

Т.Х.Вергейчик


ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Учебник для студентов
фармацевтических вузов и факультетов

*Под редакцией профессора **Е.Н.Вергейчика***

Рекомендуется Учебно-методическим объединением
по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России
в качестве учебника для студентов, обучающихся по специальности
060108 (040500) – «Фармация»

Четвертое издание

 Москва
«МЕДпресс-информ»
2013

УДК 615.9
ББК 52.84я73
В31

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

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

Внимательно изучайте сопроводительные инструкции изготовителя по применению лекарственных средств.

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

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

Рецензенты:

заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ Первый МГМУ им. И.М.Сеченова, директор НИИ фармации, доктор фармацевтических наук, профессор **Г.В.Раменская**;

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

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

Вергейчик Т.Х.

В31 Токсикологическая химия : учебник / Т.Х.Вергейчик ; под ред. проф. Е.Н.Вергейчика. – 4-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2013. – 432 с. : ил.
ISBN 978-5-98322-964-8

Учебник составлен в соответствии с Государственным образовательным стандартом и программой по токсикологической химии для специальности «Фармация». В учебнике изложены основные вопросы биохимической и аналитической токсикологии. Рассмотрены вопросы токсикокинетики, биотрансформации ксенобиотиков в организме человека и возможные процессы, проходящие с ними в трупном материале. Приведены общая характеристика объектов химико-токсикологического анализа и способы изолирования чужеродных веществ из различных объектов, методы очистки получаемых извлечений, теоретические основы и возможности использования классических и современных методов анализа при химико-токсикологических исследованиях. В учебнике представлен материал по последним исследованиям новых наркотических веществ и смесей, имеющих токсикологическое значение.

Для студентов фармацевтических вузов и фармацевтических факультетов.

УДК 615.9
ББК 52.84я73

ISBN 978-5-98322-964-8

© Вергейчик Т.Х., 2012

© Оформление, оригинал-макет, иллюстрации.

Издательство «МЕДпресс-информ», 2012

Оглавление

Предисловие	9
Предисловие к 3-му изданию	10
Глава 1. Становление и развитие токсикологической химии	11
1.1. Судебная медицина и судебная химия в XVII–XIX столетиях	11
1.2. Судебная химия в России в XX столетии	13
1.3. Основные направления развития токсикологической химии	16
1.4. Токсикологическая химия в фармацевтическом образовании	18
1.5. Ядовитые вещества как предмет изучения токсикологической химии и их классификация	19
1.6. Проблемы токсикологической химии	19
Глава 2. Правовые основы химико-токсикологического анализа	20
2.1. Анализ вещественных доказательств (судебно-химическая экспертиза)	20
2.2. Химико-токсикологический анализ при острых интоксикациях	24
2.3. Экспертиза алкогольного, наркотического и токсикоманического опьянения	25
2.4. Санитарно-гигиеническая экспертиза среды обитания и пищевых продуктов	28
2.5. Экспертиза наркотических, сильнодействующих веществ и кустарно изготовленных средств наркотического действия	29
Глава 3. Токсикологическая химия и основы токсикологии	30
3.1. Связь токсикологической химии и токсикологии	30
3.2. Доза (концентрация) ядовитого вещества	30
3.3. Виды, классификация, клинические стадии отравлений	32
3.4. Пути поступления ядов в организм	33
3.5. Всасывание ядовитых веществ	33
3.6. Распределение ядов в организме	36
3.7. Особенности токсического действия некоторых ядовитых веществ	37
Глава 4. Биотрансформация ксенобиотиков в организме человека и животного	41
4.1. Понятие о «летальном синтезе»	41
4.2. Процессы превращения веществ в организме (I фаза метаболизма)	43
4.3. Конъюгация ксенобиотиков и метаболитов (II фаза метаболизма)	49
4.4. Факторы, влияющие на метаболизм ксенобиотиков	54
4.5. Выведение ксенобиотиков и их метаболитов из организма	57
4.6. Возможные превращения ксенобиотиков в трупах, образование трупных ядов (птомаинов)	59
Глава 5. Основные методы детоксикации организма при острых отравлениях	63
5.1. Усиление естественной детоксикации организма	63
5.2. Методы искусственной детоксикации организма	65
5.2.1. Интракорпоральные методы детоксикации	66
5.2.2. Экстракорпоральные методы детоксикации	66
5.3. Методы антидотной терапии	68
Глава 6. Выбор методов изолирования ядовитых веществ	74
6.1. План проведения химико-токсикологического анализа	74
6.2. Характеристика объектов химико-токсикологического анализа	80
6.3. Подготовка объектов к изолированию ядовитых веществ	82
6.4. Изолирование токсических веществ путем экстракции и сорбции	84

6.4.1. Изолирование лекарственных и наркотических веществ амфифильными растворителями	93
6.4.2. Изолирование подкисленной водой	94
6.4.3. Изолирование подщелоченной водой	96
6.4.4. Изолирование наркотических и одурманивающих веществ из мочи твердофазной экстракцией	96
6.4.5. Экстракция органическими растворителями	97
6.4.6. Экстракция водой в сочетании с диализом	99
6.5. Методы минерализации	99
6.5.1. Методы «мокрой минерализации»	100
6.5.2. Метод минерализации для обнаружения ртути в объекте	102
6.5.3. Методы «сухого озоления»	103
6.6. Методы изолирования «летучих» ядов	104
6.6.1. Метод перегонки с водяным паром	104
6.6.2. Методы «микрперегонки» и микродиффузии	108
Глава 7. Методы обнаружения ядовитых веществ в извлечениях из объектов	109
7.1. Методы предварительного анализа	113
7.1.1. Понятие об аналитическом скрининге в химико-токсикологическом анализе	113
7.1.2. ТСХ-скрининг в нормально-фазовом варианте	114
7.1.3. ТСХ-скрининг в варианте «Toxi-Lab AB»	120
7.1.4. ТСХ-скрининг в обращенно-фазовом варианте (ОФТСХ)	121
7.1.5. Внутригрупповой ТСХ-скрининг в частных системах растворителей	122
7.1.6. Газожидкостная хроматография	123
7.1.6.1. ГЖХ-скрининг в анализе лекарственных и наркотических веществ в извлечениях из мочи	125
7.1.6.2. ГЖХ-скрининг в анализе «летучих» ядов	126
7.1.7. Иммунохимические методы скрининга лекарственных и наркотических веществ	128
7.1.8. Аналитический скрининг с помощью химических реакций	132
7.2. Методы подтверждающего анализа	133
7.2.1. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии	133
7.2.2. Методы ИК- и УФ-спектроскопии	135
7.2.3. Хроматомасс-спектрометрия	140
7.2.4. Люминесцентный метод анализа	142
7.2.5. Микрориспалоскопический метод	143
7.2.6. Фармакологические (физиологические) пробы	144
7.2.7. Фармакогностический анализ	145
Глава 8. Обнаружение и определение индивидуальных лекарственных и наркотических веществ	147
8.1. Производные пиримидин-2,4,6-триона (барбитураты)	147
8.2. Производные 1,4-бензодиазепина	161
8.3. Производные фенотиазина	170
8.4. Производные пиразола	176
8.5. Производные пурина	184
8.6. Производные фенилалкиламина	188
8.7. Каннабиноиды и курительные смеси	196
8.7.1. Растительные каннабиноиды	196
8.7.2. Курительные смеси	201
8.8. Производные индола и некоторые галлюциногены	208
8.8.1. Алкалоиды чилибухи	208

8.8.2. Производные индола – галлюциногены	213
8.8.2.1. LSD и буфотенин	213
8.8.2.2. Грибы, содержащие галлюциногены	217
8.8.3. Фенциклидин и его аналоги (галлюциногены)	226
8.9. Опиаты и опиоиды	229
8.9.1. Алкалоиды мака снотворного и их синтетические аналоги	229
8.9.2. Опиоиды	246
8.9.3. Количественное определение опиатов и опиоидов	251
8.10. Производные тропана	253
8.11. Производные пиридина и пиперидина	266
8.12. Производные хинолина	273
8.13. Производные п-аминобензойной кислоты	278
Глава 9. Методы обнаружения и определения «летучих» ядов	284
9.1. Обнаружение спиртов (C_1-C_3) с помощью газожидкостной хроматографии	284
9.2. Газохроматографический метод обнаружения хлорорганических и ароматических углеводородов	285
9.3. Количественное определение «летучих» ядов с помощью газожидкостной хроматографии	286
9.4. Обнаружение и определение «летучих» ядов с помощью химических реакций	287
9.4.1. Синильная кислота	288
9.4.2. Формальдегид	292
9.4.3. Этиловый спирт	296
9.4.4. Метиловый спирт	302
9.4.5. Амиловые спирты	304
9.4.6. Алкилгалогениды	307
9.4.7. Ацетон (пропанон, диметилкетон)	312
9.4.8. Фенол (карболовая кислота)	314
9.4.9. Крезолы (метилфенолы, гидрокситолуолы)	317
9.4.10. Хлористый этилен (1,2-дихлорэтан)	319
9.4.11. Этиленгликоль	322
9.4.12. Уксусная кислота	325
Глава 10. Группа «металлических» ядов	329
10.1. Понятие об атомно-абсорбционной спектрометрии	330
10.2. Понятие об атомно-флуоресцентном анализе	332
10.3. Понятие об атомно-эмиссионном анализе	332
10.4. Понятие о рентгено-флуоресцентном анализе	334
10.5. Дробный (химический) метод анализа «металлических» ядов в минерализате	334
10.5.1. Соединения свинца	335
10.5.2. Соединения бария	338
10.5.3. Соединения марганца	341
10.5.4. Соединения хрома	343
10.5.5. Соединения серебра	346
10.5.6. Соединения мышьяка	349
10.5.7. Соединения меди	355
10.5.8. Соединения висмута	358
10.5.9. Соединения цинка	361
10.5.10. Соединения сурьмы	364
10.5.11. Соединения таллия	366
10.5.12. Соединения кадмия	368

10.5.13. Соединения ртути	371
Глава 11. Группа пестицидов	375
11.1. Общая характеристика пестицидов	375
11.2. Химико-токсикологическое значение и анализ хлорорганических пестицидов	376
11.2.1. Гексахлорциклогексан	377
11.2.2. Гептахлор	381
11.2.3. Токсикологическое значение других хлорорганических пестицидов	382
11.3. Химико-токсикологическое значение и анализ фосфорсодержащих пестицидов	383
11.3.1. Характеристика некоторых фосфорсодержащих пестицидов	383
11.3.2. Методы изолирования и обнаружения фосфорсодержащих пестицидов	386
11.3.3. Методы количественного определения фосфорорганических пестицидов	391
11.4. Химико-токсикологическое значение и анализ эфиров карбаминной кислоты	391
11.5. Химико-токсикологическое значение и анализ пиретроидов	394
11.6. Неорганические ядохимикаты и органические препараты ртути	400
11.6.1. Гранозан (этилмеркурхлорид)	400
11.6.2. Фториды и кремнефториды	402
11.6.3. Фосфид цинка	405
Глава 12. Некоторые ядовитые газы	407
12.1. Оксид углерода(II)	407
12.2. Хлор	412
Глава 13. Минеральные кислоты, едкие щелочи и некоторые соли, извлекаемые из объекта водой	413
13.1. Общая характеристика и токсикологическое значение	413
13.2. Исследование диализата на минеральные кислоты	415
13.3. Исследование диализата на нитриты и нитраты	418
13.4. Исследование диализата на едкие щелочи и аммиак	419
Заключение	421
Литература	422
Алфавитный указатель	427

ПРЕДИСЛОВИЕ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Все критические замечания будут приняты автором с благодарностью.

ПРЕДИСЛОВИЕ К 3-МУ ИЗДАНИЮ

При подготовке 2-го издания учебник не подвергался значительному изменению по структуре изложения материала.

В 3-м издании дополнен материал по исследованию веществ галлюциногенного действия, исключены разделы, касающиеся веществ, потерявших в настоящее время актуальность. Включен материал по новым токсическим веществам, которые приобрели токсикологическое значение в последние годы. В частности, это касается курительных смесей и новых наркотических веществ (дезоморфин).

Список литературы по различным разделам учебника дополнился новыми источниками, и из него исключены некоторые источники, не имеющие значения для современной токсикологической химии.

Автор выражает благодарность коллегам из Первого МГМУ им. И.М.Сеченова, Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии, Пермской государственной фармацевтической академии, а также всем читателям, сообщившим о различных недочетах в первом издании учебника.

Т.Х.Вергейчик

Глава 1. СТАНОВЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

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

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

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

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

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

*«Что ныне надобьем слывет, то завтра станет ядом.
И что ж? Лекарством этот яд сочтут больные».*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

1.2. Судебная химия в России в XX столетии

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5.3. Методы антидотной терапии

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Физико-химические (токсикотропные) противоядия

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

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

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

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

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

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

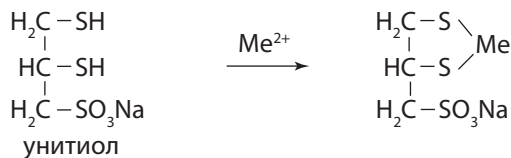
Хлорид натрия – $NaCl$ (0,9%) – антидот для солей серебра. Образуется нерастворимый $AgCl$.

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

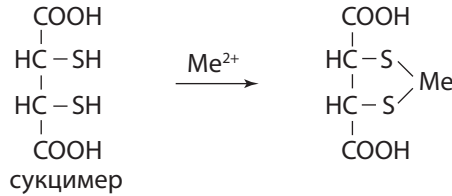
Раствор йода осаждает соли серебра, свинца, ртути, хинина, стрихнина.

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

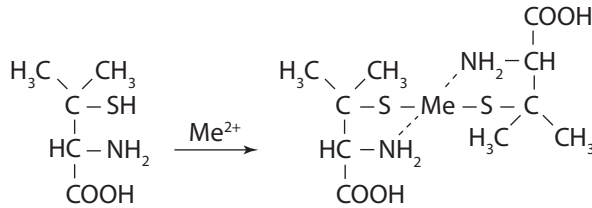
При отравлении различными соединениями мышьяка, ртути, меди, кадмия широко применяют **тиоловые соединения**, в частности отечественный препарат **унитиол**. Он взаимодействует не только со свободными, но и связанными с ферментами ионами металлов. В результате освобождаются ранее связанные с ионами металлов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



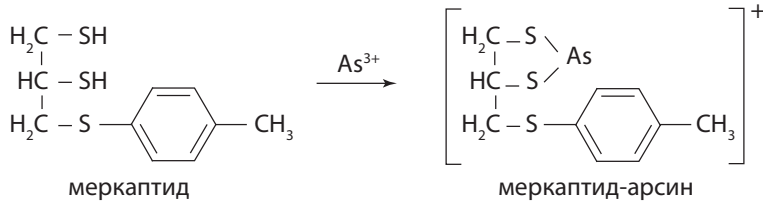
Аналогично действует антидот **сукцимер** (димеркаптоянтарная кислота). Этот препарат имеет также две сульфгидрильные группы и используется при отравлении соединениями свинца, ртути и других металлов.



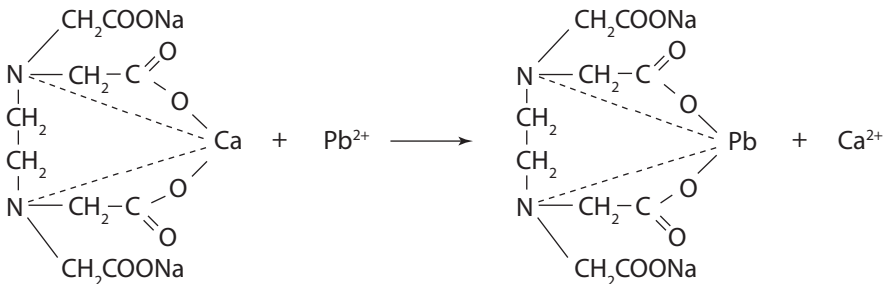
При свинцовых отравлениях более эффективным оказался **пеницилламин**. В молекуле этого антидота содержится атом азота, сульфгидрильная и карбоксильная группы, за счет которых он образует прочное соединение с ионами металлов.



При отравлении мышьяковистым водородом унитиол малоэффективен. В этом случае антидотом может быть **атарсин** или **меркаптид**, который образует прочный комплекс с мышьяком.



Одним из универсальных хелатообразующих соединений является этилендиаминотетрауксусная кислота (ЭДТУ). Отечественным препаратом ЭДТУ является **тетацин-кальций** (кальциевый комплекс динатриевой соли этилендиаминотетрауксусной кислоты). В организме человека в результате взаимодействия ион кальция замещается на ион металла (свинца, ртути, кадмия, бария и др.).



Комплексообразование лишает яд присущей ему токсичности, и он быстро выводится из организма. Появление этого соединения привело к значительным успехам в лечении отравлений свинцом. Тетацин-кальций вводят внутривенно на протяжении часа ежедневно в дозе 50–75 мг/кг в течение 5 дней, затем через 7 дней при необходимости введение препарата повторяют.

Наряду с тетацин-кальцием применяется **дицикобальта эдетат** (кобальтовый хелат ЭДТУ).

Биохимические и фармакологические противоядия

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

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

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

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

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

К метгемоглинообразующим ядам относятся:

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

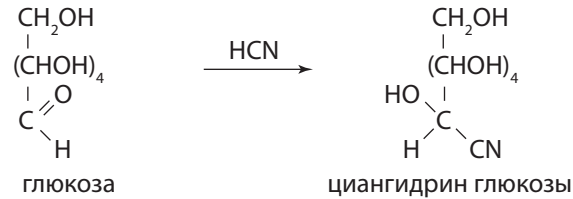
В качестве антидотов при отравлении метгемоглинообразователями используют глюкозу, тиолы, а также метиленовый синий в малых дозах.

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

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

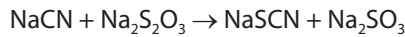
Цианиды и антицианиды. Синильная кислота, проникая в кровяное русло, быстро оказывается в клеточных структурах (митохондриях) и вследствие особого сродства к трехвалентному железу избирательно (но обратимо) взаимодействует с окисленными молекулами цитохромоксидазы. В результате этого тормозится нормальный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

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



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

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



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

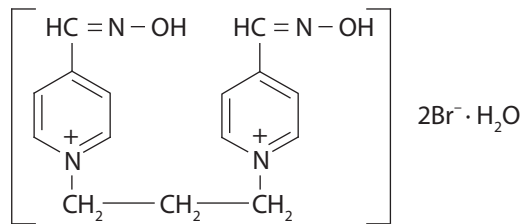
Лучшим холинолитическим препаратом оказался атропин, действие которого основано на принципе физиологического антагонизма и выражается в блокировании холин-реактивных систем.

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

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

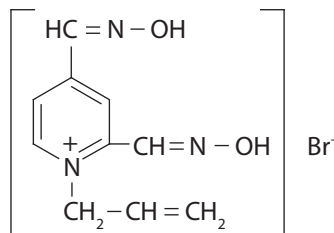
Реактивируя холинэстеразу, оксимы могут вызвать гидролиз избыточных количеств ацетилхолина, оказывать холинолитическое действие при внутривенном введении и ослаблять судорожный синдром.

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



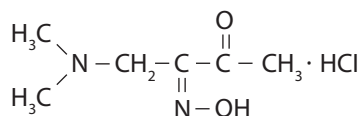
дипироксим

триметилен-1,3-бис-(4,4'-диальдоксим)пиридиния дибромид



аллоксим

N-аллилпиридиний-2,4-диальдоксима бромид



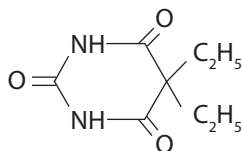
изонитрозин

1-диметиламино-2-изонитрозобутанона-3 гидрохлорид

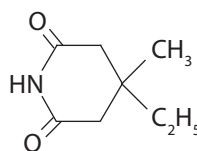
Применение этих веществ сочетают с атропином или другими холинолитическими препаратами.

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

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



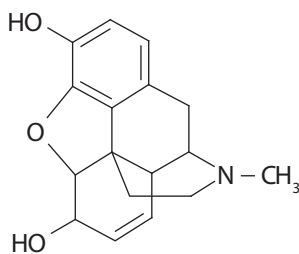
барбитал



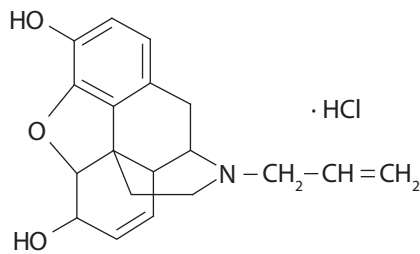
бемегрид

Бемегрид уменьшает токсичность барбитуратов, снимает угнетение дыхания и кровообращения.

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



морфин



налорфин

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

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

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

Глава 6. ВЫБОР МЕТОДОВ ИЗОЛИРОВАНИЯ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ

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

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

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

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

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

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

6.1. План проведения химико-токсикологического анализа

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

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

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

Осмотр присланного на анализ объекта

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

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

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

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

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

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

Предварительные испытания с объектом

Предварительные испытания преследуют цель сократить время исследования объекта, что особенно важно при ненаправленном анализе. Такие испытания позволяют сузить круг веществ в окончательном испытании и определить направление его основного исследования. Обычно для предварительных испытаний подбирают групповые реакции,

обладающие высокой чувствительностью. С их помощью можно обнаружить не только токсические, но и терапевтические дозы принятых веществ, а иногда и естественно содержащиеся в объекте соединения. Поэтому делать вывод, что найденное вещество явилось причиной отравления, только по результатам предварительных испытаний недопустимо.

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

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

Предварительные испытания с содержимым желудка

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

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

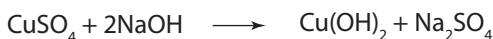


Если в растворе была едкая щелочь или аммиак, то образуется гидроксид бария, гидроксильные ионы в растворе сохраняются, и окраска фенолфталеина не исчезает. Если в растворе был карбонат натрия, то при добавлении хлорида бария образуется осадок карбоната бария, и окраска фенолфталеина исчезает. Раствор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

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

Колбу нагревают. Если в объекте присутствует аммиак, красная лакмусовая бумажка меняет цвет на синий, «медная» принимает также синее окрашивание, а «свинцовая»

остаётся без изменения. Если в объекте начались процессы гниения, то в нём могут образоваться эндогенные сероводород и аммиак. В этом случае изменяют цвет все три бумажки: красная лакмусовая и «медная» – на синий цвет, «свинцовая» – на чёрный. При таком результате делают вывод о невозможности обнаружения аммиака в данном объекте.

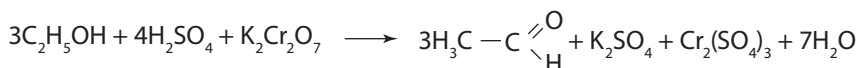


Таким образом, определение pH исследуемого объекта даёт возможность включить в план химико-токсикологического анализа исследование на минеральные кислоты (щелочи) или исключить их из этого плана.

Предварительные испытания мочи на некоторые токсические вещества

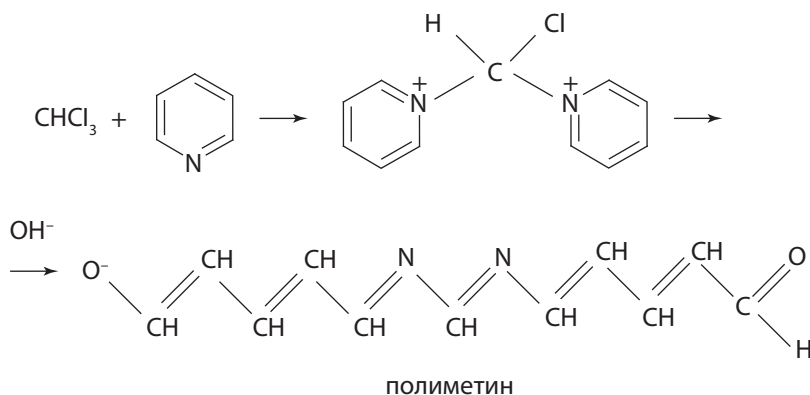
С мочой из организма человека выделяются чужеродные соединения, как в виде метаболитов, так и в неизменном состоянии. В последние годы участились случаи отравления различными лекарственными препаратами, наркотическими средствами, алкоголем и его суррогатами. Чтобы оказать срочную медицинскую помощь пострадавшему,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

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



Реакция неспецифична.

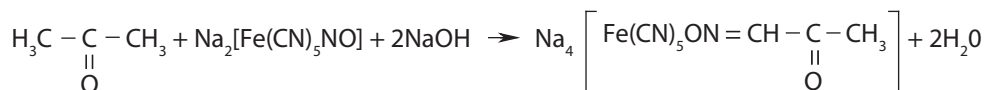
Испытание на алкилгалогениды. К моче добавляют гидроксид натрия и пиридин. При нагревании на водяной бане появляется розовое или красное окрашивание.



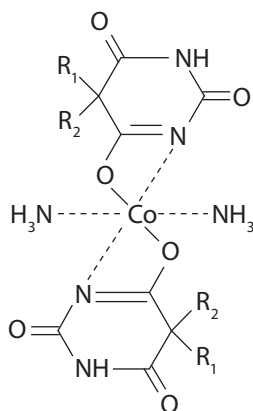
В сильно щелочной среде при нагревании хлороформ вызывает расщепление пиридинового кольца с образованием аниона полиметина (реакция Фудживара).

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

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

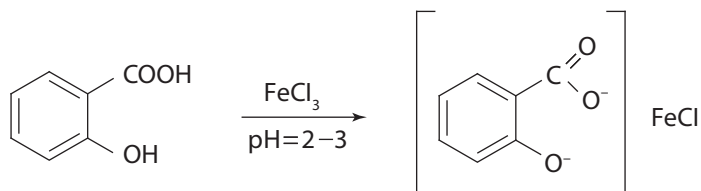


Испытание на барбитураты. Мочу подкисляют серной кислотой и экстрагируют диэтиловым эфиром, который отделяют от водной фазы и испаряют досуха. Остаток растворяют в хлороформе и наносят на фильтровальную бумагу, которую после высушивания обрабатывают раствором ацетата кобальта и окуривают парами аммиака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



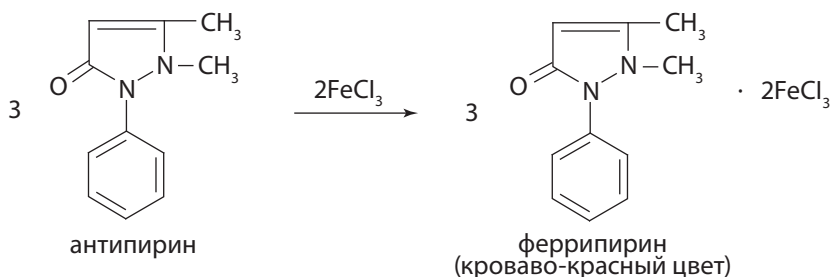
Испытание на производные фенотиазина. К моче добавляют реактив FPN (смесь хлорида железа(III), азотной и хлорной кислот) или серной кислоты и хлорида железа(III) – появляется характерное окрашивание: при наличии аминазина, дипразина – розовое или малиновое, при наличии тизерцина – фиолетовое, при наличии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

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



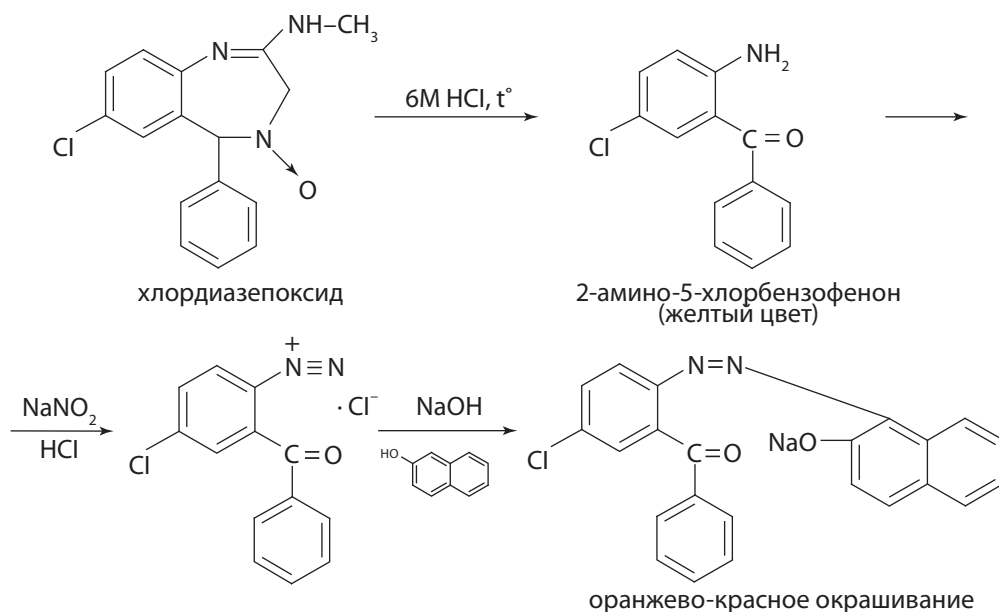
При добавлении к моче нитрата железа(III) и азотной кислоты образуется пурпурное окрашивание.

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



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

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

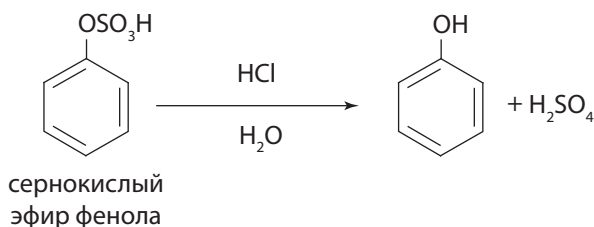


Испытание на амфетамин. Экстрагируют амфетамин из мочи хлороформом при значении pH 10, упаривают экстракт и наносят остаток на фильтровальную бумагу. При добавлении реактива Марки появляется оранжевое окрашивание, переходящее в коричневое.

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

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

при подкислении минеральной кислотой:

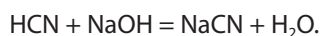


Если объект подкислен щавелевой кислотой, сернокислый эфир не гидролизуеться и перегоняться будет только экзогенный фенол, который вызвал отравление.

При специальном исследовании объекта на уксусную кислоту подкисление проводят фосфорной или серной кислотами.

Сбор дистиллята

1-ю порцию дистиллята в количестве 3 мл собирают в 2 мл 5% раствора гидроксида натрия. Исследованиями И.В.Герасимова показано, что для сбора 1-й порции дистиллята лучше использовать в качестве поглощающего раствора смесь 2% растворов карбоната и гидрокарбоната натрия (1:1). При этом синильная кислота переходит в ее соль, и, таким образом, предотвращается ее потеря за счет высокой летучести:



Весь объем первой порции дистиллята исследуют только на синильную кислоту.

2-ю порцию дистиллята отгоняют в объеме 25–50 мл. Она содержит вещества средней степени летучести (спирты, ацетон, алкилгалогениды и др.).

3-ю порцию дистиллята также собирают в объеме 25–50 мл. В ней содержатся труднолетучие вещества (формальдегид, этиленгликоль и др.).

В процессе изолирования по внешнему виду дистиллята, его запаху можно предположить присутствие некоторых веществ, особенно, если их количество в дистилляте более 1 г (редко встречается в практике химико-токсикологического анализа). Так, можно обнаружить маслянистые капли на поверхности дистиллята и ощутить характерный раздражающий запах сивушного масла (амиловые спирты), можно обнаружить тяжелые капли на дне дистиллята и ощутить характерный сладковатый запах при отравлении хлороформом, дихлорэтаном, четыреххлористым углеродом. Присутствие в дистилляте фенола придает ему характерный запах карболовой кислоты, молочновидное помутнение, и могут появиться розоватые капли на дне приемника за счет продуктов окисления фенола.

Поскольку некоторые «летучие» яды малорастворимы в воде, их после дистилляции извлекают органическим растворителем – диэтиловым эфиром или хлороформом. Так, перед обнаружением амиловых спиртов дистиллят экстрагируют диэтиловым эфиром и после его испарения с остатком проводят реакции на амиловые спирты. Для извлечения фенола из дистиллята вначале добавляют гидрокарбонат натрия, который связывает летучие кислоты, а затем экстрагируют диэтиловым эфиром непрореагировавший с гидрокарбонатом фенол.

Выделение некоторых алкалоидов перегонкой с водяным паром

Метод используется для изолирования в виде оснований жидких алкалоидов – анабазина, никотина, пахикарпина. Измельченный и смешанный до кашицеобразной массы с водой объект подщелачивают 20% раствором карбоната натрия и подвергают перегонке с водяным паром. Дистиллят собирают в 5% раствор хлороводородной кислоты, который по окончании перегонки подщелачивают раствором аммиака до pH 9–10 и алкалоиды-основания экстрагируют органическим растворителем (хлороформом).

6.6.2. Методы «микрперегонки» и микродиффузии

Метод «микрперегонки» состоит в образовании парогазовой фазы без дальнейшей ее конденсации. В герметически закрытый флакон помещают 1–5 г биологического объекта, добавляют сильный электролит и подогревают. Через некоторое время равновесная парогазовая фаза отбирается микрошприцем и используется для анализа с помощью газожидкостной хроматографии. Метод не позволяет получить полноту отгонки вещества. Он предложен для определения легколетучих спиртов, которые обнаруживаются этим методом за счет их низкой температуры испарения.

Метод микродиффузии используется при целенаправленном анализе. С помощью этого метода можно обнаружить «летучие» яды, содержащиеся в небольших количествах в исследуемом объекте. Для ускорения перехода отдельных веществ из объекта в пространство прибора используют электролиты. Например, прибавление насыщенного раствора карбоната калия к крови, моче, гомогенату тканей, содержащих этиловый спирт, ускоряет его переход в пространство прибора, для других соединений добавляют кислоты, щелочи и др.

Прибор для микродиффузии (рис. 7) состоит из круглого тонкостенного сосуда (1), внутри которого расположен второй сосуд меньшего диаметра (2). Большой сосуд закрывается герметично пришлифованной крышкой (5). Исследуемый объект в количестве до 1 г (1 мл) вносят в круглый тонкостенный сосуд большего диаметра (1), а поглощающую жидкость – в сосуд меньшего размера (2). К объекту добавляют электролит, сосуд плотно закрывают крышкой и оставляют на определенное время, необходимое для диффузии вещества. Летучие вещества из объекта переходят в пространство прибора, а затем в поглотительный раствор сосуда меньшего диаметра. В качестве поглощающей жидкости используют соответствующий растворитель или раствор реактивов, способных реагировать с обнаруживаемым веществом. Время диффузии при анализе биологических жидкостей (крови, мочи) составляет 3–4 ч, гомогената тканей – 5–12 ч.

Для формальдегида, ацетона, альдегида уксусной кислоты в качестве поглотительных растворов используют 0,15 М раствор гидросульфита или сульфита натрия; для метилового спирта – 10% раствор серной кислоты; для этилового спирта – раствор дихромата калия в серной кислоте; для сульфидов, уксусной кислоты, фенола и цианидов – 0,1 М раствор гидроксида натрия; для оксида углерода(II) – 0,1% раствор хлорида палладия в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты.

По окончании времени, необходимого для проведения анализа, с полученной поглощающей жидкостью из сосуда с меньшим диаметром проводят соответствующие реакции. Формальдегид обнаруживают по образованию розового или фиолетового окрашивания с хромотроповой кислотой; ацетон – по реакции с салициловым альдегидом (красное окрашивание); сульфиды – по реакции с солями висмута (осадок коричневого цвета); цианиды – по реакции образования полиметинового красителя; оксид углерода(II) – по образованию серебристой пленки металлического палладия и т.п.

Оценка метода. Метод дистилляции отличается простотой и экономичностью. При дистилляции получают чистые извлечения-дистилляты. Метод микрперегонки используется только для обнаружения веществ. Метод микродиффузии является предварительным, ему можно придать судебно-химическое значение при отрицательном результате.

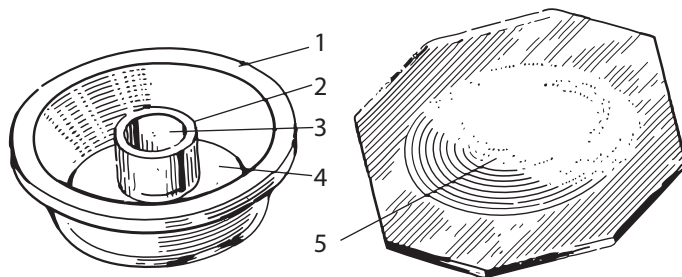


Рис. 7. Прибор для проведения микродиффузии: 1 – наружный сосуд; 2 – внутренний сосуд; 3 – внутренняя круговая камера; 4 – наружная кольцевая камера; 5 – крышка к прибору с пришлифованной поверхностью.

Глава 7. МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ В ИЗВЛЕЧЕНИЯХ ИЗ ОБЪЕКТОВ

Обнаружение ядовитых, сильнодействующих и наркотических веществ после их изолирования из биологических объектов является следующим этапом химико-токсикологического исследования.

Несмотря на большое число реакций и методов качественного анализа, используемых в аналитической и фармацевтической химии, требуются некоторые особые подходы для их использования в токсикологической химии. Это объясняется особенностями объектов исследования, возможными примесями и требованиями к достоверности результатов.

Химик-токсиколог для обнаружения в объекте какой-либо группы веществ или определенного вещества обязан использовать только те реакции и методы, которые апробированы на биологических объектах, рекомендованы для целей химико-токсикологического анализа с учетом всех факторов, влияющих на получаемые результаты. Только в этом случае полученные данные могут быть объективными и застрахованными от возможных ошибок, среди которых могут быть ошибки, связанные с получением ложноположительных или ложноотрицательных результатов.

Ложноположительный результат – это заключение о наличии токсических, экзогенных веществ при анализе по определенной методике при фактическом их отсутствии. Это свидетельствует об использовании высокочувствительной, недостаточно специфичной методики и возможном отсутствии ее апробации на биологических объектах, особенно находящихся в стадии гнилостного разложения.

Если какое-либо вещество или его метаболит присутствуют в объекте в концентрации ниже предела их обнаружения, то возможно получение *ложноотрицательных результатов*. Причиной этого чаще всего выступает фактор времени, т.е. интервал времени между контактом ядовитого вещества с организмом человека или животного и временем взятия и направления объекта на анализ. В этом случае даже правильно выбранная методика с высокой чувствительностью может дать отрицательный результат.

Для обнаружения токсических соединений в биологических объектах в настоящее время применяются различные химические реакции, физические, физико-химические, биологические (фармакологические) и другие методы. *Среди них выделяют методы и реакции предварительного анализа и методы и реакции подтверждающего исследования.*

Использование предварительного анализа или предварительных химических реакций преследует цель обнаружить или исключить из анализа группу веществ или какое-либо индивидуальное вещество. Таким реакциям или методам придают «судебно-химическое значение при отрицательном результате». Это означает, что если при использовании данного метода или реакции вещество или группа веществ не обнаружены, дальнейший анализ на эти соединения не проводят и в заключении указывают, что данное вещество или группа веществ в исследуемом объекте не найдены.

Предварительные реакции и методы должны быть чувствительными, но обязательно специфичными. Среди них – скрининговые методы (ТСХ, ГЖХ – скрининг, иммунохимические методы) и реакции, которые оцениваются как имеющие значение при

отрицательном результате: групповые реакции осаждения, хромогенные реакции и др. Эти способы и реакции должны быть обязательно подтверждены химическими и физико-химическими методами.

Предварительные реакции и методы, как правило, не позволяют определить индивидуальные вещества. Это требует проведения дополнительных исследований. В токсикологической химии такие исследования называют подтверждающим анализом, подтверждающими (частными) реакциями или частным внутригрупповым скринингом. Среди них методы ВЭЖХ, ГЖХ, ТСХ, УФ- и ИК-спектromетрия, спектрофотометрия в УФ области спектра, масс-спектрометрия, хроматомасс-спектрометрия, люминесцентный анализ, аналитические реакции разных типов (кислотно-основные, окислительно-восстановительные, комплексообразования), микрокристаллоскопический метод, фармакогностический анализ, фармакологические пробы, а также процессы осаждения, экстракции и др.

Подтверждающие методы по чувствительности обычно выше или равны предварительным методам исследования. Это позволяет снизить возможность получения ложноотрицательных результатов. По специфичности подтверждающие методы обычно превосходят предварительные, что снижает количество ложноположительных результатов.

При проведении химико-токсикологического анализа с использованием химического метода необходимо учитывать следующие обстоятельства.

Любое чужеродное вещество в организме частично или полностью подвергается метаболизму, и поэтому его можно не обнаружить известными реакциями.

В процессе изолирования ядовитые вещества извлекаются не полностью и могут быть частично потеряны, поэтому используемые реакции должны отличаться высокой чувствительностью.

Объекты, присылаемые на анализ, могут находиться в состоянии гнилостного разложения. Продукты разложения (птомаины) обычно извлекаются из объекта вместе с исследуемым веществом и могут исказить результаты анализа. Поэтому при анализе таких объектов использование химических реакций возможно после тщательной очистки извлечений.

При комбинированных отравлениях (например, этиловым спиртом и его суррогатами) применение характерных реакций затруднено присутствием близких по химическим свойствам соединений. В этих случаях предусмотрено строгое соблюдение условий воспроизведения реакций (окисления, температурного режима и т.д.), чтобы предотвратить обнаружение одних соединений (более ядовитых) вместо других. Например, при несоблюдении условий проведения реакции окисления можно переоткрыть метиловый спирт за счет этилового спирта.

Каждая используемая химическая реакция должна быть рекомендована в определенной модификации применительно к исследуемому объекту. Это особенно важно в тех случаях, когда проводят исследование объекта на «металлические» яды, поскольку многие из них являются микроэлементами и могут быть обнаружены в извлечениях. В таблице 5 даны пределы содержания токсикологически важных элементов в печени и почках – объектах, которые рекомендуются для анализа при подозрении на отравление «металлическими» ядами и содержат наибольшее количество микроэлементов.

В связи с варьированием содержания элементов в тканях, для количественного определения металлов в минерализате для каждого катиона предложены не менее двух методов, которые позволяют определять их в широких пределах концентраций.

По схеме дробного метода анализа предусматривается разбавление минерализата до концентраций, когда естественно содержащийся микроэлемент не может быть обнаружен, а концентрация попавшего в организм элемента останется достаточной для его обнаружения. При проведении реакций к минерализату добавляют определенный объем воды очищенной, а затем вносят соответствующие реактивы. Приведенные в таблице 6 разведения позволяют исключить обнаружение микроэлементов и одновременно снизить кислотность минерализата.

Таблица 5

**Пределы содержания некоторых элементов в тканях организма человека
(по данным А. Н. Крыловой)**

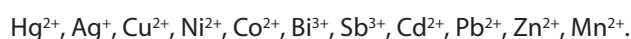
Название элемента	Границы естественного содержания, мг на 100 г органа	
	Печень	Почки
Ртуть	0–0,01	0–0,04
Свинец	0,13	0,027
Марганец	0,13–0,40	0,06–0,28
Хром	0,001–0,013	0,028–0,029
Серебро	0,005	—
Медь	0,56–1,12	0,26–0,40
Мышьяк	0,01–0,07	0,01–0,08
Кадмий	0,64–6,68	1,32–8,48
Цинк	2,73–6,71	1,76–6,16
Барий	Незначительные количества	
Висмут	Следы	
Сурьма	Не обнаружена	
Таллий	Не обнаружен	
Железо	До 200	
Кальций	До 100	
Натрий	Значительные количества	
Калий	Значительные количества	
Фосфаты	Значительные количества	
Хлориды	Небольшие количества	

Таблица 6

Разбавление минерализата при анализе его на «металлические» яды

Название элемента	Объем минерализата, мл	Объем воды очищенной, мл	Граница обнаружения, мг/100 г
Марганец	1,0	1,0	0,04
Хром	6,0	1,0	0,10
Серебро	5,0	—	0,05
Медь	10,0	—	0,40
Кадмий	10,0	—	2,00
Сурьма	1,0	10	0,10
Висмут	10,0	10	0,10
Цинк	0,5	10	5,00
Мышьяк	2,0	20	0,01

При анализе минерализата на «металлические» яды применяется избирательная экстракция в виде диэтилдитиокарбаматов с целью выделения меди, висмута, цинка и кадмия в органическую фазу, свободную от мешающих ионов. Специфичность экстракционных методик выделения этих катионов достигнута за счет использования правила ряда диэтилдитиокарбаматов металлов:



Согласно этому ряду каждый предыдущий металл вытесняет последующий из его соли с диэтилдитиокарбаминовой кислотой.

Таблица 7

Маскировка некоторых мешающих ионов в химических реакциях на исследуемые металлы

Используемые ионы	Комплексное соединение
Цианиды	$[\text{Me}^{n+}(\text{CN})_m]^{-(m-n)}$ Co ²⁺ , Zn ²⁺ , Fe ³⁺ , Cd ²⁺ , Fe ²⁺ , Hg ²⁺ , Ag ⁺
Фториды	$[\text{FeF}_6]^{3-}$
Фосфаты	$[\text{Fe}(\text{PO}_4)_2]^{3-}$
Тиосульфаты	$[\text{Me}^{n+}(\text{S}_2\text{O}_3)_m]^{-(2m-n)}$ Ag ⁺ , Pb ²⁺ , Fe ²⁺ , Bi ³⁺ , Fe ³⁺ , Sb ³⁺ , Cd ²⁺ , Hg ²⁺
Тиомочевина	$[\text{Me}^{n+}(\text{S}=\text{C}(\text{NH}_2)_2)_m]^{n+}$ Bi ³⁺ , Fe ³⁺ , Sb ³⁺ , Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , Ag ⁺ и др.

Селективная экстракция с дитизоном используется для обнаружения ионов свинца, серебра, таллия, цинка, которые при определенном значении pH среды образуют окрашенные дитизонаты.

Для исключения влияния других ионов на результаты реакций при анализе минерализата используют прием маскировки мешающих ионов (табл. 7). С этой целью используют цианиды, фториды, фосфаты, тиосульфаты, тиомочевину, гидроксиламин, аскорбиновую кислоту, комплексон III (трилон Б) и др. Мешающие ионы образуют с этими веществами комплексные соединения и не влияют на результаты реакций, проводимых на исследуемые элементы.

Абсолютно специфичных реакций очень мало. По правилам проведения химико-токсикологического анализа для заключения об обнаружении в извлечении из объекта ядовитого соединения необходимо провести не менее 3–4 характерных для данного вещества реакций. Например, чтобы сделать вывод об обнаружении в дистилляте этилового спирта, необходимо, чтобы три реакции дали положительный результат: образование йодоформа, окисление спирта до уксусного альдегида и образование эфира с уксусной кислотой (этилацетата).

Результаты некоторых химических реакций оцениваются как «реакции *Corpus delicti*». Это реакции, продукты взаимодействия которых можно представить вместе с заключением об отравлении как неоспоримое доказательство обнаружения в объекте данного вещества. К числу таких реакций относятся: реакция образования берлинской лазури, результат обнаружения мышьяка в аппарате Марша, реакция образования «серебряного зеркала» и др. Полученный синий осадок берлинской лазури запаивают в небольшую пробирку или ампулу и представляют судебно-следственным органам для обоснованности заключения об обнаружении в объекте синильной кислоты. Восстановительная трубка аппарата Марша и микрофотографии налета на ней, имеющего характерную форму кристаллов в виде октаэдров, – убедительное доказательство обнаружения мышьяка в исследуемом объекте.

Для увеличения избирательности некоторых реакций и повышения их чувствительности иногда рекомендуется предварительное выделение ядовитого вещества из исследуемого раствора с использованием экстракции и реэкстракции. Например, чтобы отделить изоамиловый спирт от других «летучих» ядов и воды, его из дистиллята извлекают диэтиловым эфиром, эфир испаряют и в остатке обнаруживают изоамиловый спирт соответствующими реакциями. Фенол выделяют из дистиллята, подщелоченного гидрокарбонатом натрия, также путем экстракции диэтиловым эфиром, что позволяет повысить избирательность и чувствительность реакций на него.

При химическом анализе на любое чужеродное соединение эксперт должен руководствоваться специально изданными и утвержденными методиками и соответствующими методическими указаниями.

Комплексное использование различных методов предварительного и подтверждающего анализов позволяет надежно диагностировать причину отравления или болезненного состояния организма.

Обнаружение ядовитых веществ и их метаболитов в процессе предварительного и подтверждающего химико-токсикологического анализа не дает однозначного ответа о количестве яда, попавшего в организм, времени его приема, фазах распределения. Результаты количественного определения найденного токсического соединения позволяют выбрать способ детоксикации и лечения пострадавшего при остром и хроническом отравлении.

Выбор метода количественного определения ядовитого вещества в извлечении из объекта зависит:

- от предполагаемой концентрации токсического вещества по результатам предварительного и основного (подтверждающего) исследования;
- от степени «свежести» объекта и наличия в извлечении продуктов разложения белковых молекул;
- от времени, прошедшего от момента попадания яда в организм и до начала анализа;
- от степени «чистоты» извлечения и наличия фона эндогенных соединений;
- от способности токсического вещества и его метаболитов накапливаться в определенных органах и тканях;
- от последствий отравления. В случае смертельного исхода чувствительность методик должна быть 10^{-3} – 10^{-7} г/мл. При наркотическом опьянении, затяжном отравлении или после проведенных детоксикационных мероприятий – 10^{-8} – 10^{-13} г/мл.

7.1. Методы предварительного анализа

7.1.1. Понятие об аналитическом скрининге в химико-токсикологическом анализе

Многообразие лекарственных, наркотических, ядовитых веществ, которые могут быть причиной отравлений, требует проведения предварительного отсеивающего исследования. В токсикологической химии такие исследования принято называть аналитическим скринингом. Скрининг (screening) в переводе с английского означает «просеивание», «отбор», «сортировка».

Аналитический скрининг – это система методических приемов, позволяющих в ходе исследовательских операций исключить («отсеять») или определить группы веществ (индивидуальные соединения) на этапе предварительного исследования.

Это позволяет построить дальнейший анализ в нужном направлении.

Аналитический скрининг является эффективным при его соответствии определенным требованиям:

- специфичность (чаще групповая);
- высокая чувствительность;
- экспрессность;
- точность и воспроизводимость;
- возможность сочетания с другими методами анализа.

Скрининг используется при анализе многокомпонентных смесей, а в случае ненаправленного анализа – при исследовании извлечения из биологического объекта на неизвестное токсическое вещество.

В настоящее время понятие скрининга в токсикологической химии значительно шире.

Скрининг – это поэтапное движение к выявлению индивидуального вещества путем последовательного исключения групп ядовитых веществ, а затем отсеивания веществ в обнаруженной группе до выявления конкретного соединения.

Из современных скрининговых методов в практике химико-токсикологического анализа нашла широкое применение хроматография в тонких слоях сорбента (ТСХ) в нормально-фазовом и обращенно-фазовом вариантах. Этот метод доступен, прост в вы-

полнении, отличается высокой чувствительностью, эффективностью, экспрессностью и достаточной специфичностью (избирательностью).

ГЖХ-скрининг используется, в основном, при анализе летучих, лекарственных и наркотических веществ.

Не потерял своего значения аналитический скрининг с использованием различных химических реакций.

Имеются разработки по использованию в качестве скрининговых методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), абсорбционной спектроскопии, иммунохимических методов, спектроскопии ядерного магнитного резонанса.

При использовании этих методов необходима тщательная очистка извлечений от эндогенных соединений, способных исказить результаты анализа и засорить колонки хроматографов.

7.1.2. ТСХ-скрининг в нормально-фазовом варианте

Метод используется в химико-токсикологическом анализе при исследовании веществ, изолируемых из объекта экстракцией и сорбцией (лекарственные, наркотические вещества, пестициды).

Неподвижной фазой в ТСХ служит тонкий слой сорбента (0,1–0,5 мм), содержащий небольшое количество воды и нанесенный на пластинку (из стекла, фольги или полимера).

Сорбентом чаще всего является силикагель или оксид алюминия, которые закрепляются на пластинке добавлением связующего компонента – гипса, крахмала и др.

В качестве подвижной фазы (элюента, системы растворителей) предложены индивидуальные растворители или их смеси в определенных соотношениях. При движении элюента за счет капиллярных сил вверх по пластинке происходит разделение смеси веществ. Эффективность разделения зависит от сродства вещества к сорбенту и определяется коэффициентом распределения его между обеими фазами – подвижной и неподвижной.

Чтобы обнаружить вещество на пластинке, используют различные способы детектирования:

- визуальный, если само вещество окрашено;
- облучение пластинки УФ-лучами, при этом вещество может флуоресцировать или давать темные пятна;
- обработка пластинки соответствующими реагентами-проявителями, которые способны образовать с веществом окрашенные соединения.

Для идентификации вещества используют величину R_f – отношение длины пробега анализируемого вещества к длине пробега растворителя (рис. 8). После хроматографирования измеряют расстояние от центра пятна до стартовой линии (отрезок АБ) и от линии фронта жидкости до стартовой точки (отрезок АВ). Отношение отрезков АБ к АВ обозначают величиной R_f :

$$R_f = \frac{АБ}{АВ}$$

Величина R_f характерна для данного соединения на данном сорбенте в данной системе растворителей. Она зависит от качества и активности сорбента, толщины слоя, природы растворителей и их соотношения, а поэтому не всегда воспроизводима.

Более надежной оценкой хроматографической подвижности вещества является величина R_s . Для ее определения находят величину R_f исследуемого вещества и R_f вещества, принятого за стандарт. Их отношение малочувствительно к влиянию случайных отклонений в условиях эксперимента:

$$R_s = \frac{R_f \text{ вещества}}{R_f \text{ стандарта}}$$

Поэтому R_s – более воспроизводимая и относительно постоянная величина.

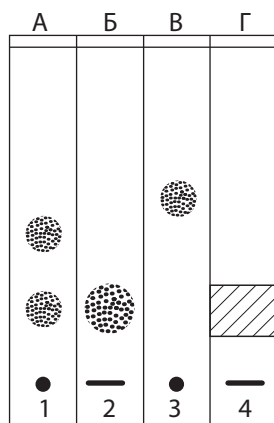


Рис. 9. ТСХ-скрининг веществ кислотного, нейтрального и слабо основного характера: 1 – место нанесения стандартных растворов антипирина и барбитала; 2 – место нанесения 1/25 части эфирного экстракта из кислого раствора; 3 – место нанесения стандарта – раствора циклобарбитала; 4 – место нанесения 1/10 части эфирного экстракта.

Реагенты-проявители для обнаружения веществ на пластинке:

- слой сорбента полос А, Б и В обрабатывают 5% раствором сульфата ртути(II) и 0,1% раствором дифенилкарбазона в хлороформе. Производные барбитуровой кислоты проявляются в виде фиолетовых пятен. Пластинку нагревают горячим феном (~50°C). Пятна обесцвечиваются;
- затем эти же полосы на пластинке обрабатывают 10% раствором хлорида железа(III). При этом проявляются производные пиразола, салициловой и бензойной кислот;
- при последующей обработке этих полос модифицированным реактивом Драгендорфа и 10% раствором серной кислоты обнаруживаются вещества основного характера, такие как кофеин, производные 1,4-бензодиазепина и др. Обработка пластинки раствором серной кислоты повышает чувствительность реактива Драгендорфа.

Все вещества кислотного, нейтрального и слабоосновного характера делятся на 3 *хроматографические зоны* в зависимости от значения величины R_f в указанной общей системе растворителей.

Зона 1 включает 2 вещества, имеющие значение R_f 0–0,25. В этой зоне обнаруживаются антипирин (R_f 0,19) и кофеин (R_f 0,25).

Зона 2 включает 7 веществ, имеющих значение R_f 0,31–0,41. В этой зоне обнаруживаются фенобарбитал (R_f 0,31), барбитал (R_f 0,32), нитразепам (R_f 0,35), барбитал (R_f 0,37), этаминал-натрий (R_f 0,37), бутобарбитал (R_f 0,41), циклобарбитал (R_f 0,41).

Зона 3 включает вещества, имеющие значение R_f 0,41–0,64. В этой зоне обнаруживается диазепам (R_f 0,62).

Полоса Г на пластинке используется для соскабливания сорбента (заштрихованная часть), элюирования веществ подходящим растворителем (зона 1 – метанолом; зоны 2 и 3 – ацетоном) и последующего хроматографического исследования в частных системах растворителей, в которых все вещества обнаруженной группы соединений хорошо разделяются между собой.

ТСХ-скрининг в анализе веществ основного характера

Цель: выявить наличие в извлечении из объекта веществ, являющихся соединениями основного характера.

Условия анализа: сорбент – закрепленный слой силикагеля. Система растворителей: хлороформ – диоксан – ацетон – 25% раствор аммиака (45:47,5:5:2,5), время насыщения камеры парами системы – 15 мин. Пробег растворителя по пластинке – 10 см.

На стартовую линию хроматографической пластинки наносят (рис. 10):

- полоса А – растворы стандартов (например, атропина и новокаина);
- полоса Б – 1/25 часть хлороформного экстракта, полученного из водного извлечения при pH 8–10;