (20 : 20 : 3 : 1); толуол – ацетон – этанол – 25%-ный раствор аммиака (45 : 45 : 7 : 3); метанол – 25%-ный раствор аммиака (100 : 1,5) и др.; хроматографические пластины. Способы проявления хроматограмм: флуоресценция, реактив Эрлиха (п-диметиламинобензальдегид, концентрированная фосфорная кислота, метанол), реактив Драгендорфа. Подтверждающие методы определения диэтиламида лизергиновой кислоты — ВЭЖХ и ГХ-МС.

**Фенциклидин** [1-(1-фенилциклогексил)-пиперидин] был предложен в 1957 г. в качестве внутривенного анестезирующего средства. Однако развитие тяжелых психических нарушений (галлюцинации, дезориентация, путаница мыслей и др.) явилось причиной запрета на использование этого лекарственного средства в медицинской практике. Фенциклидин синтезируется в подпольных химических лабораториях и распространяется в виде порошка, жидкости, таблеток, капсул. Применяется как перорально, так и для курения в смеси с табаком, марихуаной и растениями (петрушка, мята и др.), содержащими пахучие вещества. Фенциклидин вызывает у подростков более сильный эффект, чем LSD или марихуана. Нарушение восприятия окружающего и галлюцинации приводят к тяжелым последствиям (состояние паранойи, бред, тяжелые несчастные случаи на транспорте, совершение актов вандализма и др.). При метаболизме фенциклидина происходит гидроксилирование пиперидинового и циклогексанового колец, а также разрыв пиперидинового кольца и образование 5-(1-фенилциклогексиламино)-валериановой кислоты.

Основное количество фенциклидина выделяется из организма в виде конъюгатов с глюкуроновой кислотой. При биотрансформации фенциклидина, принятого в больших количествах, образуется синильная кислота, которая вносит определенные изменения в клиническую картину интоксикации (тошнота, рвота, боли в животе, судороги). Смертельные концентрации фенциклидина в плазме крови колеблются от 0,3 до 12 мкг/л, острый интоксикационный психоз наблюдается в среднем при концентрации фенциклидина в плазме крови 0,6 мкг/л. Изолирование фенциклидина из биологических жидкостей проводят методом ЖЖЭ (фенциклидин — слабое основание, + ВН рК = 8,5). Для обнаружения фенциклидина используют реакции окрашивания и инструментальные методы.

Реакции окрашивания (проводят с сухим остатком): с реактивом Марки (розовое окрашивание), с реактивом Манделина (оранжевое окрашивание), с реактивом Эрлиха (красное окрашивание).

Тонкослойная хроматография: подвижные фазы — этилацетат — метанол — 25%-ный раствор аммиака (85 : 10 : 5), циклогексан — толуол — диэтиламин (75 : 15 : 10), хлороформ — метанол (9 : 1); неподвижная фаза — силикагель. Проявляем реактивом Драгендорфа. УФ-спектр фенциклидина имеет три максимума поглощения в области 250–270 нм. Подтверждающие методы определения фенциклидина — ГЖХ, ГХ-МС и ВЭЖХ.

#### **СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЯ МОЧИ НА НАЛИЧИЕ НАРКОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ. КАЧЕСТВЕННЫЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ**

Пробоподготовка биожидкостей (кровь, моча) состоит из различных этапов: экстракция органическими растворителями, хроматографическое разделение, твердофазная экстракция. Проводят прямое концентрирование мочи (упаривание до небольшого объема) на водяной бане или роторном испарителе. С целью уменьшения энзиматической активности рекомендуется хранить кровь в холодильнике в замороженном виде. Экстракцию психоактивных веществ проводят как из цельной крови, так и из плазмы или сыворотки. Основными методами разрушения волос являются кислотный или щелочной гидролиз, энзиматическое разрушение, экстракция органическими растворителями при сверхкритических условиях и др.

Химико-токсикологический анализ наркотических и одурманивающих веществ проводится по двум основным направлениям: судебно-правовое (установление факта присутствия и употребления наркотика) и клиническое (диагностика, лечение, реабилитация). При судебно-правовой направленности для предварительного исследования используется один метод, а для подтверждающего — другой. Химико-токсикологический анализ, имеющий

судебно-правовую направленность, должен сопровождаться контролем каждой стадии анализа (применение эталонных образцов, калибровка проведенных операций, проверка правильности, статистическая обработка результатов, контроль за условиями анализа (рН, температура и др.).

На первом этапе скрининга наркотических веществ должно быть получено минимальное количество ложноотрицательных результатов, которые связаны с недостаточной чувствительностью метода, недостаточной квалификацией эксперта, преднамеренной фальсификацией пробы, систематическими ошибками исследований.

На втором этапе следует свести до минимума ложноположительные результаты, обусловленные малой специфичностью метода, недостаточной квалификацией эксперта, грязными реагентами, систематическими ошибками и другими причинами.

При скрининге наркотических средств главным является добиться минимума отрицательных и максимума положительных результатов, а это зависит от чувствительности и специфичности применяемых методов. Высокая чувствительность метода позволяет детектировать наркотическое вещество спустя несколько дней или недель после употребления. Выбор метода определяется видом анализируемого объекта.

Основными этапами исследования объектов на наличие наркотических веществ являются: отбор и хранение проб, подготовка пробы к анализу, выбор предварительного подтверждающего метода анализа и анализ, обработка (интерпретация) полученных результатов.

*Предварительный скрининг* проводится с использованием хромогенных и микрокристаллоскопических реакций, иммунохимических методов (ИФА, ПФИА, РИА и др.), ТСХ.

*Подтверждающие методы* (ГЖХ, ГХ-МС, ВЭЖХ) имеют одинаковую или более высокую чувствительность, что уменьшает количество ложноотрицательных результатов, и обладают более высокой специфичностью (снижается количество ложноположительных результатов).

По чувствительности инструментальные методы определения наркотических и одурманивающих веществ в моче можно расположить в такой последовательности: ГХ-МС (0,01–0,1 мкг/мл), ИФА (0,3 мкг/мл), ГХ и ТСХ (0,5–1,0 мкг/мл).

При количественном определении сначала проводится холостой, а затем контрольный опыт. Величина концентрации вещества в контрольном опыте должна находиться в линейном пределе градуировочного графика. Чаще всего для количественного определения содержания наркотических веществ используют метод стандартных добавок.

## **НАРКОМАНИЯ, ВИДЫ НАРКОМАНИЙ. НАРКОТИКИ, ДЕЙСТВУЮЩИЕ НА ЦЕНТРАЛЬНУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, КЛАССИФИКАЦИЯ, ТИПЫ ЗАВИСИМОСТИ**

Вещества, способные давать психотропные эффекты (эйфория, возбуждение, галлюцинации, сон), относят к психоактивным веществам. Это понятие включает в себя наркотические, психотропные (лекарственные средства, действующие на ЦНС) вещества, а также вещества, не относящиеся к наркотическим и психотропным (например, органические растворители, табак и др.).

Наркомания — заболевание, для которого характерно патологическое влечение к немедицинскому употреблению веществ наркотического действия (наркотические вещества, наркотики), изменяющих психику человека.

Термин «наркотическое средство» содержит в себе три критерия: *медицинский, социальный, юридический*. *Медицинские* последствия при злоупотреблении наркотическими средствами проявляются в расстройствах психики наркоманов, подавлении умственной деятельности, нарушении функций внутренних органов и т. д. *Социальные* последствия злоупотреблений наркотиками проявляются в совершении уголовных преступлений, снижении трудоспособности наркоманов, распаде семьи и т. д. Немедицинское употребление наркотиков представляет опасность как для наркоманов, так и для других членов семьи и общества.

К наркотикам относят только те вещества, злоупотребление которыми имеют отрицательные *медицинские и социальные последствия, юридически признаны* наркотиками и включены в список наркотиков. При отсутствии хотя бы одного из критериев психоактивное вещество относят к средствам, вызывающим токсикоманию.

При приеме наркотических веществ развивается *психическая и физическая зависимость*. *Психическая* зависимость — человек получает удовлетворение от приема наркотиков и требует периодического или постоянного введения наркотиков. *Физическая* зависимость — сильное физическое расстройство при задержке приема наркотических веществ, то есть абстинентный синдром (повышенная раздражительность, потливость, бессонница и др.). Для любого вида наркоманий характерно развитие толерантности организма к применяемому препарату, поэтому больной вынужден увеличивать его дозу, чтобы достичь эйфории и не допустить возникновения абстинентного синдрома. *Толерантность* — состояние адаптации, привыкания к наркотическим и токсикоманическим веществам, проявляющееся во все менее выраженной реакции на очередное введение их прежнего количества.

В развитии наркоманий любой формы выделяют три стадии:

- 1) адаптация;
- 2) абстинентные явления;
- 3) истощение.

В возрастной группе 20–25 лет наблюдается наибольшее число смертельных и острых отравлений.

Предложено несколько классификаций наркотиков. Например, седативные (опиаты, опиоиды, барбитураты, алкоголь и др.), стимуляторы (фенилалкиламины, кокаин), галлюциногены (ЛСД, мескалин и др.).

В зависимости от развития толерантности, физической и психической зависимости, различают наркотики, для которых характерны:

- выраженная и сильная толерантность — опиаты, барбитураты, алкоголь, фенилалкиламины, ЛСД;

- выраженная и сильная физическая и психическая зависимость — опиаты, барбитураты, алкоголь;

- слабая до явно выраженной психическая зависимость — кокаин, каннабиноиды, ЛСД, фенилалкиламины;

- отсутствие физической зависимости — кокаин, каннабиноиды (незначительная), ЛСД, фенилалкиламины (незначительная).

Токсикомания — состояние, при котором развивается болезненное пристрастие к психоактивным веществам, не относящимся к наркотикам (производные 1,4-бензодиазепа; стимуляторы ЦНС и анальгетики — кофеин, анальгин, и др.; антипаркинсонические препараты — тригексифенидил и др.; антигистаминные средства — прометазин, дифенгидрамин; средства бытовой и промышленной химии — бензин, ацетон, хлороформ, эфиры, дезодоранты и др.). Политоксикомании: употребление транквилизаторов и снотворных, транквилизаторов и алкоголя, кофеина и алкоголя.

Табакокурение считают вредной привычкой и не относят к токсикоманиям. Однако, психическое привыкание к никотину сопровождается развитием влечения к курению. Согласно МКБ-10, никотиновая зависимость признана психической зависимостью.

В некоторых странах среди молодежи популярностью пользуется насвай. Основными компонентами насвая являются махорка или табак (а иногда и табачная пыль), гашеная известь, зола растений, верблюжий кизяк или куриный помет, масло, клей, а также могут быть сухофрукты и приправы. Добавки вносят с целью получения определенной формы (шарики). Свежий насвай представляет собой крупные, зеленые шарики; лежалый насвай похож на порошок черного цвета.

В официальных документах «насвай» — это некурительный табак для сосания, его закладывают под нижнюю или верхнюю губу, под язык или в носовую полость. В ряде стран насвай продают на рынках (насвай ташкентский, ферганский, андижанский; насыбай, нацвай, анасвай, асмай, атмай и другие названия). При краткосрочном и длительном употреблении насвая наблюдаются сильное жжение слизистой ротовой полости, апатия, резкое слюноотделение, головокружение, расслабленность мышц. При глотании обильно

выделяющейся слюны появляются тошнота, рвота, понос. Сочетание насвая с алкогольными напитками приводит к непредсказуемым последствиям.

Особое место в лечении наркотической зависимости занимает действующая в стране заместительная метадонная терапия, вызывающая много вопросов и споров, об эффективности которой говорить пока рано.

### **ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА. ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ МЕТОДА. ОСНОВЫ МЕТОДА**

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) является вариантом колоночной жидкостной хроматографии, в котором подвижная фаза (элюент) проходит через заполняющий колонку сорбент с большей скоростью за счет значительного давления на входе в хроматографическую колонку.

ВЭЖХ является удобным способом разделения, препаративного выделения и проведения количественного и качественного анализа нелетучих термолабильных соединений как с малой, так и с большой молекулярной массой.

Основными узлами жидкостного хроматографа являются: насос высокого давления, дозатор, высокоэффективная колонка, детектор с регистрирующим устройством. Современные жидкостные хроматографы снабжены микропроцессором и устройствами для автоматического ввода пробы, программирования хроматографического процесса, оптимизации условий разделения и расчета количественного состава анализируемой смеси, а также проведения качественного анализа.

Насос высокого давления (до 200–500 атм) обеспечивает подачу элюента в колонку с постоянной заданной скоростью.

Хроматографические колонки из нержавеющей стали строго определенной марки (во избежание коррозии) или стекла длиной 10–25 см с внутренним диаметром 0,3–0,8 см (чаще 0,4–0,5 см) заполняются адсорбентом с диаметром частиц 5–10 мкм сферической или неправильной формы с помощью суспензионного метода, что дает возможность получить более равномерную и плотную упаковку частиц сорбента в колонке.

Заполнение колонки производится при больших давлениях, чем рабочее давление в хроматографе. Плотная упаковка частиц адсорбента в колонке позволяет получить высокоэффективное хроматографическое разделение компонентов анализируемой смеси.

Температура хроматографических колонок поддерживается с точностью до 0,1 °С в интервале, ограниченном температурами замерзания и кипения элюента. Чаще всего разделение проводят в интервале температуры от 20 до 50 °С.

В качестве детекторов в ВЭЖХ используют:

- спектрофотометрический с переменной (190–900 нм) или фиксированной (чаще 254 нм) длиной волны;
- рефрактометрический;
- флюориметрический;
- пламенно-ионизационный;
- электрохимический (диодно-матричный и др.);
- масс-спектральный.

В качестве адсорбентов чаще всего применяют силикагель с гидроксильной поверхностью и силикагель с привитыми к поверхности различными функциональными группами. В ВЭЖХ используются силикагели с удельной поверхностью 300 м<sup>2</sup>/г, средним диаметром пор 10 нм и удельным объемом пор 1 мл/г. Реже используются окись алюминия и полимерные адсорбенты. На практике обычно применяют готовые заводские колонки. При работе с колонками, заполненными силикагелем (неподвижная полярная фаза), в качестве неполярных элюентов используют алифатические углеводороды или дихлорметан с добавлением растворителей (спирты, диоксан, тетрагидрофуран и др.). Соединения, не поддающиеся разделению в таких системах, разделяют при помощи обращенно-фазовой хроматографии, когда неподвижная фаза неполярна, например, силикагель с привитыми гидрофобными группами (С8, С18), а подвижная — сильнополярна (водные растворы, содержащие метанол или ацетонитрил для увеличения элюирующей способности элюента). Степень разделения веществ в колонке определяется расстоянием между максимумами двух соседних пиков (зависит от селективности сорбента) и шириной хроматографической полосы (зависит от эффективности колонки, то есть характера упаковки частиц сорбента, вязкости элюента и др.). Время выхода компонента из колонки (время удерживания) в постоянных условиях разделения постоянно и является качественной характеристикой данного компонента, а высота (или площадь) пика пропорциональна количеству данного компонента в пробе и используется в количественном анализе. Количественную оценку хроматограммы проводят с использованием метода абсолютной калибровки или метода внутреннего стандарта.

Количественный анализ проводят с учетом измерения параметров пиков на хроматограммах.

Практически используют два параметра пиков: высоту или площадь.

Основными способами количественного анализа в газовой хроматографии являются:

- метод абсолютной калибровки;
- метод внутреннего стандарта.

Метод абсолютной калибровки предполагает предварительное определение зависимости между количеством введенного вещества и высотой (или

площадью) пика на хроматограмме и построение калибровочного графика. Соответственно по высоте (или площади) пика анализируемого вещества определяют его количество по графику.

Метод внутреннего стандарта основан на сравнении параметра пика анализируемого вещества с тем же параметром введенного в пробу в известном количестве вещества сравнения, пик которого хорошо разделяется с исследуемыми компонентами. Рассчитывают количество определяемого вещества по формуле:

$$C = f \cdot h_{\text{иссл.}} / h_{\text{станд.}}$$

где  $f$  — поправочный коэффициент, характеризующий чувствительность детектора.

### **ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА. ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ МЕТОДА. ОСНОВЫ МЕТОДА**

Хромато-масс-спектрометрия — аналитический метод, основанный на сочетании возможностей хроматографа и масс-спектрометра, использующийся для количественного и качественного определения отдельных компонентов в сложных смесях.

Метод предназначен для анализа смесей органических соединений и заключается в их разделении на колонке хроматографа с последовательным выходом компонентов из колонки в ионный источник масс-спектрометра, где происходит их ионизация. Аналитические возможности газового хромато-масс-спектрометра превосходят простое сложение возможностей газового хроматографа и масс-спектрометра, они увеличиваются экспоненциально. Спектры, полученные с помощью масс-спектрометрического детектора, дают такую информацию о качественном составе пробы, какую не могут дать иные газохроматографические детекторы. С помощью хроматографа осуществляют разделение смеси на компоненты, с помощью масс-спектрометра — идентификацию и количественный анализ. Для получения спектра молекулы компонентов пробы ионизируются в масс-анализаторе, специальный датчик считывает изменение ионного тока, на основании чего записывается хроматограмма. Детектор масс позволяет идентифицировать соединения не только по временам удерживания, но и сравнивая масс-спектр пика (определяемого вещества) с библиотечным. Библиотеки насчитывают сотни тысяч различных соединений, а программное обеспечение проводит поиск в считанные секунды. Масс-спектрометр благодаря хроматографу сканирует индивидуальные соединения, таким образом аналитик работает с чистыми масс-спектрами. Известны 2 варианта хромато-масс-спектрометрии,

представляющие собой комбинацию масс-спектрометрии либо с газожидкостной хроматографией (ГЖХ), либо с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ-МС).



Рис. 39. Блок-схема хроматографа с масс-селективным детектированием

Метод хромато-масс-спектрометрии используют при структурно-аналитических исследованиях в органической химии, нефтехимии, биохимии, медицине, фармакологии, экологическом мониторинге и др.

**Метод хромато-масс-спектрометрии в анализе лекарственных, наркотических веществ и их метаболитов.** Метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС) используется в химико-токсикологическом анализе как высокочувствительный, высокоспецифичный и достаточно быстрый метод идентификации и количественного определения лекарственных и наркотических веществ. Надежность идентификации значительно повышается в связи с использованием такой специфической характеристики, как масс-спектр, в дополнение к хроматографическим параметрам удерживания.

В связи с необходимостью определения нанограммовых количеств токсикантов на фоне эндогенных веществ к стадии пробоподготовки пробы предъявляются определенные требования:

- более полное извлечение определяемых веществ и их метаболитов;
- минимальное извлечение эндогенных веществ (белков, липидов и др.);
- отсутствие загрязнений пробы примесями растворителя, материала посуды и др.

Хромато-масс-спектрометрическое определение малолетучих и полярных соединений невозможно без предварительной дериватизации, которая состоит в преобразовании полярных групп (COOH, OH, NH<sub>2</sub>, и др.) в неполярные. В результате дериватизации снижаются потери за счет низкой летучести, повышаются чувствительность и точность определения.

С целью дериватизации проводят следующие реакции:

- получение метиловых эфиров органических кислот;
- получение триметилсилилпроизводных с фторалкилангидридами кислот или фторацетиламидами;
- получение ацетилпроизводных по реакции с уксусным ангидридом в безводном пиридине;
- получение смешанных производных для веществ с различными функциональными группами.

Основными критериями выбора реакции дериватизации являются хорошее разделение дериватов, наличие интенсивных пиков в масс-спектре, стабильность деривата во времени и отсутствие расщепления пиков дериватов на хроматограмме.

Реагенты, используемые в процессе дериватизации, влияют на хроматографическую систему. Поэтому избыток фторсодержащих ангидридов необходимо удалить перед ГХ-МС-анализом. Силирующие агенты не удаляют, однако их избыток ухудшает рабочие характеристики МСД.

Результаты ГХ-МС анализа в значительной степени зависят от фоновых соединений биожидкостей. Поэтому одновременно проводят анализ холостых образцов биожидкостей, не содержащих определяемых (лекарственных, наркотических) веществ. Эндогенные и экзогенные соединения, содержащиеся в холостой пробе, образуют фон и могут давать на хроматограмме интенсивные пики, сравнимые с анализируемыми. Холостые образцы подвергаются всем операциям аналогично анализируемой пробе. К основным фоновым компонентам относятся пальмитиновая, стеариновая, олеиновая кислоты, холестерин, кофеин, никотин, котинин (метаболит никотина).

При хромато-масс-спектрометрическом определении лекарственных и наркотических веществ возможны *нежелательные побочные процессы*: термическое разложение в инжекторе или в колонке (декарбонилирование кислот, деацетилирование героина, разложение производных 1,4-бензодиазепина), адсорбция полярных соединений в инжекторе и колонке, потери веществ в результате не оптимальных условий ГХ-МС-анализа.

Применение внутреннего стандарта в ГХ-МС методе позволяет снизить влияние многих факторов на результаты анализа. Внутренний стандарт вводят в пробу биожидкости и подвергают всем операциям, которые производятся с определяемым веществом, что позволяет контролировать как процесс пробоподготовки, так и процесс ГХ-МС-анализа. Используются главным образом два типа внутренних стандартов: аналоги, меченые стабильными изотопами, и структурные аналоги.

Метод хромато-масс-спектрометрии широко применяется для идентификации примесей лекарственных веществ. Известно, что многие лекарственные вещества содержат довольно значительные количества примесей,

которые могут быть ошибочно приняты за метаболиты и появиться как при синтезе ЛС, так и в процессе разложения во время хранения. Например, при исследовании образцов кокаина, применяемого в медицине, и кокаина, продающегося в США на черном рынке, обнаружено, что второй содержит значительную примесь другого вещества, которое, согласно его масс-спектру, было идентифицировано, как лигнокаин. Хроматографический количественный анализ примеси показал, что в этом кокаине содержится до 37 % лигнокаина.

Основным фактором, ограничивающим чувствительность определения, являются мешающие эндогенные соединения, обладающие сходными экстрактивными и аналитическими характеристиками, вследствие чего пределы обнаружения лекарственного вещества в плазме крови на несколько порядков выше предела обнаружения индивидуального соединения.

Единственным серьезным недостатком ГХ-МС метода при определении ЛС и их метаболитов является невозможность анализа труднолетучих соединений. Один из путей преодоления этого недостатка связан с введением в аналитическую схему пиролитической установки.

### **Пестициды. Общая характеристика группы. Классификация пестицидов по химической природе, по назначению, по токсичности**

Пестициды — общепринятое собирательное название химических средств защиты растений, состоящее из 2 слов: pest — вредитель и cide — сокращать (смысловой перевод: вредсокрещающие средства).

Как правило, пестициды — яды, но не всегда; к ним относят также десиканты (иссушающие организм средства) и регуляторы роста. Большинство пестицидов — химические соединения, но тоже не всегда; для борьбы с сорняками и вредителями используются также вирусы и другие болезнетворные микроорганизмы.

Применение пестицидов позволяет получать стабильный урожай и ограничивать распространение инфекций, передаваемых животными-переносчиками, например, малярии и сыпного тифа. Однако непродуманное использование пестицидов имеет и негативные последствия. Оно ведет к появлению устойчивых к ним видов организмов, особенно среди насекомых: губит хищников (естественных врагов вредителей) и других полезных животных. Загрязняя окружающую среду, пестициды угрожают и человеку: сейчас их обнаруживают даже в грунтовых водах.

Классификация в зависимости от того, какие организмы они поражают:

1. Гербициды — применяют против сорных растений (василек, ромашка).
2. Бактерициды — против бактерий.
3. Фунгициды — против паразитических грибов.
4. Альгициды — против водорослей.

Для борьбы с животными-вредителями используются:

1. Инсектициды — против насекомых.
2. Акарициды — против клещей.
3. Родентициды (зооциды) — против грызунов.
4. Авициды — против птиц.

По химической природе выделяют 3 основные группы пестицидов:

- а) неорганические соединения (соединения ртути, фтора, серы);
- б) препараты растительного, бактериального и грибного происхождения (пиретрины, антибиотики и фитонциды);
- в) органические соединения (наиболее обширная группа, к которой относятся пестициды высокой физиологической активности).

По химическому строению различают пестициды: хлорорганические соединения, фосфорорганические и ртутьорганические соединения, карбонаты, медьсодержащие, серосодержащие, фторсодержащие, производные мочевины.

### **Фосфорорганические пестициды. Общая характеристика группы. Пути метаболизма. Сущность холинэстеразной пробы при исследовании пестицидов**

Фосфорорганические пестициды (ФОП) являются одним из наиболее важных классов современных ядохимикатов. Эти соединения отличаются высокой активностью при умеренных нормах расхода, широким спектром действия, относительно быстрым разрушением в окружающей среде с образованием нетоксичных продуктов.

В зависимости от химического строения ФОП разделяют на:

1. Фосфорорганические (атом фосфора непосредственно связан с атомом углерода).
2. Органические соединения фосфора (связь через кислород).

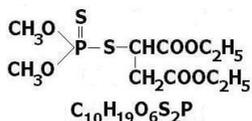
ФОП проникают в организм через рот, кожу, дыхательные пути. При поступлении  $per\ os$  всасывание начинается в полости рта и продолжается в желудке и тонком кишечнике. Всосавшиеся вещества быстро проникают в системный кровоток, попадают во все органы и ткани, где равномерно распределяются. Несколько более высокие концентрации наблюдаются в печени, кишечнике, почках и легких. ФОП преимущественно подвергаются метаболизму в печени. Они вступают в реакции окисления, гидролиза, конъюгации. Метаболизм некоторых ФОП протекает по типу летального синтеза (например, метаболиты метафоса и карбофоса). Основной способ детоксикации ФОП — ферментативный гидролиз. В результате образуются водорастворимые вещества, удаляемые почками. Метаболиты ФОП выделяются с мочой, неизменные вещества могут выделяться через дыхательные пути и с мочой.

Действие: ингибирование фермента ацетилхолинэстеразы. Ацетилхолинэстераза катализирует процесс разрушения ацетилхолина. В результате ингибирования происходит нарушение ряда функций организма: возникают судороги, беспокойство и тревога, угнетение дыхательного центра, обильное потоотделение, слезотечение, спазм гладкой мускулатуры бронхов, кишечника, рвота, брадикардия и т. д.

Проба: основана на способности снижать активность ацетилхолинэстеразы. Ацетилхолин под влиянием ацетилхолинэстеразы разлагается с образованием уксусной кислоты, в результате чего изменяется pH смеси. В качестве индикатора применяют бромтимоловый синий, который в кислой среде имеет желтую окраску, а в нейтральной — синюю, в присутствии ФОП ацетилхолин не разлагается, и окраска индикатора не меняется (синяя).

**Карбофос [О,О-диметил-S-(1,2-дикарбэтоксиэтил)-дитиофосфат].**

Синонимы: малатион, малатон, препарат 4049, карбетокс, хематион, цитион, эмматос, фифанон, кипфос, садафос, зитиол.



Чистое вещество — слабо окрашенное в желтый цвет маслообразное вещество со слабым неприятным запахом. Растворимость в воде при комнатной температуре 145 мг/л. Хорошо растворим в спиртах, кетонах, эфире. Летучесть при 10 °С — 0,00082 мг/л, при 20 °С — 0,00226 мг/л, при 30 °С — 0,0056 мг/л, при 40 °С — 0,0134 мг/л, при 50 °С — 0,0293 мг/л. Выпускается в виде эмульсии (30%-ный концентрат). Допустимая суточная доза — 0,02 мг/кг массы тела (человек). Относится к классу III: малоопасные химические соединения.

**Биотрансформация:**

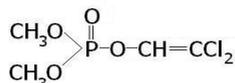
1. Под действием оксидаз со смешанной функцией превращается в более токсичный кислородный аналог. Эта реакция является реакцией активации исходного фосфотиоата в непосредственно ингибирующий фосфатный эфир, ответственный за блокирование ацетилхолинэстеразы.

2. Под действием гидролаз (карбоксилэстеразы) карбофос может подвергаться деалкилированию.

3. Оксидазы со смешанной функцией и гидролазы локализованы в основном в печени, но присутствуют и в других тканях, таких, как кишечник, легкие, почки. Гидролазы присутствуют в плазме.

Подвижные фазы для ТСХ. Трихлорметан — Rf = 0,95–1,0, гексан – трихлорметан (2 : 1) — Rf = 0,00–0,05, гексан – ацетон (2 : 1) — Rf = 0,62–0,67. Чаще всего в литературе встречаются смеси гексана с ацетоном в различных соотношениях.

**ДДВФ [О,О-диметил-О-2,2-дихлорвинлфосфат].** Синонимы: дихлорфос, вапон, нуван, атгард, каногард, секузан, дедевап, экигард, геркал, марвекс, таск, хлорвинфос.



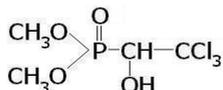
$\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_4\text{PCl}_2$  — бесцветная жидкость с приятным запахом, хорошо растворяется в органических растворителях. Растворимость в воде около 1 %. Летучесть ДДВФ при 10 °С — 0,056 мг/л, при 20 °С — 0,145 мг/л, при 30 °С — 0,35 мг/л, при 40 °С — 0,8 мг/л. В щелочной среде омыляется. Медленно гидролизуется в водном растворе при комнатной температуре.

Допустимая суточная доза — 0,004 мг/кг массы тела (человек). Относится к классу IВ: высокоопасные химические соединения (рекомендуемая ВОЗ классификация пестицидов по степени вредности). Отмечена слабая тропность ДДВФ к жировым тканям.

Биотрансформация: вначале подвергается гидролизу под действием фосфорилфосфатаз (А-эстераз). В качестве метаболитов обнаруживаются диметилфосфорная кислота и дихлорацетальдегид.

Подвижные фазы для ТСХ. Чаще всего упоминается смесь гексана с ацетоном 1 : 1 (позволяет отделить от хлорофоса, Rf которого ниже).

**Хлорофос [О,О-диметил-(1-окси-2,2,2-трихлорэтил)-фосфонат].** Синонимы: трихлорфон, диптерекс, негувон, дилокс, антион, бовинокс, бри-тон, сехвион, циклосом, данекс, метрифонат, проксол.



$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4\text{PCl}_3$  — белый кристаллический порошок с приятным запахом, температура плавления 73–74 °С. Хорошо растворим в спирте, бензоле, большинстве хлорированных углеводородов, хуже — в диэтиловом эфире и четыреххлористом углероде. Растворимость в воде при 15 °С — 12,3 г в 1000 мл. Летучесть хлорофоса при 20 °С — 0,00011 мг/л, при 30 °С — 0,00038 мг/л, при 40 °С — 0,00145 мг/л. В обычных условиях устойчив. В щелочных средах превращается в ДДВФ.

Технический хлорофос имеет вид загустевшего белого вещества консистенции засахарившегося меда со специфическим запахом. Выпускается в виде 75%-ного технического препарата и 7%-ного гранулированного порошка. Относится к классу III: малоопасные химические соединения (рекомендуемая ВОЗ классификация пестицидов по степени вредности).

Биотрансформация:

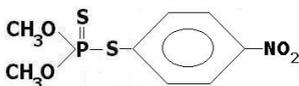
1. Под действием оксидаз со смешанной функцией превращается в более токсичный ДДВФ (так называемый смертельный синтез).

2. ДДВФ под действием гидролаз (А-эстераз) подвергается деалкилированию. В качестве метаболитов ДДВФ обнаруживаются также диметилфосфорная кислота и дихлорацетальдегид.

3. Оксидазы со смешанной функцией и гидролазы локализованы в основном в печени, но присутствуют и в других тканях, таких как, кишечник, легкие, почки. Гидролазы присутствуют в плазме.

Подвижные фазы для ТСХ. Чаще всего упоминается смесь гексана с ацетоном 1 : 1 (позволяет отделить от ДДВФ, Rf которого выше).

**Метафос [О,О-диметил-О-(4-нитрофенил) тиофосфат].** Синонимы: параионметил, вофатокс, метилпараион, метацид, амофос, далф, метафор, матрон, нитротокс, теквайза, тиофенит.



$C_8H_{10}O_5PSN$  — белое кристаллическое вещество. Температура плавления — 35–37 °С. Растворимость в воде при 25 °С — 55–60 мг/л. Метафос хорошо растворим в спиртах, кетонах, сложных эфирах, плохо — в бензине, петролейном эфире. Препарат гидролизуется водой, щелочами, кислотами. Разрушается солнечным светом.

Относится к классу 1А: чрезвычайно опасные химические соединения (рекомендуемая ВОЗ классификация пестицидов по степени вредности).

Подвижные фазы для ТСХ. Чаще всего упоминается смесь гексана с ацетоном 9 : 1.

### **Химико-токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых экстракцией водой в сочетании с диализом.**

#### **Кислоты, щелочи — токсичность, изолирование, обнаружение, количественное определение**

К веществам, изолируемым из различных объектов экстракцией водой, относятся минеральные кислоты, щелочи и соли некоторых кислот. Очистка водных вытяжек проводится фильтрованием или центрифугированием, а затем методом диализа. Диализ заключается в извлечении из водных вытяжек низкомолекулярных веществ чистым растворителем с помощью полупроницаемой перегородки (мембраны), через которую не проходят коллоидные частицы. В качестве объектов исследования на наличие минеральных кислот ( $H_2SO_4$ ,  $HCl$ ,  $HNO_3$ ) и щелочей ( $KOH$ ,  $NaOH$ , раствор аммиака) берут желудок

с содержимым, рвотные массы, остатки пищи, части одежды. Для исследования биологического материала на наличие солей кроме вышеуказанных объектов берут печень.

Изолирование кислот, щелочей и солей из биологического материала. Объекты исследования измельчают, прибавляют дистиллированную воду до кашицеобразной массы, оставляют на 1–2 ч и фильтруют или центрифугируют. Для ускорения фильтрования применяют водоструйный насос. Очистка вытяжек от белковых веществ проводится с помощью диализа 2–3 раза (по 4–6 ч). Диализаты объединяют, упаривают на водяной бане до объема 5–10 мл, затем проводят характерные реакции.

При отравлениях кислотами наблюдаются изолированные ожоги желудка, реже — комбинированные ожоги пищевода и желудка. Лечение отравлений кислотами включает мероприятия, направленные на быстрое удаление кислот из ЖКТ, местное лечение ожога и коррекцию нарушений систем и органов, которые развиваются при ожоговой болезни.

**Серная кислота.** После диализа серную кислоту отгоняют и проводят реакции:

- 1) с хлоридом бария (белый осадок сульфата бария);
- 2) с ацетатом свинца, при наличии серной кислоты образуется белый осадок сульфата свинца, который не растворяется в азотной кислоте. Осадок растворяется в щелочах и в растворе ацетата аммония при нагревании;
- 3) с родизонатом натрия (красная окраска, которая исчезает от прибавления 1–2 капли дистиллята).

Количественное определение серной кислоты проводят титрованием отгона или диализата 0,1 М раствором гидроксида натрия (индикатор — метиловый оранжевый).

**Азотная кислота.** Поражаются ткани языка, пищевода, слизистая желудка, которые окрашиваются в желтый цвет.

Выделение аналогично методике выделения серной кислоты:

- 1) с дифениламином (синий). Мешают этой реакции нитраты, нитриты, хроматы и другие окислители;
- 2) с бруцином (красный). Мешают перхлораты, нитриты и другие окислители.

Реакция с дифениламином и бруцином дает и азотистая кислота. Для удаления азотистой кислоты применяют мочевины, сульфаминовую кислоту, соли аммония, азид натрия и др.

Количественное определение азотной кислоты проводят титрованием отгона или диализата 0,1 М раствором NaOH (индикатор — метиловый оранжевый).

**Соляная кислота.** Сначала проводят предварительную пробу на наличие HCl в диализате (реакция с нитратом серебра). При положительной

реакции хлороводородную кислоту отгоняют из диализата (хлориды остаются в растворе). На хлороводородную кислоту в дистилляте проводят реакции с нитратом серебра и хлоратом калия:

- 1) нитрат серебра — выделяется белый осадок;
- 2) хлорат калия — выделяется хлор, который обнаруживают по посинению иодид-крахмальной бумаги.

Количественное определение хлороводородной кислоты (при отсутствии сероводорода в исследуемом объекте) проводят титрованием части отгона или диализата по методу Фольгарда.

**Выделение едких щелочей из биоматериала.** Объекты исследования измельчают, заливают водой и оставляют на 2–3 ч. Смесь фильтруют и к фильтрату прибавляют 2–3 капли спиртового раствора фенолфталеина. При появлении розовой или красной окраски проводят исследование вытяжки на наличие катионов калия, натрия и аммония.

*Гидроксид калия:*

- 1) с гидротартратом натрия — белый;
- 2) с гексанитрокобальтатом натрия — желтый.

*Гидроксид натрия:*

- 1) с гексагидроксоантимонатом(V) натрия — белый;
- 2) с цинк-уранил-ацетатом — желто-зеленый осадок.

**Аммиак.** При разложении органов трупов всегда образуется определенные количества аммиака, сероводорода и других веществ. Прежде чем приступить к исследованию вытяжек на наличие аммиака, необходимо провести исследование вытяжек на присутствие сероводорода (почернение бумаги, смоченной ацетатом свинца). Только при отсутствии сероводорода проводят исследование биологического материала на наличие аммиака:

- 1) с сульфатом меди и лакмусом — синеют обе бумажки;
- 2) с реактивом Несслера — оранжево-коричневый.

Количественное определение едких щелочей и аммиака проводят титрованием диализата 0,1 М раствором НС1 (индикатор — фенолфталеин или метиловый оранжевый (аммиак)).

## **ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ГРУППУ ВЕЩЕСТВ, ИЗОЛИРУЕМЫХ ЭКСТРАКЦИЕЙ ВОДОЙ В СОЧЕТАНИИ С ДИАЛИЗОМ.**

### **НИТРАТЫ И НИТРИТЫ — ТОКСИЧНОСТЬ, ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ, КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ**

Нитрит натрия применяется для приготовления азокрасителей, что делает его доступным. Известны случаи употребления нитрита натрия вместо хлорида натрия в пищу. Нитраты щелочных металлов используются в качестве азотных удобрений (селитры), входят в состав ракетного топлива,

применяются в текстильной промышленности при окрашивании тканей. Основной путь поступления нитритов и нитратов в организм — пероральный. Отравления бывают как профессиональные, так и бытовые. Нитраты в организме восстанавливаются до нитритов. При отравлениях нитритами в крови образуется метгемоглобин, повреждающий мембраны эритроцитов. Под действием нитритов в организме образуются нитрозамины, которые являются канцерогенами.

Изолирование нитритов и нитратов из биологического материала проводится настаиванием исследуемых объектов с водой. Затем водные вытяжки фильтруют и подвергают диализу. Метод выделения нитритов из биологического материала аналогичен методу, который применяется для выделения щелочей и минеральных кислот. Диализаты нейтрализуют и проводят обнаружение нитритов при помощи реакции с диазотированной сульфаниловой кислотой, с реактивом Грисса и с иодид-крахмальной бумажкой.

*Выполнение реакции с сульфаниловой кислотой и β-нафтолом:* в пробирку вносят 1–2 капли нейтрализованного диализата, 2–3 капли 0,5%-ного раствора сульфаниловой кислоты в 2%-ной хлороводородной кислоты. Перемешивают и через 3–5 мин прибавляют каплю щелочного раствора β-нафтола. Появление оранжево-красной окраски указывает на наличие нитритов в диализате.

*Выполнение реакции с реактивом Грисса:* в пробирку вносят 2–3 капли нейтрализованного диализата, 3–4 капли реактива Грисса. Появление красной окраски указывает на наличие нитритов в диализате.

*Выполнение реакции обнаружения нитритов с помощью иодид-крахмальной бумажки:* 1 каплю 1%-ного раствора хлороводородной кислоты и 3–4 капли нейтрализованного диализата наносят на иодид-крахмальную бумажку. Появление синей окраски указывает на наличие нитритов в диализате или дистилляте.

Для решения вопроса о составе нитритов проводят характерные реакции на ионы калия и натрия. При определении нитратов предварительно необходимо удалить нитриты с помощью азиды натрия или сульфаниловой кислоты, а затем проводят реакции с дифениламином (синяя окраска) и сульфатом железа (II) в присутствии концентрированной серной кислоты (появляется бурое окрашивание).

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Анализ наркотических средств: руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств* / под ред. Б. Н. Изотова. – М. : Мысль, 1993. – 259 с.
2. *Брусин, К. М.* Острые отравления новыми синтетическими наркотиками психостимулирующего действия : информ. письмо / К. М. Брусин, О. В. Забродин, Т. Х. Уразаев. – Екатеринбург, 2011. – 18 с.
3. *Винарский, В. А.* Хроматография : курс лекций : в 2 ч. / В. А. Винарский. – Минск, 2003. – 170 с.
4. *Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии* / под ред. А. Хеншен, К.-П. Хупе, Ф. Лотшпайх, В. Вёльтер. – М. : Мир, 1988. – 688 с.
5. *Головкин, А. И.* Современная классификация психоактивных веществ / А. И. Головкин // Наркология. – 2007. – Т. 8. – С. 87–90.
6. *Другов, Ю. С.* Экологическая аналитическая химия / Ю. С. Другов, А. А. Родин. – СПб. : Анатолия, 2000. – 464 с.
7. *Еремин, С. К.* Анализ наркотических средств / С. К. Еремин, Б. Н. Изотов, Н. В. Веселовская. – М. : Мысль, 1993. – 272 с.
8. *Еришов, Ю. А.* Механизмы токсического действия неорганических соединений / Ю. А. Еришов, Т. В. Плетенева. – М. : Медицина, 1989. – 272 с.
9. *Жебентяев, А. И.* Металлические яды : учеб. пособие / А. И. Жебентяев, В. М. Ершик. – Витебск : ВГМУ, 2009. – 72 с.
10. *Жебентяев, А. И.* Тестовые задания с ответами по токсикологической химии / А. И. Жебентяев. – Витебск : ВГМУ, 2005. – 79 с.
11. *Жебентяев, А. И.* Токсикологическая химия : учеб. пособие / А. И. Жебентяев, Н. А. Алексеев. – Витебск : ВГМУ, 2003. – 249 с.
12. *Жебентяев, А. И.* Химико-токсикологический анализ лекарственных веществ : учеб. пособие / А. И. Жебентяев, В. М. Ершик. – Витебск : ВГМУ, 2009. – 155 с.
13. *Жильцова, О. Е.* Химико-токсикологический анализ. Часть 2 : учеб. пособие / О. Е. Жильцова. – Нижний Новгород : ПИМУ, 2018. – 150 с.
14. *Иванов, В. В.* Курительные смеси — новая проблема отечественной психиатрии / В. В. Иванов, А. А. Синевич, А. В. Шашкевич // Психиатрия, психотерапия и клиническая психология. – 2013. – № 2 (12). – С. 89–95.
15. *Калетина, Н. И.* Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов / Н. И. Калетина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1016 с.
16. *Отравления наркотическими средствами, действующими на опиоидные рецепторы. Клиническая и лабораторная диагностика : учеб.-метод. пособие* / В. С. Камышников [и др.] ; под ред. В. С. Камышникова. – Минск : Адукацыя і выхаванне, 2010. – 72 с.
17. *Кирхнер, Ю.* Тонкослойная хроматография : в 2 т. : пер. с англ. / Ю. Кирхнер. – М. : Мир, 1981. – Т. 1. – 612 с.
18. *Крамаренко, В. Ф.* Токсикологическая химия : учеб. / В. Ф. Крамаренко. – Киев : Вища шк., 1989. – 447 с.
19. *Крамаренко, В. Ф.* Химико-токсикологический анализ : практикум / В. Ф. Крамаренко. – Киев : Вища шк., 1982. – 272 с.
20. *Жебентяев, А. И.* Лабораторное руководство по токсикологической химии. Часть 2 : пособие / А. И. Жебентяев. – Витебск : ВГМУ, 2021. – 175 с.

21. *Лебедев, А. Т.* Масс-спектрометрия в токсикологических исследованиях / А. Т. Лебедев // Токсикологический вестник. – 2010. – № 4. – 64 с.
22. *Логутов, В. И.* Детекторы для газовых хроматографов : учеб.-метод. пособие / В. И. Логутов. – Нижний Новгород : ННГУ, 2017. – 51 с.
23. *Лужников, Е. А.* Острые отравления / Е. А. Лужников, Л. Г. Костомарова. – М. : Медицина, 1989. – 432 с.
24. *Максимычев, А. В.* Адсорбционная газовая хроматография : учеб.-метод. пособие / А. В. Максимычев. – М. : МФТИ, 2009. – 51 с.
25. *Маркова, И. В.* Клиническая токсикология детей и подростков : учеб. пособие : в 2 т. / И. В. Маркова, В. В. Афанасьев, Э. К. Цыбульский. – Т. 1. – СПб. : Интермедика, 1998. – 304 с.
26. *Маркова, И. В.* Клиническая токсикология детей и подростков : учеб. пособие : в 2 т. / И. В. Маркова, В. В. Афанасьев, Э. К. Цыбульский. – Т. 2. – СПб. : Интермедика, 1999. – 400 с.
27. *Марчукова, С. М.* Медицина в зеркале истории / С. М. Марчукова. – СПб. : Европ. Дом, 2003. – 269 с.
28. *Лабораторное* руководство по хроматографическим и смежным методам : в 2 ч. / О. Микеш, И. Новак, З. Прохазка [и др.]. – М. : Мир, 1982. – 781 с.
29. *Митрука, Б. М.* Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине : пер. с англ. / Б. М. Митрука. – М. : Медицина, 1978. – 607 с.
30. *Наркотики*: свойства, действие, фармакокинетика, метаболизм : учеб. пособие / Н. В. Веселовская [и др.]. – 3-е изд., перераб., испр. и доп. – М. : Нарконет, 2008. – 262 с.
31. *Плетенева, Т. В.* Токсикологическая химия : учеб. для вузов / под ред. Т. В. Плетеневой. – 2-е изд., испр. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 512 с.
32. *Прасмыцкий, О. Т.* Основы токсикологии : метод. рекомендации / О. Т. Прасмыцкий, И. З. Ялонецкий. – Минск : БГМУ, 2007. – 52 с.
33. *Рожанцев, В. В.* Феномен Spice / В. В. Рожанцев // Наркология. – 2010. – № 3. – С. 80–84.
34. *Сивухин, Д. В.* Общий курс физики. Термодинамика и молекулярная физика / Д. В. Сивухин. – М. : Наука, 1979. – 552 с.
35. *Соломзес, Дж. А.* Наркотики и общество / Дж. А. Соломзес, В. Чебурсон, Г. Соколовский. – М. : Иллойн, 1998. – 192 с.
36. *Синтетические* каннабиноиды. Состояние проблемы / Г. Софронов [и др.] // Наркология. – 2012. – № 10 (130). – С. 97–110.
37. *Стыскин, Е. Л.* Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография / Е. Л. Стыскин, Л. Б. Ициксон, Е. В. Брауде. – М. : Химия, 1986. – 213 с.
38. *Токсикологическая* химия. Метаболизм и анализ токсикантов : учеб. пособие для вузов / Е. Ю. Афанасьева [и др.]; под ред. Н. И. Калетиной. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1016 с.
39. *Токсикологическая* химия. Часть 1 : учеб. пособие. – Оренбург : ОрГМУ, 2022. – 24 с.
40. *Обоснование* необходимости клинико-лабораторной диагностики наркотического опьянения, вызванного каннабисом: этапы исследования / А. М. Турцевич [и др.] // Весці НАН Беларусі. – 2012. – № 2. – С. 117–123.
41. *Франкевич, Е. Л.* Физические методы исследования : учеб. пособие : в 3 ч. / Е. Л. Франкевич. – Долгопрудный : МФТИ, 1978. – 119 с.

42. *Химико-аналитическое* определение наркотических и допинговых средств : учеб. пособие / Б. А. Руденко [и др.]. – М. : Нарконет, 2007. – 368 с.
43. *Шилейко, И. Д.* Новое поколение наркотиков: состояние проблемы / И. Д. Шилейко, О. Р. Айзберг, А. Т. Кузьменко // *Лечебное дело*. – 2015. – № 2 (42). – С. 27–30.
44. *Экспертное* исследование производных амфетамина : метод. рекомендации / И. Г. Алексеев [и др.]. – М. : ЭКЦ МВД России, 1997. – 47 с.
45. *A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids)* / R. Vandrey, K. E. Dunn, J. A. Fry, E. R. Girling // *Drug and Alcohol Dependence*. – 2012. – Vol. 120 (1–3). – P. 238–241.
46. *Bird, I. M.* High performance liquid chromatography: principles and clinical applications / I. M. Bird // *British Medical Journal*. – 1989. – Vol. 299. – P. 783–787.
47. *Cannabinoid* structure-activity relationships: correlation of receptor binding and in vivo activities / D. R. Compton, K. C. Rice, B. R. De Costa [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1993. – Vol. 265. – P. 265.
48. *Cannabis* use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review / T. H. Moore, S. Zammit, A. Lingford-Hughes [et al.] // *Lancet*. – 2007. – Vol. 370, № 9584. – P. 319–328.
49. *David, F.* Stir bar sorptive extraction for trace analysis / F. David, P. Sandra // *Journal of Chromatography A*. – 2007. – P. 54–69.
50. *Dual-phase* twistors: a new approach to headspace sorptive extraction and stir bar sorptive extraction / C. Bicchi [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2005. – P. 9–16.
51. *Evaluation* of the usefulness of extrelut (R) columns obtained from MERCK for isolation of N-nitrosodimethylamine (NDMA) in the water phase / J. Jablonski [et al.] // *Medycyna Pracy*. – 1996. – Vol. 47 (2). – 47 p.
52. *Humbert, L.* Extraction en phase solide (SPE): theorie et applications / L. Humbert // *Annales de Toxicologie Analytique*. – 2010. – P. 61–68.
53. *Liquid-liquid* extraction in flow analysis: a critical review / C. I. C. Silvestrea [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2009. – Vol. 652 (1–2). – P. 54–65.
54. *Liquid-phase* microextraction of basic drugs — selection of extraction mode based on computer calculated solubility data / S. Pedersen-Bjergaard [et al.] // *The Journal of Separation Science*. – 2005. – Vol. 28 (11). – P. 1195–1203.
55. *Pacher, P.* The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy / P. Pacher, S. Batkai, G. Kunos // *Pharmacological Reviews*. – 2006. – Vol. 58 (3). – P. 389–462.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие .....	3
Список сокращений .....	4
Введение .....	5
Общие вопросы по токсикологической химии .....	6
Цели и задачи учебной дисциплины «Токсикологическая химия» .....	6
История развития токсикологической химии .....	7
Основные разделы токсикологической химии: аналитическая токсикология и биохимическая токсикология .....	8
Яды и их классификации .....	9
Отравления и их классификации. Характер и причины отравлений. Диагностические мероприятия при отравлениях .....	11
Первая помощь при отравлениях .....	13
Методы искусственной детоксикации: аферетические методы, диализ и фильтрация крови (лимфы), сорбция, физиогемотерапия .....	14
Методы антидотной детоксикации. Особенности антидотной терапии .....	17
Особенности химико-токсикологического анализа. Подходы и методы токсикологической химии. Этапы химико-токсикологического исследования .....	19
Объекты химико-токсикологического или судебно-химического анализа. Отбор и хранение биологических сред. Оформление документации .....	22
Общие положения производства судебно-химических экспертиз .....	23
Порядок проведения судебно-медицинской химической экспертизы, основания для ее проведения .....	25
Объекты для проведения судебно-химической экспертизы. Правила изъятия, направления и доставки трупного материала на лабораторные исследования .....	26
Квалификация эксперта. Обязанности и ответственность государственного медицинского эксперта-химика .....	29
Права и ответственность государственного медицинского эксперта-химика .....	30
Оформление заключения эксперта при экспертизе трупа, вещественных доказательств и материалов дела .....	32

Пути поступления токсических веществ в организм.	
Основные виды транспорта токсических веществ через мембрану. Механизмы повреждения мембран.....	34
Токсичность метаболитов. Фазы метаболизма чужеродных соединений. Терапевтические, токсические и летальные концентрации .....	38
Классификация метаболических превращений.	
Факторы, влияющие на метаболизм ксенобиотиков в организме .....	40
Распределение ядов в организме. Экскреция чужеродных соединений и их метаболитов .....	42
Факторы, влияющие на токсичность химических соединений .....	44
Изменения в биоматериале после наступления смерти.....	46
Летальный синтез. Эндогенная интоксикация. Понятия, примеры.....	48
Первичная обработка различных объектов исследования в зависимости от используемого метода анализа. Особенности подготовки проб крови и проб мочи (гидролиз, дериватизация) .....	51
Предварительные пробы на наличие токсических веществ в биологических жидкостях. Хроматографический иммуноферментный анализ (тест-полоски) .....	54
Подтверждающие методы химико-токсикологических исследований. Обоснование выбора. Интерпретация результатов исследования, совокупная оценка всех данных.....	56
Выделение токсических веществ из биологических объектов методом твердо-жидкостной экстракции .....	58
Общие методы изолирования токсических веществ: методы Стаса-Отто, Драгендорфа, Швайковой-Васильевой.....	61
Основы жидкость-жидкостной экстракции. Константа и коэффициент распределения. Свойства и экстрагирующая способность растворителей. Факторы, определяющие эффективность выделения токсических веществ из биологических объектов. Выбор оптимальных условий экстракции.....	63
Основы метода твердофазной экстракции. Этапы проведения .....	66
Сочетание методов концентрирования с методами очистки и анализа. Способы и методы очистки водных извлечений и экстрактов.....	68
Методы количественного определения токсических веществ в биологическом материале (нормализации, абсолютной градуировки, внутреннего стандарта).....	69

Определение понятий: «скрининг», «направленный скрининг», «ненаправленный скрининг». Общая схема ненаправленного скрининга. Основные требования, предъявляемые к скрининговым методам.....	70
Отдельные группы токсикантов. Металлические яды .....	71
Экология окружающей среды. Роль химических элементов в организме человека .....	71
Стабильность химического состава организма. Эссенциальные и токсические микроэлементы. Синергизм и антагонизм микроэлементов в организме человека.....	73
Распространение в природе металлов. Перечень «металлических» ядов, подлежащих судебно-химическому исследованию.....	75
Всасывание, превращение, транспорт, распределение и выведение «металлических» ядов .....	77
Классификация методов изолирования соединений тяжелых металлов из биологических объектов (сухое озоление, влажное озоление, другие методы).....	79
Техника проведения минерализации концентрированными кислотами. Подготовка минерализата к исследованию. Методы денитрации .....	81
СВЧ-минерализация. Сущность метода. Преимущества и недостатки ..	85
Методы качественного определения «металлических» ядов.....	86
Методы количественного определения «металлических» ядов .....	90
Анализ минерализата системным и дробным методами.....	93
Частный метод минерализации для определения ртути. Методы обнаружения ртути. Демеркуризация .....	95
Атомно-абсорбционная спектрофотометрия. Сущность метода. Преимущества и недостатки метода.....	98
Атомно-эмиссионная спектрофотометрия. Сущность метода. Преимущества и недостатки метода.....	100
«Летучие» яды.....	103
Распространенность отравлений «летучими» ядами. Перечень «летучих» ядов, подлежащих обязательному судебно-химическому исследованию при подозрении на отравление неустановленным ядом .....	103
Классификация «летучих» ядов по кислотно-основным свойствам. Выбор объекта исследования.....	104

Изолирование «летучих» токсикантов перегонкой с водяным паром. Способы разделения азеотропных смесей. Аппарат для перегонки с водяным паром .....	106
Особенности изолирования синильной, уксусной кислот, этиленгликоля, метанола. Способы концентрирования, очистки и выделения «летучих» токсикантов .....	108
Токсикологическое значение галогенопроизводных углеводов, токсикокинетика, метаболизм .....	110
Исследование дистиллята химическим методом. Последовательность проведения реакций обнаружения синильной кислоты, формальдегида, ацетона, метанола, этанола, алкилгалогенидов, фенола, крезолов .....	113
Общая характеристика метода газовой хроматографии. Газохроматографический анализ «летучих» токсикантов.....	119
Хроматографические колонки, адсорбенты, неподвижные жидкие фазы, подвижные фазы, детекторы .....	121
Пробоподготовка в газохроматографическом анализе «летучих» токсикантов: анализ равновесной парогазовой фазы, твердофазная микроэкстракция.....	123
Метиловый спирт, его свойства и токсикологическое значение. Распространенность отравлений метанолом. Биотрансформация метанола. Оказание первой помощи.....	125
Этиловый спирт, его свойства и токсикологическое значение. Механизм действия этанола на организм человека. Острая и хроническая алкогольная интоксикация .....	126
Объекты исследования и правила отбора пробы у живых лиц и трупного материала при исследовании на содержание этанола...	128
Газохроматографическое обнаружение и количественное определение алифатических спиртов. Основы алкилнитритного метода определения спиртов в биологическом материале .....	129
Оксид углерода (II), его свойства и токсикологическое значение. Классификация отравлений оксидом углерода (II) по степени тяжести. Судебно-медицинская оценка результатов количественного определения карбоксигемоглобина в крови.....	130
Лекарственные средства, наркотические вещества .....	133
Классификация лекарственных веществ для проведения химико-токсикологического анализа .....	134

Использование хроматографии в тонком слое сорбента для обнаружения лекарственных соединений.	
Сущность метода, техника выполнения.....	135
Алкалоиды. Общая характеристика .....	137
Химико-токсикологический анализ производных пиридина и пиперидина (никотин, анабазин), тропана (атропин, кокаин). Токсичность, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	141
Химико-токсикологический анализ производных хинолина (хинин), изохинолина (папаверин). Токсичность, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	147
Химико-токсикологический анализ производных индола (стрихнин, бруцин), ксантина (кофеин, теofilлин, теобромин). Токсичность, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	151
Значение предварительных проб при отравлении лекарственными веществами. Предварительные пробы на анальгин, салицилаты, фенотиазины методами аналитической химии.....	154
Производные барбитуровой кислоты. Общая характеристика группы. Токсичность. Пути метаболизма .....	156
Частные методы изолирования барбитуратов в биологическом материале.....	158
Методы идентификации, качественное и количественное исследование наличия барбитуратов в биологическом материале ....	160
Производные 1,4-бензодиазепина. Общая характеристика группы. Токсичность. Пути метаболизма. Антидоты.....	163
Схема исследования внутренних органов трупа на наличие производных 1,4-бензодиазепина по нативным веществам, по метаболитам .....	166
Химико-токсикологический анализ производных пиразола (феназон, метамизол натрия, фенилбутазон). Токсичность, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	168
Химико-токсикологический анализ на производные пара-аминобензойной кислоты (прокаин, новокаин). Токсичность, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	171

Химико-токсикологический анализ производных фенотиазина (аминазин, левомепромазин). Токсичность, изолирование, обнаружение и количественное определение.....	173
Химико-токсикологический анализ в диагностике наркотического опьянения. Наркотические анальгетики, производные фенантренизохинолина (морфин, кодеин) — токсичность, метаболизм, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	178
Химико-токсикологический анализ в диагностике наркотического опьянения. Фенилалкиламины (эфедрин, амфетамин, метамфетамин) — токсичность, метаболизм, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	185
Химико-токсикологический анализ в диагностике наркотического опьянения. Наркотические анальгетики, производные фенилпиперидина (фентанил, трамадол) — токсичность, метаболизм, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	189
Общая характеристика и химико-токсикологический анализ в диагностике наркотического опьянения. Каннабиноиды — токсичность, изолирование, обнаружение и количественное определение.....	191
Общая характеристика и химико-токсикологический анализ в диагностике наркотического опьянения. Синтетические каннабиноиды (курительные смеси синтетического происхождения) — токсичность, социальное значение, профилактика.....	194
Химико-токсикологический анализ в диагностике наркотического опьянения. Галлюциногены растительного происхождения (псилоцин, псилоцибин, мускарин) — токсичность, метаболизм, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	196
Химико-токсикологический анализ в диагностике наркотического опьянения. Галлюциногены синтетического происхождения (ЛСД, фенциклидин) — токсичность, метаболизм, изолирование, обнаружение и количественное определение .....	197
Схема исследования мочи на наличие наркотических веществ. Качественные и количественные методы определения в биологическом материале.....	199

Наркомания, виды наркоманий. Наркотики, действующие на центральную нервную систему. Общая характеристика, классификация, типы зависимости.....	201
Применение метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для целей химико-токсикологического анализа. Преимущества и недостатки метода. Основы метода .....	203
Применение метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии для целей химико-токсикологического анализа. Преимущества и недостатки метода. Основы метода.....	205
Пестициды. Общая характеристика группы. Классификация пестицидов по химической природе, по назначению, по токсичности .....	208
Фосфорорганические пестициды. Общая характеристика группы. Пути метаболизма. Сущность холинэстеразной пробы при исследовании пестицидов .....	209
Химико-токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых экстракцией водой в сочетании с диализом. Кислоты, щелочи — токсичность, изолирование, обнаружение, количественное определение .....	212
Химико-токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых экстракцией водой в сочетании с диализом. Нитраты и нитриты — токсичность, изолирование, обнаружение, количественное определение .....	214
Список использованной литературы.....	216

Учебное издание

**Вергун Ольга Михайловна**

# **ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

Учебное пособие

Ответственный за выпуск Р. И. Лукашов  
Редактор О. П. Головицкая  
Компьютерная вёрстка М. Г. Лободы

Подписано в печать 22.08.25. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».  
Ризография. Гарнитура «Times».  
Усл. печ. л. 13,14. Уч.-изд. л. 13,12. Тираж 90 экз. Заказ 554.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования  
«Белорусский государственный медицинский университет».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,  
распространителя печатных изданий № 1/187 от 24.11.2023.  
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.