

Байзолданов Т.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Учебник

1 часть



~ Э В Е Р О
Алматы, 2021

УДК 615.9 (075.8)

ББК 52.84 я 73

Б

Рецензенты:

Р.Д. Дильбарханулы - доктор фарм. наук, профессор модуля
«фармацевт-технолог» КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова

К.У. Ушбаев - доктор фарм. наук, профессор, генеральный директор
АО «Фармация»

Б Байзолданов Т.

Токсикологическая химия: учебник / Т. Байзолданов. - Алматы: Эверо,
2021, -240 с.

ISBN 978-601-310-684-7

В учебнике освещены общие вопросы токсикологической химии, ее основные разделы, а также организация судебно-медицинской службы РК, приведена классификация токсикологически важных веществ в зависимости от способа изолирования их из биологического и других объектов, представляемых как вещественное доказательство. Описаны общие и конкретные методики изолирования, обнаружения и количественного определения ядовитых соединений.

Приведены краткие описания наиболее часто применяемых, в практике химико-токсикологических исследований современных аналитических методов.

Учебник предназначен для студентов (магистрантов, докторантов) фармацевтических факультетов медицинских институтов и фармацевтических академий. Может быть использован судебно-медицинскими экспертами-химиками экспертных учреждений, а также сотрудниками химических лабораторий санитарно-химической, экологической, наркологической и других служб.

УДК 615.9 (075.8)

ББК 52.84 я 73

Утверждено Учебно-методическим советом КазНМУ
им. С. Д. Асфендиярова.

Протокол № 6 от «27» марта 2015 г.

ISBN 978-601-310-684-7

© Байзолданов Т., 2021

© Эверо, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	6
Введение	8
Глава 1. ОСНОВЫ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ	19
1. Токсикологические основы токсикологической химии	20
2. Другие формы токсического процесса	23
3. Структура токсикологии	25
4. Химические основы токсикологической химии	26
5. Направления токсикологической химии	28
Глава 2. ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ ВОПРОСЫ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ В РК	32
1. Организация и производство судебно-медицинской экспертизы в РК	33
2. Производство судебно-медицинской экспертизы	34
3. Оформление заключения эксперта	37
4. Сроки производства экспертизы	38
5. Производства химико-токсикологической экспертизы исследований	и 39
6. Эксперт-химик	45
7. Получение и направление образцов трупного материала проведения экспертиз (исследований) в судебно-медицинской лаборатории	для 48
8. Документация химико-токсикологической лаборатории	51
Глава 3. ОТРАВЛЕНИЯ И НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ТОКСИКОКИНЕТИКИ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ	53
1. Классификация отравлений	54
2. Виды и характеристики отравления	58
3. Бытовые отравления - алкоголизм и наркомания	60
4. Пути поступления ядов в организм	61
5. Всасывание ядов в организме	64
6. Распределение ядов в организме	70
7. Связывание ядов в организме	72
8. Выделение ядов из организма	73
9. Факторы, определяющие развитие отравлений	76
10. Методы детоксикации	83
11. Метаболизм чужеродных соединений (ксенобиотики)	91
12. Окисление чужеродных соединений	95
13. Восстановление и гидролиз чужеродных соединений	100
14. Дезалкилирование, дезаминирование и десульфирование чужеродных соединений	101

15. Реакции конъюгации	104
16. Посмертные изменения лекарственных и ядовитых веществ в трупах разложение биологического материала после наступления смерти	112
17. Изменение ядов при разложении трупов	118
Глава 4. МЕТОДОЛОГИЯ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА	120
1. Особенности химико-токсикологического анализа при отравлениях	121
2. Экспертиза алкогольного, наркотического и токсикоманического опьянения (Сопроводительные документы, 2. особенности анализа)	127
3. Химико-токсикологический анализ объектов исследования при производстве судебно-медицинской экспертизы (химико-токсикологическая экспертиза)	129
4. Этапы химико-токсикологического анализа	130
5. Особенности химико-токсикологической экспертизы	130
6. Документация химико-токсикологических экспертиз	132
7. Выбор методов изолирования ядовитых веществ	133
8. План проведения химико-токсикологического анализа. Осмотр присланного на анализ объекта	134
9. Предварительные пробы в химико-токсикологическом анализе	138
9.1. Предварительные испытания мочи на некоторые токсические вещества	140
9.2. Характеристика объектов химико-токсикологического анализа	144
9.3. Подготовка объектов к изолированию ядовитых веществ	148
Глава 5. МЕТОДЫ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ	152
1. Основы метрологии	153
2. Хроматографические методы определения токсических веществ	156
2.1. Методы хроматографии	157
2.2. Метод хроматографии в тонком слое сорбента	158
2.3. Сорбенты, применяемые для приготовления хроматографических пластинок	159
2.4. Приготовление пластинок для хроматографирования	161
2.5. Подготовка пластинок для разделения исследуемых проб	164
2.6. Оценка разделения веществ на пластинках	166
2.7. Применение метода для обнаружения токсических соединений	169
2.8. Применение метода в количественном анализе токсических соединений	170
3. Инструментальный анализ токсических веществ. Газожидкостная хроматография	171

3.1. ГЖХ-скрининг в анализе лекарственных и наркотических веществ в извлечениях из мочи	175
3.2. ГЖХ-скрининг в анализе «летучих» ядов	177
3.3. Хроматомасс-спектрометрия	180
3.4. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)	184
4. Методы экстракции	186
4.1. Основные количественные характеристики процессов экстракции	190
4.2. Влияние различных факторов на экстракцию	194
5. Методы ИК - и УФ - спектроскопии	196
5.1. Инфракрасная спектроскопия	197
5.2. Спектрофотометрия в УФ- и видимой области спектра (общая часть)	202
5.3. Люминесцентный метод анализа	204
6. Отдельные виды химического анализа, применяемые в токсикологической химии	205
6.1. Аналитический скрининг с помощью химических реакций	205
6.2. ТСХ-скрининг веществ кислотного характера	207
6.3. ТСХ-скрининг веществ основного характера	209
6.4. Микрорентгенофлуоресцентный анализ	211
6.5. Метод микродиффузии	214
6.6. Фармакологические (физиологические) пробы	216
6.7. Фармакокинетический анализ	217
7. Методы очистки вытяжек	218
7.1. Фильтрация и центрифугирование	218
7.2. Осаждения примесей	218
7.3. Хроматография в адсорбционной колонке	219
Глоссарии	222
Список рекомендуемой литературы	232

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНЫ

Использованные сокращения и термины

- ААС — Атомно-абсорбционная спектрометрия
АЭС-ИСП — Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой
БОВ — Боевые отравляющие вещества
БХ — Бумажная хроматография
ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения
ВЭЖХ — Высокоэффективная жидкостная хроматография
ВЭТСХ — Высокоэффективная тонкослойная хроматография
ВЭТТ — Высота, эквивалентная теоретической тарелке
ГАХ — Газоадсорбционная хроматография
ГЖХ — Газожидкостная хроматография
ГСО — Государственный стандартный образец
ГХ — Газовая хроматография
ДОК — Допустимая остаточная концентрация
ЖЖХ — Жидкость-жидкостная хроматография
ЖКТ — Желудочно-кишечный тракт
ЖХ — Жидкостная хроматография
ИБ — Индекс безопасности
ИИ — Ионизирующее излучение
ИСО — Международная организация по стандартизации
ИСП — Индуктивно-связанная плазма
ИФА — Иммуноферментный анализ
ИХА — Иммунохроматографический анализ
ККСА — Количественная корреляция структура-активность
МИД — Мощность поглощенной дозы
МС — Масс-спектрометрия
МТД — Максимальная терапевтическая доза
НПВС — Нестероидные противовоспалительные средства
ОСО — Отраслевой стандартный образец
ОФХ — Обращенно-фазовая хроматография
ОЭС — Оптико-эмиссионная спектрометрия
ПДК — Предельно допустимая концентрация
ПИД — Плазменно-ионизационный детектор
ПФИА — Поляризационный флуороиммуно-анализ

РГХ — Реакционная газовая хроматография
РИА — Радиоиммунный анализ
СИ — Международная система единиц измерений
СМЭ — Судебно-медицинская экспертиза
СОП — Стандартный образец предприятия
ТЖХ — Твердожидкостная хроматография
ТДД — Термолуминесцентная дозиметрия
ТСХ — Тонкослойная хроматография
ФИА — Флуоресцентный иммуноанализ
ФОН — Фосфорорганические препараты
ФОС — Фосфорорганические соединения
ФЭУ — Фотоэлектронный умножитель
ХОП — Хлорорганические препараты
ХОС — Хлорорганические соединения
ХТА — Химико-токсикологический анализ
ХТИ — Химико-токсикологическое исследование
ЦНС — Центральная нервная система

ВВЕДЕНИЕ

§ 1. ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ, ЕЕ СВЯЗЬ С ДРУГИМИ ДИСЦИПЛИНАМИ

Во всех случаях насильственной смерти или смерти при невыясненных обстоятельствах, а также при подозрении на криминальное (суицидальное) отравление людей, согласно уголовно-процессуальному кодексу (УПК) Республики Казахстан (РК) назначается производство судебно-медицинской экспертизы трупов. Для установления факта отравления и выяснения полной картины смерти судебно-медицинские эксперты-танатологи привлекают судебно-медицинских экспертов других профилей, в частности экспертов-химиков, которые компетентны решать задачу обнаружения и количественного определения во внутренних органах трупов, биологических жидкостях и в других представленных объектах токсические вещества, производя химическое исследование применяя научно обоснованные, стандартизованные и специальные методы анализа.

Этот вид, исследований называется химико-токсикологическим анализом (ХТА), а теоретическую основу его составляет *токсикологическая химия*.

Токсикологическая химия - наука, изучающая методы изолирования, обнаружения и количественного определения токсических веществ из объектов биологического и иного происхождения, представленных в качестве вещественных доказательств. Основной задачей токсикологической химии как науки является разработка новых и совершенствование существующих, теоретически обоснованных методов ХТА токсичных веществ в различных объектах.

Токсикологическая химия возникла из потребностей судебно-медицинской токсикологии, изучающей умышленные, случайные и другие отравления. Судебно-медицинская токсикология является одним из разделов судебной медицины.

Раздел токсикологической химии, направленный на изучение вопросов изолирования, обнаружения и количественного определения токсичных веществ из внутренних органов и биологических жидкостей трупа, традиционно называли *судебной химией*.

Когда судебно-медицинский эксперт-химик проводил исследование представленных объектов из трупа или биологических жидкостей живого человека по *постановлениям* органов дознания, то эта деятельность назывался *судебно-химической экспертизой*, а когда исследование проводился по направлению судебно-медицинских экспертов или представителей других юридических лиц - *судебно-химическим исследованием*. В *настоящем* эти термины заменены на — *химико-токсикологическая экспертиза (исследование)*. Документ, содержащий результаты этих исследований, называется *заключением экспертизы*.

С развитием химии, химической промышленности и фармации увеличилось число фармацевтических препаратов и веществ, применяемых в медицине и в различных отраслях народного хозяйства, которые обладают токсичностью. При нарушении экологических требований производства сточные воды и выбросы в атмосферу промышленных предприятий, могут загрязнять окружающую среду и стать источником отравляющих людей и животных.

Число токсических веществ значительно увеличивается за счет широкого применения ядохимикатов (пестицидов) для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур. Ядохимикаты накапливаются в молоке и тканях животных, поедающих растения, обработанные этими веществами. Употребление людьми молока и мяса таких животных, а также продукты таких растений может быть причиной отравлений.

В *настоящем* широко используются различные жидкости для обеспечения нормальной работы двигателей не только наземных и воздушных транспортных средств, но космических и для других целей. Жидкости, применяемые в технике и в быту, при неумелом обращении с ними также могут быть причиной отравлений.

Таким образом, традиционные объекты судебно-химического анализа (органы трупов, биологические жидкости, остатки пищи, лекарственные вещества) пополнились новыми объектами, к числу которых относятся предметы домашнего обихода, ядохимикаты, технические жидкости, пищевые добавки, косметические средства и др.

В связи с расширением номенклатуры исследуемых соединений и объектов исследования судебная химия получила название *токсикологической химии*.

Токсикологическая химия является прикладной наукой, которая объединяет две фундаментальные дисциплины- токсикологию (от греч. toxikon — яд, logos - учение) науку, изучающую свойства ядов и физических факторов, механизмы их действия на организм человека и разрабатывающая методы диагностики, лечения и профилактики отравлений. А методы химических наук позволяют изучать механизмы воздействия химических агентов и физических факторов на биологические объекты различного иерархического уровня — от молекулярного до организма человека. В результате этого значительно расширились возможности токсикологической химии выполнять исследования значительно большего числа токсических веществ в объектах, содержащих эти вещества, чем судебная химия. Однако *судебная химия* остается одним из больших и важных разделов токсикологической химии выполняющей задачи судебно-следственных органов с целью защиты конституционных прав человека - жить и трудится на благо общества и себя.

Многообразие направлений токсикологии: экспериментальная, клиническая, промышленная, профессиональная (транспортная, военная, ветеринарная, фармацевтическая и др.), окружающей среды — объясняет разнообразие объектов исследования и задач токсикологической химии.

В настоящее время токсикологическую химию подразделяет на два основных раздела: биохимический и аналитический.

Биохимическая токсикология изучает токсикодинамику и токсикокинетику ксенобиотиков и их метаболитов: механизмы формирования токсического эффекта в системе токсикант—рецептор, скорости и механизмы поступления, распределения, биотрансформации, элиминации и экскреции токсикантов и их метаболитов.

Аналитическая токсикология разрабатывает методы ХТА для определения токсикантов в разнообразных объектах. При этом большое внимание уделяется подготовке объекта к анализу (пробоподготовке). Пробоподготовка заключается в выделении (изолировании) ксенобиотика из анализируемого объекта и его концентрировании в пробе. Например, определение токсичных веществ в биожидкостях (моча, кровь, слюна, спинномозговая жидкость), органах и тканях (печень, почки, кости, волосы, ногти),

рвотных массах и других выделениях человека, остатках лекарств, пище, напитках требует тщательного обдумывания операций по подготовке пробы для анализа и выполнения ее. В зависимости от природы токсичного вещества и биоматериала для извлечения используют экстракцию, дистилляцию (перегонку), диализ, микродиффузию, минерализацию.

Своевременное решение этих задач позволяет определить причину отравления (диагностика) и оказать быструю помощь (лечение) при отравлении (клиническое направление токсикологической химии). Клиническая картина отравления и предварительная диагностика позволяет определить направление поиска токсиканта.

В результате химико-токсикологического исследования удается определить вещество или группу веществ, вызвавших отравление, провести диагностику, определить фазу отравления и эффективно осуществить *детоксикацию*.

Химико-токсикологическое исследование должно осуществляться в предельно сжатые сроки, поскольку *отравление как заболевание химической этиологии* требует неотложной терапии. *Ненаправленный анализ*, т.е. поиск неизвестного яда, требует значительно большего времени, чем *направленный анализ*, базирующийся на определении природы токсиканта на начальном этапе химико-токсикологического исследования.

Большое значение в борьбе с преступностью имеет методы токсикологической химии, которые устанавливают наличие ядовитых веществ в исследуемых объектах. Заключение судебно-медицинских экспертов-химиков и химиков-токсикологов о наличии и количестве ядов в исследуемых объектах оказывают помощь судебно-медицинским экспертам, врачам (для установления причин отравлений, разработки рекомендации лечения и профилактики отравлений), судебно-следственным органам в раскрытии преступлений, укреплении социалистической законности и правопорядка.

Заключения химиков-токсикологов, гигиенистов, фармакологов и специалистов других отраслей науки о высокой токсичности отдельных фармацевтических препаратов и веществ, применяемых в народном хозяйстве, являются основанием для постановки вопроса об изъятии этих веществ из употребления или об изменении условий хранения и порядка отпуска их населению.

Результаты химико-токсикологических и санитарно-гигиенических исследований воздуха и сточных вод промышленных предприятий, содержащих токсические вещества, используются компетентными органами для выработки защитных мер по санитарной охране населения.

Данные о токсичности отдельных химических веществ используются для санитарно-просветительной работы среди населения, для разъяснения правил обращения с токсическими веществами и разработки мероприятий, направленных на предупреждение отравлений этими соединениями.

На современном этапе развития токсикологической химии перед ней ставятся следующие задачи:

1. Разработка новых и усовершенствование уже применяемых методов изолирования токсических веществ и их метаболитов из соответствующих объектов.
2. Разработка эффективных методов очистки вытяжек, полученных из объектов химико-токсикологического анализа.
3. Внедрение в практику химико-токсикологического анализа новых чувствительных и специфических реакций и методов (хроматографии, спектроскопии и др.) обнаружения токсических веществ и их дериватов, выделенных из соответствующих объектов.
4. Разработка и внедрение в практику химико-токсикологического анализа чувствительных, легко воспроизводимых и точных методов количественного определения токсических веществ и их метаболитов.
5. Изучение метаболизма токсических веществ в организме и разработка способов их анализа.

Таким образом, токсикологическая химия — это наука, которая разрабатывает новые и совершенствует уже существующие методы изолирования, обнаружения и количественного определения ядовитых веществ и их дериватов в различных объектах, дает научно-теоретическое обоснование методов их химико-токсикологического анализа.

В основе теоретических разработок и практическом применении методов ХТА определенная роль принадлежит связи с другими фундаментальными и прикладными науками.

Реакции и методы аналитической химии широко используются в токсикологической химии для обнаружения и количественного определения ядов.

Результаты химико-токсикологического анализа используются судебными медиками для установления яда, вызвавшего отравление, и причин смерти.

Токсикологическая химия связана с фармакологией, изучающей действие лекарственных препаратов, и токсикологией, которая изучает действие ядов на организм людей и животных. В некоторых случаях фармакологические пробы используются в химико-токсикологическом анализе для обнаружения ядов.

Отдельные фармацевтические препараты могут быть причиной отравлений. Для обнаружения этих препаратов при химико-токсикологическом анализе в ряде случаев применяются методы фармацевтического анализа. При химико-токсикологическом анализе частей растений, вызвавших отравление, применяются фармакогностические методы.

Токсикологическая химия связана с биологической химией и рядом других дисциплин, которые изучают процессы метаболизма лекарственных веществ и ядов.

Кроме этого, в настоящее время много химико-токсикологических исследований проводится с целью определения наркотических веществ. Последние из биологического материала выделяются методом экстракции с полярными растворителями. При таком способе выделения наркотических веществ наряду с ними изолируются многие лекарственные препараты, обладающие сильным биологическим действием на живой организм, а также пестициды. Однако в практической деятельности эксперт-химик всё еще руководствуется перечнем веществ, приведенных в приложении к приказу №1021 МЗ СССР от 25.12.73 г, согласно которому исследование проводится на производные барбитуровой кислоты (барбитал, фенобарбитал, барбамил, этаминал, циклобарбитал, бензонал и др.), ноксирон, алкалоиды (морфин, кодеин, этилморфин, героин, гидрокодон, папаверин, стрихнин, атропин, гиосциамин, скополамин, кокаин, пахикарпин, анабазин, никотин, синтетические лекарственные вещества основного характера (промедол, аминазин, дипразин, тизерцин, мажептил, трифтазин, имизин и его аналоги и др.).

Однако ряд новых токсических веществ, представляющих химико-токсикологический интерес, не охвачен действующим перечнем, и давно возникла необходимость расширения этого

списка, **который**, без сомнения, еще будет расширяться. Это потребует необходимости обобщения имеющихся данных и представления новых **сведений** по химико-токсикологическому анализу данной группы ядов и их **новых** отдельных представителей в доступном виде для заинтересованных специалистов.

§ 2. КРАТКИЙ ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Становление токсикологической химии имеют далекие корни. Ясно одно, что становление токсикологической (вначале судебной) химии как науки связано со становлением и развитием судебной медицины. Для Республики Казахстан становление и развитие токсикологической химии связано с Советским периодом деятельности МЗ СССР. Этому свидетельствуют документы, изданные Наркомздравом совместно с прокуратурой РСФСР (1934 г) «Правила судебно-медицинского и судебно-химического исследования вещественных доказательств»; принятое 1939 г. Советом Народных Комиссаров СССР постановление «О мерах укрепления и развития судебно-медицинской экспертизы»; утвержденная в 1952 г. Министерством здравоохранения СССР по согласованию с Прокуратурой СССР, Министерством юстиции и Министерством государственной безопасности СССР «Инструкция о производстве судебно-медицинской экспертизы в СССР»; Приказ изданное , министром здравоохранения СССР 1962 г «О мерах улучшения судебно-медицинской экспертизы в СССР» и др.

Большая роль в дальнейшем развитии судебной химии принадлежит ряду ученых нынешнего СНГ и высшим фармацевтическим учебным заведениям.

В 1920 г. на химико-фармацевтическом факультете Второго Московского университета и в Петроградском химико-фармацевтическом институте были созданы первые кафедры судебной химии, которые стали центром научных исследований в области судебно-химического анализа и центром подготовки экспертов-химиков. Несколько позже кафедры судебной химии были созданы и в других институтах.

Кафедру судебной химии в Ленинградском химико-фармацевтическом институте на протяжении ряда лет возглавлял проф. Л. Ф.

Ильин (1872—1937). Он автор ряда работ по судебной химии. Под его руководством выполнено несколько диссертаций.

В развитии судебной химии определенная роль принадлежит отдельным ученым: проф. Н. И. Кромер (1866—1941) Пермский фармацевтический институт, проф. Н. А. Валяшко (1871 — 1955) консультант химического отделения Харьковского научно-исследовательского института судебной экспертизы Министерства юстиции. Проф. А. В. Степанов (1872—1946) создал и возглавил кафедру судебной химии в Московском фарминституте. Научная и педагогическая деятельность А. В. Степанова относится к судебной и органической химии. Он разработал метод определения хлорпроизводных органических соединений, который и в настоящее время широко используется при анализе органических галогенсодержащих веществ. А. В. Степанов предложил метод минерализации биологического материала смесью нитрата аммония и серной кислоты. Им были опубликованы работы, посвященные судебно-химическому анализу, издан учебник по судебной, органической и аналитической химии. Его учебник «Судебная химия» издавался четыре раза.

С 1937 по 1978 г кафедру судебной химии в Московском фармацевтическом институте (затем на факультете Первого Московского мединститута) возглавляла профессор М. Д. Швайкова (1905—1978)—ученица проф. А. В. Степанова.

Область научных исследований М. Д. Швайковой велика. Совместно с проф. А. В. Степановым она предложила скоростной метод выделения алкалоидов из пищевых продуктов растительного происхождения. М. Д. Швайкова является основоположником применения мегода микрокристаллоскопии в судебно-химическом анализе, под ее руководством выполнены также исследования в области судебно-химического анализа «металлических ядов», алкалоидов, барбитуратов и многих других токсических соединений. Это является большим вкладом в развитие химико-токсикологического анализа.

Большая роль в развитии судебной медицины и судебной химии принадлежит Научно-исследовательскому институту судебной медицины МЗ СССР, который был организован в 1932 г.

Сотрудниками химического отдела этого института под руководством А. Ф. Рубцова разработан метод количественного

определения ртути в биологическом материале, метод выделения алкалоидов из биологического материала, основанный на изолировании их водой, подкисленной щавелевой кислотой, разработан и внедрен в практику дробный метод судебно-химического исследования «металлических ядов», разработаны методы судебно-химического анализа ряда гликозидов; выполняются исследования по анализу ядохимикатов и других токсических веществ, производных фенотиазина. Успешная деятельность этого подразделения, ныне руководимая проф. Е.М. Соламатиным, продолжается. Определенный вклад в развитие токсикологической химии внесли кафедры Львовского медицинского института, Ташкентского и Пятигорского фармацевтических институтов, а также другие учебные заведения.

В 1939 г. на фармацевтическом факультете Львовского медицинского института была организована кафедра судебной (токсикологической) химии. С 1948 г. кафедру возглавил проф. В. Ф. Крамаренко. Научным направлением кафедры является разработка методов химико-токсикологического анализа алкалоидов, их синтетических аналогов и барбитуратов. В. Ф. Крамаренко является автором около 200 научных работ, посвященных применению химических, физических и физико-химических методов анализа (фотоколориметрия, спектрофотометрия, хроматография в тонких слоях сорбентов, гель-хроматография, газо-жидкостная хроматография и др.) в токсикологической химии. Им предложен метод выделения алкалоидов из биологического материала, основанный на изолировании их водой, подкисленной серной кислотой.

В послевоенные годы достигнуты успехи в подготовке научных кадров по токсикологической (судебной) химии. Так, в Московском фармацевтическом институте, а затем на фармфакультете Первого Московского медицинского института под руководством проф. М. Д. Швайковой выполнено и защищено шесть докторских и сорок кандидатских диссертаций. На этой же кафедре под руководством доц. Б. Н. Изотова выполнено и защищено 12 кандидатских диссертаций.

Во Львовском медицинском институте под руководством проф. В. Ф. Крамаренко подготовлено и защищено пять докторских и 31 кандидатская диссертация. В.Ф. Крамаренко для РК подготовил целую плеяду учеников, которые стали видными учеными в области токсикологической химии и создавшую свою школу подготовки

научных кадров. Это, прежде всего Ушбаев Кенесбай Ушбаевич подготовившего 25 кандидатов и докторов наук (в т.ч. доктора фарм. наук, проф. Байзолданова Т.), Бейсембаев Э.М. который предложил для практики судебно-химического исследования оригинальный метод выделения растительных алкалоидов из биологического материала и многие другие. На той же кафедре под руководством проф. В. И. Поповой защищено четыре кандидатские диссертации. Под руководством доцента А. Ф. Рубцова защищено девять кандидатских диссертаций. Такое же количество диссертаций защищено в Ташкентском фармацевтическом институте под руководством проф. Л. Т. Икрамова. На кафедре токсикологической химии Ташкентского фармацевтического института выполнен ряд исследований, посвященных в основном анализу ядохимикатов.

Исследования в области анализа токсических веществ выполняются на кафедрах токсикологической химии фармацевтических и других институтов.

Становлению выдающихся ученых в области токсикологической химии в СССР способствовали труды и школы Российских ученых в числе которых:

А.П. Нелюбин (1785—1858), который по образованию был врачом и фармацевтом. Он заведовал кафедрой фармации в Медико-хирургической академии. Богатый опыт в области судебно-химического анализа А. П. Нелюбин обобщил в работе «Правила для руководства судебного врача при исследовании отравления», опубликованной в 1824 г. в Военно-медицинском журнале. Был автором руководства «Общая и частная судебно-медицинская и полицейская химия с присовокуплением общей токсикологии или науки о ядах и противоядных средствах».

Проф. А. А. Иовский (1796—1857). Он автор книги «Руководство к распознаванию ядов, противоядий и важнейшему определению первых как в организме, так и вне оною посредством химических средств, названных реактивами»,

Проф. Ю. К. Трапп (1814—1908) автор книг по судебной химии. «Руководство для первых пособий при отравлении и для химического исследования ядов», и «Наставление к судебно-химическому исследованию»,

Профессор Дерптского (в настоящее время Гартуского) университета Г. Драгендорф (1836—1898). Он предложил реактив

для обнаружения алкалоидов, разработал метод выделения алкалоидов из биологического материала, основанный на изолировании этих веществ водой, подкисленной серной кислотой. Г. Драгендорф издал учебник «Судебно-химическое открытие ядов» и был мерным ученым, который из фармации выделил судебную химию и читал ее как самостоятельную дисциплину.

Гид работ и области судебной химии выполнил Г. В. Струве (1822— 1908), который был специалистом широкого профиля. Его работы посвящены развитию судебной, аналитической и биологической химии. Г. В. Струве предложил реакции обнаружения соединений мышьяка и фосфора с молибдатом, усовершенствовал способы обнаружения цианидов, морфина, стрихнина и некоторых других алкалоидов. В XIX ст. ряд важных исследований в области судебной химии выполнили ученые, которые работали в других областях химии. К ним относятся: Т. С. Ловиц, ИЕ Н. Зинин, Д. И. Менделеев и др.

Глава 1.

ОСНОВЫ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Основу токсикологической химии составляют две естественно-научные дисциплины: токсикология и химия. Без знания токсикологических характеристик ядовитых веществ и закономерностей их поведения в организме, связанное с путями поступления, скорости всасывания, распределения и путей экскреции токсиканта из организма невозможно решить основную задачу токсикологической химии: установление причины развитого токсикологического процесса. Причиной развития токсикологического процесса в организме могут стать не только нативные ядовитые вещества, но и их метаболиты. Например, летальный синтез метилового, этилового спиртов до токсичных альдегидов и кислот. Закономерности течения биохимических процессов, протекающих в организме с токсичными соединениями позволит химику вести поиск не нативного героина, а 6-МAM, не сефина, а 1-нафтола и др.

Любое состояние ядовитых веществ как химических соединений может быть оценено методами химических наук. Например, показание значения рН экстрактов из биологического и из другого материалов иоэволюет химику вести поиск в сторону обнаружения и количественного определения ядовитых веществ кислотного и щелочного характеров. Большинство ядовитых соединений относятся к органическим соединениям, в связи с этим обнаружение их возможно на основе установления химической структуры. А установление химической структуры органических соединений производится с помощью функционального анализа органической аналитической химии. Количественная оценка химических веществ любого происхождения может быть дано методами аналитической химии.

Таким образом, решения основной задачи токсикологической химии как науки, которая изучает методы изолирования, обнаружения и количественного определения ядовитых веществ и их дериватов в различных объектах, дает научно-теоретическое обоснование методов их химико-токсикологического анализа невозможно без научной основы токсикологии и химических наук.

1. Токсикологические основы токсикологической химии

Токсикология (от греч. *toxikon*— яд и *logos* — учение) — наука, изучающая свойства ядовитых веществ и физических факторов, механизмы их действия на организм человека и разрабатывающая методы диагностики, лечения и профилактики отравлений. Механизмы воздействия химических агентов и физических факторов исследуют на биологических объектах различного иерархического уровня — от молекулярного до организма человека. Чем выше уровень биологической организации, тем сложнее методы исследования, однако результаты исследования более достоверны.

Биологические методы используют для изучения токсичности на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях действия токсикантов. С этой целью проводятся лабораторные исследования «in vitro» и «in vivo». Воздействие токсиканта на организм в целом, а также на отдельные органы и ткани изучают, применяя методы, принятые в клинических испытаниях новых лекарственных средств на добровольцах (индивидуальный организм).

Если токсический эффект изучают *на уровне клетки* (как правило в опытах *in vitro*), то судят прежде всего о *цитотоксичности* вещества.

Цитотоксичность новых веществ выявляется при непосредственном действии соединения на структурные элементы клетки в опытах с использованием культур клеток.

Токсический процесс на клеточном уровне проявляется:

-обратимыми структурно-функциональными изменениями клетки (изменение формы, средства к красителям, подвижности и

т.д.):

-преждевременной гибелью клетки (некроз, апоптоз);

-мутациями (генотоксичность).

Если в процессе изучения токсических свойств веществ исследуют их повреждающее действие *на отдельные органы и системы*, выносят суждение об *органный токсичности соединений*: *нейротоксичности* (например, психотомиметики), *гепатотоксичности* (например, четыреххлористый углерод), *гематотоксичности* (например, мышьяковистый водород), *нефротоксичности* (например, соли ртути), пульмонотоксиканты

(например, фосген) и т.д. Чаще общее действие ксенобиотика сопровождается развитием патологических процессов со стороны нескольких органов и систем (например, хроническое отравление мышьяком - поражение периферической нервной системы, кожи, легких, системы крови).

В большинстве случаев интоксикация носит смешанный, как местный, так и общий характер.

Органотоксичность изучается в процессе изучения свойств (биологической активности, вредного действия) новых химических веществ, а также в процессе диагностики заболеваний, вызванных химическими веществами.

Токсический процесс со стороны органа проявляется *функциональными реакциями* (спазм гортани, кратковременное падение артериального давления, учащение дыхания, усиление диуреза, лейкоцитоз и т.д.), а также *заболеваниями органа*.

Из всех форм проявления токсического процесса наиболее изученной является интоксикация. Механизмы формирования и особенности течения интоксикаций зависят от строения ядов, их доз, условий взаимодействия с организмом. *В зависимости от продолжительности взаимодействия* химического вещества и организма интоксикации могут быть острыми, подострыми и хроническими.

Острой называется интоксикация, развивающаяся в результате однократного или повторного действия веществ в течение ограниченного периода времени (как правило, до нескольких суток).

Подострой называется интоксикация, развивающаяся в результате непрерывного или прерываемого во времени (ингермитирующего) действия токсиканта продолжительностью до 90 суток.

Хронической называется интоксикация, развивающаяся в результате продолжительного (иногда годы) действия токсиканта.

Не следует путать понятие острой, подострой, хронической интоксикации с острым, подострым, хроническим течением заболевания, развившегося в результате контакта с веществом. Острая интоксикация некоторыми веществами (иприты, люизит (БОВ), диоксины, галогенированные бензофураны, паракват и др.) может сопровождаться развитием длительно текущего (хронического) патологического процесса.

Периоды интоксикации. Как правило в течении любой интоксикации можно выделить четыре основных периода: период контакта с веществом, скрытый период, период высокой активности заболевания, период выздоровления. Иногда особо выделяют период осложнений. Выраженность и продолжительность каждого из периодов зависит от вида и свойств вещества, вызвавшего интоксикацию, его дозы и условий взаимодействия с организмом.

В зависимости от локализации патологического процесса интоксикация может быть местной и общей.

Местной называется интоксикация, при которой патологический процесс развивается непосредственно на месте аппликации яда. Возможно местное поражение глаз, участков кожи, дыхательных путей и легких, различных областей желудочно-кишечного тракта. Местное действие может проявляться альтерацией тканей (формирование воспалительно-некротических изменений - действие кислот и щелочей на кожные покровы и слизистые; ипритов, люизита на глаза, кожу, слизистые желудочно-кишечного тракта, легкие и т.д.) и функциональными реакциями (без морфологических изменений - сужение зрачка при действии фосфорорганических соединений на орган зрения).

Общей называется интоксикация, при которой в патологический процесс вовлекаются многие органы и системы организма, в том числе удаленные от места аппликации токсиканта. Причинами общей интоксикации, как правило, являются: резорбция токсиканта во внутренние среды, резорбция продуктов распада пораженных покровных тканей, рефлекторные механизмы.

В зависимости от интенсивности воздействия токсиканта (характеристика, определяющаяся дозо-временными особенностями действия) интоксикация может быть тяжелой, средней степени тяжести и легкой.

Тяжелая интоксикация - угрожающее жизни состояние. Крайняя форма тяжелой интоксикации - смертельное отравление.

Интоксикация средней степени тяжести - интоксикация, при которой возможны длительное течение, развитие осложнений, необратимые повреждения органов и систем, приводящее к инвалидизации или обезображиванию пострадавшего (химический ожог кожи лица).

Легкая интоксикация - заканчивается полным выздоровлением в течение нескольких суток.

2. Другие формы токсического процесса

Транзиторные (временные) токсические реакции наиболее часто развиваются вследствие раздражающего и седативно-гипнотического действия токсикантов.

Явления раздражения слизистой дыхательных путей, глаз, кожи отмечается при остром воздействии многими веществами - альдегидами, кетонами, галогенами, аллергенами и т.д.

При действии наркотических средств, многих лекарств, органических растворителей, пищевых продуктов (спирт) в малых дозах проявляется их седативно-гипнотическое действие (опьянение). Увеличение поступающей дозы токсиканта в организм приводит к превращению реакции в отравление: опьянение перерастает в кому; явление раздражения - в воспалительный процесс и т.д. Описание приведенных клинических характеристик интоксикации может помочь химику-токсикологу выбрать нужное направление исследования с целью установления диагностики отравления.

Специальные токсические процессы. Развивается в результате острых, подострых и хронических воздействий ксенобиотиков. Как правило, в основе специальных токсических процессов лежит способность веществ изменять генетический код клеток.

Цель токсикологии, как области человеческой деятельности - непрерывное совершенствование системы мероприятий, средств и методов, обеспечивающих сохранение жизни, здоровья и профессиональной работоспособности отдельного человека, коллективов и населения в целом в условиях повседневного контакта с химическими веществами и при чрезвычайных ситуациях.

Эта цель достигается путем решения фундаментальных и прикладных токсикологических задач:

1. Установление количественных характеристик причинно-следственных связей между фактом воздействия каждого из известных человеку химических веществ и развитием различных форм токсического процесса; оценка токсичности веществ. Раздел

токсикологии, в рамках которого осуществляется оценка токсичности химических веществ, называется "**токсикометрия**". Результаты токсикометрических исследований в медицинской практике используют для разработки системы нормативных и правовых - актов, обеспечивающих химическую безопасность населения; оценки риска действия ксенобиотиков в условиях производства, экологических и бытовых контактов с токсикантами; сравнительной оценки эффективности средств и методов обеспечения химической безопасности населения и т.д.

2. Изучение механизмов, лежащих в основе токсического действия различных химических веществ, закономерностей формирования токсического процесса, его проявлений. Эта задача решается с помощью методических приемов, разрабатываемых и совершенствуемых в рамках раздела токсикологии "*токсикодинамика*". Токсикодинамические характеристики веществ необходимы для разработки медикаментозных средств профилактики и терапии интоксикаций, средств и методов предупреждения и минимизации пагубных последствий развития иных форм токсического процесса; совершенствования методов диагностики интоксикаций и оценки функционального состояния лиц, подвергшихся воздействию сверхнормативных доз токсикантов; совершенствования методов оценки токсичности ксенобиотиков и биотестирования исследуемых проб.

3. Выяснение механизмов проникновения токсикантов в организм, закономерностей их распределения, метаболизма и выведения. Совокупность методических приемов, используемых для решения задачи, и накопленных сведений формируют раздел токсикологии - "*токсикокинетика*". Знания токсикокинетики ксенобиотиков необходимы для разработки надежной системы профилактики токсических воздействий; диагностики интоксикаций, выявления профессиональной патологии, проведения судебно-медицинской экспертизы; они широко используются в процессе создания новых противоядий и схем их оптимального использования; совершенствования методов форсированной детоксикации организма и т.д.

4. Установление факторов, влияющих на токсичность вещества, свойств токсикантов, особенностей биологических объектов, условий их взаимодействия, состояния окружающей среды и т.д.

Все упомянутые задачи решаются в ходе экспериментальных исследований на животных, в процессе лечения острых и хронических отравлений человека в условиях клиники, эпидемиологических исследований среди профессиональных групп и населения, подвергшихся действию токсикантов, методами химико-токсикологического анализа.

3. Структура токсикологии

Токсикологическая наука представлена несколькими основными направлениями.

Экспериментальная токсикология изучает общие закономерности взаимодействия веществ и биологических систем (зависимости: "доза токсиканта - эффект", "строение токсиканта - эффект", "условия взаимодействия - эффект"), механизмы формирования и течения токсического процесса; рассматривает проблемы токсикологии в эволюционном аспекте; разрабатывает методологию экстраполяции данных с животных на человека; обеспечивает решение практических задач, стоящих перед профилактической и клинической токсикологией.

Профилактическая токсикология изучает токсичность новых химических веществ; устанавливает критерии их вредности, обосновывает и разрабатывает ПДК токсикантов, нормативные и правовые акты, обеспечивающие сохранение жизни, здоровья, профессиональной работоспособности населения в условиях химических воздействий и осуществляет контроль за их соблюдением;

Клиническая токсикология - область практической медицины, связанная с оказанием помощи при острых токсических поражениях, выявлением и лечением патологии, обусловленной действием профессиональных вредностей и т.д. В рамках клинической токсикологии совершенствуются средства и методы диагностики и лечения острых интоксикаций, изучаются особенности течения профессиональных болезней, вызванных действием химических веществ на организм.

С учетом условий (преимущественно особенностей профессиональной деятельности), в которых наиболее вероятно воздействие того или иного токсиканта на организм человека, в

медицинской токсикологии иногда выделяют *промышленную, сельскохозяйственную, коммунальную токсикологию, токсикологию специальных видов деятельности* и т.д.

Новым направлением современной токсикологии является *экотоксикология*.

4. Химические основы токсикологической химии

Место химических наук в токсикологической химии раскрывается в том, что основные вопросы токсикологии - токсикодинамика и токсикокинетика ксенобиотиков в организме решаются с помощью методов химико-токсикологического анализа. Кроме этого главной задачей **ХТА** является получение объективных и правильных результатов, исследование в соответствии с поставленным вопросом в постановлении следователя или других официальных лиц, например врачей лечебных учреждений. С этой целью, судебно-медицинскими экспертами-химиками, химиками-токсикологами проводятся химико-токсикологическое исследование различных объектов - изолированный биологический материал, биологические жидкости живых лиц (кровь, моча, слюна), предметы окружающей среды и вещественные доказательства, изъятые с места происшествия и имеющие отношение к данной ситуации анализируются также методами **ХТА**. При этом решаются задачи - изолирование токсиканта из объектов исследования, обнаружение и идентификация, количественное определение ядов в полученных средах. К фактору который может обеспечить объективность результатов исследования можно отнести правильный забор объектов исследования, в котором может быть локализовано токсическое вещество. Максимальное извлечение искомого токсического вещества из отобранных объектов может быть осуществлено, если правильно составлен план химико-токсикологического исследования, в котором правильно выбран метод изолирования. В основе метода изолирования, как правило, лежит комплекс физических и химических явлений, т.к. объект исследования - физическое тело, а ядовитое вещество - химическое соединение. Например, измельчение биологического или другого материала оптимальной степени является физическим процессом,

которое может способствовать максимальному извлечению токсиканта. А разрушение связи ядовитого вещества с компонентами (прежде всего с аминокислотами, белками липидами) ткани биологического материала достигается химическими воздействиями. Например, изолирование «лекарственных ядов» в методах А. Васильевой, Стаса - Отто или В.Ф. Крамаренко проводят после подкисления биологических объектов щавелевой, виннокаменной или серной кислотами. С помощью 6 М. хлороводородной кислоты удастся разрушить конъюгированные связи ядовитого вещества в моче при исследовании на опиаты и другие. Получение экстракта с максимальным выходом искомого ядовитого вещества осуществляется такими химическими методами, как кристаллизация, перекристаллизация, экстракция и реэкстракция, а также комплексом хроматографических методов: тонкослойная и колоночная хроматография. Обнаружение и количественное определение искоемых ядовитых веществ проводится также комплексом химических и физико-химических методов. Методы химико-токсикологического анализа постоянно развиваются. Например, при судебно-химическом исследовании биологического материала на присутствие ядовитых веществ использовались простые методики, и достоверность полученных результатов подвергались сомнению. Так при освидетельствовании живых лиц по поводу алкогольного опьянения пользовались неспецифичными пробами Раппопорта и Шинкаренко, которые в настоящем заменены на хроматографические и электрохимические методы, позволяющие одновременно обнаруживать и количественно определять спирты как в индивидуальном состоянии, так и в смеси другими компонентами. Обнаружение и определение «металлических ядов» в минерализатах проводились сложным и трудоемким сероводородным методом, который заменен на более эффективный дробный метод исследования «металлических ядов». Если при судебно-химических исследованиях на «металлические яды» требовалось взятие навески биологического материала в количестве 100 граммов и процесс минерализации продолжался до 72 часов, то применение современных физико-химических (спектральных) методов в малых (1-5 граммов) навесках биоматериала позволяют в течение короткого времени обнаруживать и количественно определять

«металлические яды». Таких примеров можно привести множество. Наверное, достаточно перечисление современных методов, применяемых в химико-токсикологическом анализе биологических объектов: различные варианты методов хроматографии - ТСХ, ВЭТСХ, ГХ, ГЖХ, ЖЖХ, ВЭЖХ и их комбинации с масс-спектральными методами, спектроскопические, иммунохимические, иммуноферментные, фармакогностические, фармакологические и другие методы.

Таким образом, токсикологическая химия — это наука и практика, которая решает задачи общей и частной токсикологии, органов здравоохранения, прежде всего судебно-медицинской экспертизы, лабораторной диагностики отравления и занимается изучением проблем выделения, обнаружения (идентификации) и количественного определения токсикологически важных веществ и их метаболитов из различных объектов биологического и другого (объекты из окружающей среды, средства бытовой и промышленной химии, медикаменты, наркотические вещества и др.) происхождения.

Следовательно, основной задачей токсикологической химии является разработка новых и совершенствование существующих методов изолирования из различных объектов, очистки полученных экстрактов с целью обнаружения и количественного определения в них ядовитых веществ и их метаболитов и научно-теоретическое обоснование методов их химико-токсикологического анализа.

5. Направления токсикологической химии

В период своего становления токсикологическая химия была связана в основном с задачами судебно-медицинской токсикологии, поэтому до 70-х годов XX в. в фармацевтических вузах изучали не токсикологическую, а судебную химию. В настоящее время токсикологическая химия имеет несколько направлений: химико-токсикологическое, клиничко-токсикологическое, наркологическое и экотоксикологическое и др. Объектами анализа при допинговом контроле являются кровь и моча обследуемого спортсмена. И это является еще одной стороной ответственного применения химико-токсикологического анализа

Клиничко-токсикологическое направление токсикологической химии связано с вопросами оказания лечебной помощи при острых

и хронических отравлениях. Его организационная структура в каждой стране имеет свои особенности. В Республике Казахстан эта служба в основном входит в структуру крупных многопрофильных лечебных учреждений Министерства здравоохранения, где имеется стационарное отделение и лаборатория химико-токсикологического анализа. В лаборатории проводятся химический и физико-химический (фотометрический, хроматографический) анализ промывных вод, рвотных масс, крови и мочи поступивших с отравлением лиц для обнаружения и определения ядовитых веществ, вызвавших отравления. На основе полученных результатов и клинических проявлений отравления в стационаре больному оказывают детоксикационное и лечебное мероприятие пациентов до полного выздоровления.

В качестве примера организации службы химико-токсикологического анализа за рубежом ниже представлены сведения о 3-х типов лабораторий для регионов с различной численностью населения (Основы аналитической токсикологии.— Женева—Москва: ВОЗ 1997).

Районный аналитический центр (население 20 000-100 000 человек) имеет клиническую лабораторию, где выполняют качественный анализ лекарственных препаратов, идентификацию барбитуратов в биологических жидкостях, определение карбоксигемоглобина, метгемоглобина. В штате такой лаборатории состоит один квалифицированный лаборант, использующий, помимо химических, и физико-химические методы анализа — ультрафиолетовую спектрофотометрию и тонкослойную хроматографию. В такой лаборатории делают приблизительно 50 анализов в год.

В *региональной лаборатории* (население 1—2 млн человек) выполняют качественный анализ лекарственных препаратов, идентификацию снотворных и других лекарственных веществ в биоматериалах, определение алкоголя и других растворителей в крови. Штат, состоящий из директора, 2—3 врачей и 6 лаборантов, занимает помещение из 9 комнат. Для выполнения анализов используют спектрофотометрию, газовую и высокоэффективную жидкостную хроматографию. В течение года в лаборатории анализируют более 2000 образцов, причем преимущественно это определение этанола. На другие яды приходится примерно 10% общего числа анализов.

Государственная (федеральная) лаборатория рассчитана на население 2—4 млн. В ее задачи входит руководство районными аналитическими центрами и региональными лабораториями, проведение научных исследований и обучение специалистов. В лаборатории выполняются практически любые анализы. В работе такой лаборатории, включающей более 30 подразделений, участвуют 3—6 врачей и 10—15 специалистов-аналитиков, использующих при исследованиях ультрафиолетовую и инфракрасную спектрофотометрию, газовую и высокоэффективную жидкостную хроматографию, хромато-масс-спектрометрию, иммуно-химические методы, денситометрию. Число анализов превышает для ядов 1000, для этанола — 5000 в год.

В настоящее время в связи с широким распространением наркомании в разных странах особое значение приобрело *наркологическое направление* аналитической токсикологии. Наркологическое направление токсикологической химии в РК осуществляет Центр наркологии и социальной реабилитации МЗ РК, в состав которого входят центры аналитической диагностики наркотических средств и психотропных веществ и наркологические диспансеры, основная задача которых — лабораторная диагностика, коррекция лечения, аналитическая диагностика наркотического опьянения развернутых в Астане, Алматы и в областных центрах страны.

Экотоксикологическое направление токсикологической химии рассматривает вопросы биомедицинской, профессиональной токсикологии, а также токсикологии окружающей среды. *Токсикология окружающей среды* имеет дело с потенциально вредными влияниями на биологические объекты токсикантов содержащиеся в воде, воздухе, почве. Хотя человек является главной мишенью действия загрязнителей — ксенобиотиков, другие наземные и водные живые организмы, включая растения, также важны как потенциальные биологические мишени и как промежуточное звено между токсикантом и организмом человека.

В *биомедицинской области* важны химико-токсикологические исследования побочного действия лекарств и вспомогательных веществ, т.е. оценка безопасности или риска, связанного с их применением.

Профессиональная токсикология оценивает риск работы с химическими веществами, применяемыми в различных отраслях промышленности, в частности фармацевтической. На промышленных и сельскохозяйственных предприятиях воздействие ядовитых веществ на организм возможно во время производства, хранения, упаковки и применения химических веществ. Например, отравление пестицидами возможно на всех перечисленных стадиях, а также при использовании загрязненных продуктов сельскохозяйственного производства в пищу.

В нашей республике химико-токсикологический анализ проводится, кроме указанных выше, во всех химико-токсикологических лабораториях (отделениях) структуры Центра судебной медицины МЮ РК, а так же санитарно-эпидемиологической и экологической службы, токсикологических отделений крупных многопрофильных больниц г. Алматы и областных центров, а также наркологических центров МЗСР РК. В г. Алматы размещен антидопинговая лаборатория Министерства туризма и спорта РК, где также проводится химико-токсикологический анализ крови и мочи, взятых у спортсменов на допинг.

Глава 2. ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ ВОПРОСЫ СУДЕБНО- МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ В РК

Судебно-медицинская экспертиза является частью судопроизводства. Задачами уголовного судопроизводства являются быстрое и полное раскрытие преступления, изобличение виновных и обеспечение правильного применения закона с тем, чтобы каждый, совершивший противоправное действие, был подвергнут справедливому наказанию и не один невинный не был привлечен к уголовной ответственности и осужден.

Раскрытие преступлений и изобличение виновных проводят органы предварительного следствия, органы дознания и суд.

Доказательствами по уголовному делу являются любые факты, на основании которых органы дознания, следователь и суд устанавливают наличие или отсутствие преступного деяния (действие или бездействие), виновность совершившего его человека, а также другие обстоятельства, имеющие значение для правильного разрешения дела.

Фактические данные устанавливают различными способами, в том числе и с помощью экспертизы. Экспертизу назначают в случаях, когда при производстве дознания, предварительного следствия и судебного разбирательства возникает необходимость в специальных познаниях в науке, технике, искусстве или ремесле. Экспертом является специалист, обладающий такими познаниями.

Судебно-медицинская экспертиза - это предусмотренное и регламентированное законом, проводимое специалистом научно-практическое исследование конкретных объектов, предпринимаемое для решения конкретных медицинских и медико-биологических вопросов, возникающих при проведении конкретного дознания, предварительного следствия и судебного разбирательства.

В обязательном порядке судебно-медицинскую экспертизу проводят для установления причины смерти, характера повреждений, возраста обвиняемого, подозреваемого и потерпевшего, а также для определения физического состояния свидетеля или потерпевшего, если возникает сомнение в их способности правильно воспринимать обстоятельства и давать правильные показания. Решение других

частных вопросов определяется особенностями обстоятельства конкретного расследуемого дела. Например, в случаях криминального отравления в экспертизе участвует специалист с высшим фармацевтическим образованием - судебно-медицинский эксперт-химик.

1. Организация и производство судебно-медицинской экспертизы в РК

Вся деятельность судебно-медицинской службы в Республике Казахстан организовывалась, управлялась и контролировалась Центром судебной медицины (ЦСМ) центрального уполномоченного органа здравоохранения (МЗСР РК). Однако с 2015 года все учреждения судебно-медицинской экспертизы вошли в состав Судебной экспертизы Министерства Юстиции Республики Казахстан (Постановление Правительства РК № 1403 от 30 декабря 2014 года). В своей деятельности ЦСМ руководствуется нормативно-правовыми актами Республики Казахстан, приказами МЮ РК, инструкциями, правилами, методическими разработками, Уставом и положением об учреждении.

Согласно статьи 231-V УПК РК от 2014 г. экспертиза назначается в случаях, когда обстоятельства, имеющие значение для дела, могут быть получены в результате исследования материалов дела, проводимого экспертом на основе специальных научных знаний. Экспертиза обязательно назначается (ст. 271 УПК РК), если по делу необходимо установить: 1) причины смерти, характер и степень тяжести причиненного вреда здоровью; 2) возраст; 3) психическое или физическое состояние подозреваемого, обвиняемого по поводу их вменяемости или дееспособности; психическое состояние обвиняемого в совершении преступления, за совершение которого Уголовным кодексом РК предусмотрено наказание.

Производство судебно-медицинской экспертизы (далее - экспертиза) осуществляет судебно-медицинский эксперт, в компетенцию которого входит:

- а) экспертиза трупа в случаях насильственной смерти;
- б) экспертиза трупа при подозрении на применение насилия или при обстоятельствах, обуславливающих необходимость исследования трупа в судебно-медицинском порядке;

в) экспертиза потерпевших, обвиняемых и других лиц для определения характера и тяжести вреда здоровью, возраста, половых состояний и разрешения других вопросов, требующих познаний в области судебной медицины;

г) *экспертиза вещественных доказательств с применением лабораторных методов исследования;*

3. Судебно-медицинский эксперт привлекается в качестве специалиста в области судебной медицины к участию в первоначальных и следующих следственных действиях:

а) к осмотру трупа на месте его обнаружения (происшествия);

б) эксгумации, изъятию образцов для сравнительного исследования;

в) к проведению следственного эксперимента.

Также судебно-медицинский эксперт привлекается для проведения экспертизы и дачи разъяснения по проведенным им ранее судебно-медицинским исследованиям в судебном заседании.

Производство судебной экспертизы может быть поручено: сотрудникам органов судебной экспертизы, лицам, осуществляющим судебно-экспертную деятельность на основании лицензии; в разовом порядке - иным лицам, отвечающим требованиям, указанным в части первой статьи 83 УПК РК - «Экспертной деятельностью могут заниматься лица, имеющие высшее образование и специальные научные знания в области определенного вида судебной экспертизы». В практике судебно-химической экспертизы это лицо с высшим фармацевтическим образованием, прошедшее специализацию по токсикологической химии.

2. Производство судебно-медицинской экспертизы

Экспертиза назначается в соответствии с законодательством Республики Казахстан и подразделяется на *единоличную, дополнительную, повторную, комиссионную, и комплексную.*

Комиссионная экспертиза назначается в случаях необходимости производства сложных судебно-экспертных исследований и проводится не менее чем двумя экспертами одной специальности на основе постановления представителей органов дознания и определения суда (в соответствии статьей 281 УПК РК).

Председателем судебно-медицинской экспертной комиссии является руководитель органа судебно-медицинской экспертизы, в его отсутствие — заместитель по экспертной работе.

Председатель комиссии:

- 1) несет ответственность за работу комиссии;
- 2) изучает материалы дела;
- 3) определяет состав комиссии, если он не предусмотрен постановлением о производстве экспертизы, и время ее заседания;
- 4) руководит комиссией и участвует в ее работе.

Для координации деятельности судебных экспертов, входящих в состав комиссии, руководитель органа судебной экспертизы либо орган (лицо), назначивший комиссионную судебную экспертизу, назначает ведущего эксперта.

Члены экспертной комиссии:

- выполняют поручения председателя;
- осуществляют подготовку материалов к заседанию комиссии;
- своевременно знакомятся с материалами дела;
- принимают участие в работе комиссии;
- составляют совместно с председателем заключения и правильно их оформляют;
- сдают в канцелярию органа судебной экспертизы заключения и поступившие материалы.

При производстве комиссионной судебной экспертизы каждый из судебных экспертов независимо и самостоятельно проводит исследование в полном объеме.

В случае разногласия между экспертами каждый из них или часть экспертов дает отдельное заключение либо эксперт, мнение которого расходится с выводами остальных членов комиссии, формулирует его в заключении отдельно.

Комплексная экспертиза назначается, когда для установления обстоятельства, имеющего значение для дела, необходимы исследования на основе разных отраслей знаний, и проводится судебными экспертами различных специальностей в пределах их компетенции (ст. 282 УПК РК).

Организации производства комплексной экспертизы, порученной органу судебной экспертизы, возлагается на его руководителя. Руководитель органа судебной экспертизы вправе также самостоятельно принять решение о проведении по представленным в соответствии с постановлением, определением о назначении судебной экспертизы материалам комплексной экспертизы и организовать ее производство.

При производстве комплексной судебной экспертизы каждый из судебных экспертов проводит исследования в пределах своих специальных научных знаний.

В заключении комплексной судебной экспертизы указывается какие исследования в каком объеме провел каждый судебный эксперт и к каким выводам он пришел. Каждый судебный эксперт подписывает заключение в части, отражающей проведенное им исследование.

Дополнительная экспертиза назначается при недостаточной ясности или полноте заключения, а также возникновении необходимости решения дополнительных вопросов, связанных с предыдущим исследованием. Производство дополнительной экспертизы поручается тому же, а в случае его *отсутствия, иному эксперту*.

Повторная экспертиза назначается для исследования тех же объектов и решения тех же вопросов в случаях:

- недостаточно обоснованного предыдущего заключения эксперта;
- сомнения в правильности заключения эксперта;
- нарушения процессуальных норм назначения и производства экспертизы.

В постановлении, определении о назначении повторной экспертизы приводятся причины несогласия с результатами предыдущей экспертизы. Производство повторной экспертизы поручается комиссии экспертов. Эксперты, проводившие предыдущую экспертизу, могут присутствовать при производстве повторной экспертизы и давать комиссии пояснения, в экспертном исследовании и составлении заключения они не участвуют.

Экспертизы в Центре судебной медицины производятся после проведения первичных и комиссионных экспертиз в филиалах Центра.

Объекты для экспертных исследований, в том числе вещественные доказательства, подлежат строгому учету и хранению. Эксперт обеспечивает их недоступность от посторонних лиц.

3. Оформление заключения эксперта

Результаты экспертизы оформляются в соответствии с требованиями Закона Республики Казахстан «О судебно-экспертной деятельности в Республике Казахстан» № 248-V от 07 ноября 2014 г. на государственном или русском языке.

Заключение состоит из следующих разделов: вводной части, включающей краткое изложение обстоятельств дела, исследовательской части и выводов (ст. 283 УПК РК).

Во вводной части заключения указываются:

- время и место производства экспертизы;
- постановление, на основании которого производится экспертиза;
- фамилия, имя, отчество эксперта, занимаемая должность, образование, специальность и стаж работы по специальности, при наличии: квалификационная категория, ученая степень, ученое звание;
- при экспертизе трупа - фамилия, имя, отчество, возраст умершего (если известно);
- подпись судебно-медицинского эксперта о его процессуальных правах, обязанностях и о предупреждении об уголовной ответственности за дачу заведомо ложного заключения;
- перечень вопросов, поставленных на разрешение экспертизы;
- обстоятельства дела, изложенные в редакции лица (органа), назначившего экспертизу.

В исследовательской части содержится подробное описание процесса исследования всех предоставленных объектов экспертного исследования и найденных при этом фактических данных. В исследовательской части излагаются примененные методы исследования и используется объективная регистрация результатов (фотоснимки).

Вводная и исследовательская части, а также выводы составляют протокол заключения эксперта. Выводы в заключении являются научно-обоснованным мнением эксперта, сформулированным на основании полученных им результатов и их объективного анализа. Выводы следует излагать ясно, конкретно, не допуская их различного толкования.

В зависимости от вида и сложности экспертизы протокол подписывают один или несколько экспертов, производивших экспертизу.

Формулировка выводов начинается с изложения оснований (преамбулы), на основании которых установлены все последующие факты, и завершается изложением выводов.

В выводах указываются:

Ответы судебно-медицинского эксперта на вопросы, поставленные лицом (органом), назначившим экспертизу после получения всех результатов лабораторных и дополнительных экспертных исследований, с формулированием выводов;

Заключение составляется в двух экземплярах, один из которых передается лицу (органу), назначившему экспертизу, а другой остается на хранении в архиве органа судебной экспертизы. Заключение не подменяется различными справками и выписками, а также для составления вышеуказанных судебно-медицинских документов не применяются не утвержденные формы и бланки анкетного типа.

4. Сроки производства экспертизы

Сроки производства экспертиз определяются их видом, объемом и характером экспертных исследований. Длительность срока исполнения экспертиз зависит от видов проводимых различных лабораторных исследований.

Продолжительность производства экспертизы не должна превышать 30 суток со дня получения от органов дознания, следователя, прокурора или суда всех необходимых материалов.

Производство экспертиз осуществляется в следующие сроки:

При экспертизе трупов - до 30 суток, с учетом сроков производства лабораторных методов исследования, но не более чем через 3 суток, без учета выходных и праздничных дней, после

получения последнего результата дополнительных методов лабораторных исследований;

В случаях, невозможности завершения производства экспертизы в установленный срок, до его истечения судебно-медицинский эксперт через руководителя органа судебной экспертизы в письменном виде предупреждает об этом лицо (орган), назначившее экспертизу, указав причину и ориентировочный срок её завершения.

Продление срока производства судебной экспертизы осуществляется органом (лицом), назначившим судебную экспертизу, по мотивированному ходатайству руководителя органа судебной экспертизы.

Приостановление производства судебной экспертизы производится до устранения обстоятельств, явившихся основанием для приостановления, но не более чем на десять суток. Если обстоятельства, явившиеся основанием для приостановления производства судебной экспертизы, не будут устранены в течение указанного срока, в адрес органа (лица), назначившего судебную экспертизу, направляется сообщение о невозможности дать заключение.

Заключение судебного эксперта либо сообщение о невозможности дать заключение направляется органу (лицу), назначившему судебную экспертизу, в течение трех суток после их составления.

5. Производство химико-токсикологической экспертизы и исследований

Химико-токсикологическая экспертиза и исследования проводятся на основании постановлений правоохранительных органов, награвлений руководителей лечебных учреждений и других заинтересованных организаций в химико-токсикологических лабораториях. Порядок проведения экспертизы регламентируется действующими в республике Казахстан Законом РК о судебной экспертизе, УПК, ГПК, УК, а также правилами производства химико-токсикологических экспертиз, методическими указаниями, другими нормативными актами.

Химико-токсикологическая лаборатория является структурным подразделением ЦСМ, его регионального филиала и входит в состав судебно-медицинской лаборатории. В химико-токсикологическом отделе Центра проводятся особо сложные, комиссионные, повторные экспертизы; организовываются и проводятся циклы первичной специализации, усовершенствования, семинары, конференции, рабочие совещания и съезды.

Первичная специализация и аттестация молодых специалистов осуществляются на базе Центра на тематические усовершенствования - как в Центре, так и в его филиалах. Лаборатория должна размещаться в соответствующем здании и располагать физико-химической аппаратурой, оборудованием, измерительной техникой, химической посудой, реактивами, необходимыми материалами, методическими пособиями, необходимыми для проведения экспертиз и исследований на высоком научно-техническом уровне. Все средства измерения должны регулярно поверяться метрологической службой Госстандарта.

Производственные и вспомогательные помещения химико-токсикологической лаборатории должны соответствовать санитарным нормам, правилам противопожарной безопасности, иметь вытяжную вентиляцию, отопление, подводку необходимых газов, воды, хорошее естественное освещение, необходимую силовую электропроводку, контур заземления. В лаборатории должны быть обеспечены условия для работы с инфицированным и токсичным материалом.

Химико-токсикологическая лаборатория включает комнаты для лабораторных мест специалистов, аппаратуры и оборудования, кабинеты специалистов, моечную, подсобные помещения для хранения химических реактивов, посуды, архива, холодильников с объектами исследований.

Химико-токсикологическая лаборатория должна быть изолирована от других отделов и по окончании работы запирается и опечатывается.

Руководит работой лаборатории заведующий - судебно-медицинский эксперт, имеющий высшую или первую квалификационную категорию. Судебно-медицинским экспертом-химиком может быть только лицо, имеющее высшее фармацевтическое (химико-фармацевтическое) образование.

Химико-токсикологическая экспертиза (исследование) производится с целью обнаружения и количественного определения или исключения веществ, которые при определенных условиях могли вызвать смерть человека или нарушение здоровья. Она же может рекомендовать меры по улучшению качества лечебной помощи при интоксикации и профилактике отравлений некоторыми ядами в различных регионах страны.

В постановлении о назначении химико-токсикологической экспертизы должны быть указаны: краткие обстоятельства дела, объекты, направляемые на исследование, и точно сформулированные вопросы, требующие разрешения. Вместе с постановлением обязательно направляются:

- опись вещественных доказательств с подробным описанием каждого объекта, формы и объем сосудов, укупорки, опечатывания и текста этикеток;

- выписка из акта судебно-медицинского исследования трупа с изложением предварительных сведений и основных данных исследования трупа, подписанная судебно-медицинским экспертом;

- заверенная копия истории болезни, если умерший находился на лечении.

Если необходимые материалы не были присланы, то они должны быть затребованы и проведение исследования может быть задержано до их получения, за исключением случаев проведения анализа на ядовитые быстро разлагающиеся вещества.

Эти же правила распространяются в случаях производства химико-токсикологических исследований по направлениям судебно-медицинских экспертов и руководителей лечебных учреждений.

Вещественные доказательства вместе с документами поступают в химико-токсикологическую лабораторию только через канцелярию учреждения судебно-медицинской экспертизы при соответствующем письменном указании руководителя учреждения на постановлении о проведении химико-токсикологической экспертизы или на сопроводительном документе судебно-медицинского эксперта или руководителя лечебного учреждения.

Вещественные доказательства, не запечатанные и не опечатанные или с повреждениями упаковки, поступившие из города, в котором функционирует судебно-медицинская

лаборатория, подлежат возврату в учреждение, направившее их для исследования. Это требование не распространяется на объекты, полученные из других населенных пунктов. О ненадлежащей упаковке составляется акт, один экземпляр которого высылают в учреждение, приславшее объекты исследования, и проводится их химико-токсикологическое исследование.

Вещественные доказательства и сопроводительные документы регистрируются в регистрационном журнале химико-токсикологической лаборатории по утвержденной форме.

Объектами химико-токсикологических экспертиз могут быть кровь, моча, слюна, промывные воды желудка, смывы с рук и ротовой полости, срезы ногтевых пластинок и волос, другие биологические объекты, части внутренних органов, костные останки, части одежды, предметы быта, вещественные доказательства, изъятые с места происшествия.

Объекты принимаются в опечатанном виде с надлежащими реквизитами (фамилия, инициалы трупа, порядковый номер заключения судебно-медицинской экспертизы трупа, фамилия, инициалы освидетельствуемого или больного, наименование и дата изъятия объекта, кем направлены объекты исследования), при наличии правильно оформленного постановления или направления; в случаях экспертизы объектов, вещественных доказательств (от освидетельствуемого объекты принимаются при наличии протокола забора образцов с удостоверительными подписями лиц подтверждающих их подлинность). Объекты в процессе проведения исследования хранятся в металлическом шкафу, а подверженные гниению - в герметичной емкости в холодильнике, которые в конце рабочего дня опечатываются назначенным ответственным лицом. Все объекты и сопроводительные документы регистрируются в регистрационном журнале отделения.

Химико-токсикологическая экспертиза по одному делу от начала до конца выполняется одним экспертом или экспертной комиссией, которым поручено ее выполнение.

Все химико-токсикологические исследования должны вестись как количественные, которые позволяют перейти в количественное определение токсиканта на любом этапе исследования. Количественное содержание токсического вещества исследуют во всех случаях, где имеются соответствующие методики определения.

Количества найденных веществ относятся к 100 граммам взятой для анализа навески объекта и выражаются в весовых единицах.

В химико-токсикологическом исследовании для анализа всегда должны применяться лишь те методы и реакции, с которыми эксперт ранее ознакомился, овладел ими, знает все условия их воспроизводства, в состоянии учесть все ошибки, которые могут возникнуть при их применении, т.к. на производстве химико-токсикологического исследования нельзя учиться. Используемые для анализа реактивы должны быть химически чистые, чистые для анализа, особой степени чистоты. Чистоту реактивов проверяют в тех максимальных количествах, в которых они будут употреблены для анализа и теми же методами и реакциями, которые будут применены в ходе химико-токсикологического исследования (проведение «холостых» проб). При получении отрицательного результата при проведении реакций, имеющих «отрицательное химико-токсикологическое значение», эксперт прекращает дальнейшее исследование на данное вещество или группу веществ.

Нельзя делать заключение о наличии токсического вещества в объекте на основе одной реакции или на основе результата одного физико-химического метода. Заключение должно базироваться на результатах нескольких реакций или по совокупности результатов химических реакций и физико-химических методов.

При наличии соответствующих методических рекомендаций, указаний или информационных писем главного судебно-медицинского эксперта МЮ РК, их использование при проведении химико-токсикологических экспертиз должно быть обязательным. При отсутствии таких юридических документов разрешается использовать материалы по судебно-медицинской экспертизе, изданные или опубликованные в научных изданиях, однако, после апробирования материала в эксперименте лично экспертом.

При подозрении на отравление неизвестным ядом, принятому ЦСМ МЮ РК правилу химико-токсикологическая экспертиза проводится согласно следующему перечню токсикологически важных веществ:

1) вещества, изолируемые дистилляцией с водяным паром: синильная кислота и ее соединения, метиловый, этиловый, ирогшловый, бутиловый, амиловый спирты, формальдегид, хлороформ, углерод четыреххлористый, дихлорэтан, ацетон;

2) органические вещества, изолируемые подкисленной водой или подкисленным спиртом, другими органическими растворителями: производные барбитуровой и тиобарбитуровой кислот, морфин, кодеин, дионин, героин, гидрокодон, папаверин, промедол, стрихнин, атропин, гиосциамин, скополамин, кокаин, пахикарпин, хинин, эфедрин, эфедрон, тетрагидроканнабинол, производные фенотиазина, производные 1,4-бензодиазепина, карбофос, метафос, метилэтилтиофос, метилнитрофос, трихлорметафос-3, метилмеркаптофос, фосфамид, фталофос, фозалон, бутифос, хлорофос, октаметил, севин;

3) вещества, изолируемые минерализацией: ртуть, мышьяк, таллий, кадмий, свинец, барий, медь, марганец, хром, цинк, сурьма, серебро, висмут;

4) вещества, изолируемые диализом: нитраты, нитриты, азотная, серная, соляная кислоты, едкие калий и натрий, аммония гидроокись;

5) вещества, изолируемые специальными методами: цинка фосфид, йод, бром, окись углерода;

6) вещества, на которые расширяют общее исследование в зависимости от клинической, секционной картины, обстоятельства дела, данных, полученных с места происшествия, особенностей течения химических реакций.

Для достоверной идентификации определяемых веществ должны быть применены не менее двух независимых методов, которые основаны на различных физических или химических принципах.

Остатки объектов исследования хранятся в архиве отделения в опечатанном виде, на этикетках проставляется срок хранения и подпись эксперта, проводившего исследование. После исследования на этиловый спирт биологические объекты хранятся в течение месяца. Остатки внутренних органов и других объектов исследования хранятся в течение года при температуре не выше 4 градусов Цельсия в архиве отделения, либо выдаются вместе с первым экземпляром заключения органу (лицу), назначившему экспертизу, о чем делается запись и ставится роспись получившего в регистрационном журнале и на втором экземпляре.

По истечении срока хранения составляется Акт уничтожения объектов исследования с указанием номера экспертизы, срока

поступления и уничтожения, под которым подписываются заведующий, эксперт и лаборант.

В отдельных случаях объекты исследования могут быть уничтожены ранее установленного срока только по письменному разрешению лица, направившего их. Необходимость уничтожения объектов ранее установленного срока может возникнуть в связи с отсутствием условий для их длительного хранения. По окончании химико-токсикологической экспертизы все сопроводительные документы хранятся вместе со вторым экземпляром заключения в архиве.

Штатная нагрузка эксперта-химика нормируется в полных единицах анализа в год. В целях единого подхода к учету нагрузки экспертной работы в химико-токсикологических подразделениях действуют условные коэффициенты пересчета различных видов исследований веществ на полные анализы (условные единицы).

6. Эксперт-химик

Эксперт-химик может самостоятельно производить исследование вещественных доказательств только после получения углубленной подготовки по токсикологической химии на курсах специализации. Периодически через каждые 3-5 лет эксперт-химик обязан повышать свою квалификацию на курсах усовершенствования. Эксперт-химик должен иметь хорошую подготовку в области химических и биологических наук, владеть знаниями по судебно-медицинской токсикологии о путях и скорости поступления и выведения, депонирования, метаболизме ядовитых веществ, сохранность ядов в биологических объектах исследования и по отдельным юридическим вопросам. В правах и обязанностях эксперты-химики полностью приравниваются к судебно-медицинским экспертам.

Эксперт-химик для решения поставленных вопросов имеет право просить об их уточнении или разъяснении, он не должен давать ответы на вопросы, выходящие за пределы его компетенции. Эксперт-химик вправе поставить вопрос о предоставлении в его распоряжение дополнительных материалов или сведений. В случае не предоставления их он письменно извещает соответствующие органы о невозможности дать заключение на поставленные вопросы, с указанием причин.

Эксперт-химик несет ответственность за: квалифицированное и своевременное выполнение исследований; качественное ведение и составление документации в соответствии с действующими положениями; сохранность вещественных доказательств, объектов исследования и документов, поступивших для экспертизы, своевременную передачу заведующему судебно-медицинской лаборатории всей документации по законченным исследованиям; своевременную передачу на хранение остатков трупного материала.

Эксперт-химик дает подписку об ответственности за уклонение или за дачу заведомо ложного заключения по соответствующей статье УПК РК.

Эксперт-химик не имеет права участвовать в производстве экспертизы, если он является потерпевшим, свидетелем, или находится в родственных отношениях, служебной или иной зависимости от обвиняемого, а также, если имеются обстоятельства прямой или косвенной заинтересованности в деле.

Эксперт-химик может быть допрошен следователем для разъяснения или дополнения данного им заключения. Свой ответ он может изложить собственноручно.

При рассмотрении уголовных и гражданских дел в судах эксперт-химик может быть вызван для дачи заключения и допроса по исследованиям, произведенным на стадии предварительного следствия, а также для проведения экспертизы в судебном следствии. Эксперт-химик, вызванный в суд имеет право ознакомиться с материалами дела, задавать вопросы в связи с проведением экспертизы. При неправильном истолковании участниками судебного процесса заключения, данного экспертом-химиком, он обязан заявить об этом в процессе судебного следствия.

Поступившие в лабораторию вещественные доказательства тщательно осматриваются экспертом-химиком и подробно описываются в рабочем журнале. Эксперт-химик должен установить полное совпадение полученных объектов с описанием их в постановлении о назначении химико-токсикологической экспертизы или в сопроводительном документе. При отсутствии отдельных объектов и при обнаружении объектов, не указанных в постановлении или сопроводительном документе, составляется акт.

Эксперт-химик отвечает за сохранность объектов исследования с момента их получения. Он ведет подробные записи в рабочем журнале, в который, помимо описания вещественных доказательств, ежедневно вносятся все данные о проведенных процессах, реакциях и полученных результатах, включая все материалы по количественному определению.

Эксперт-химик тщательно изучает все материалы по проводимой экспертизе и составляет план исследования. Химико-токсикологическое исследование проводится на определенное соединение или группу веществ, указанных в постановлении или в сопроводительном документе.

Для анализа используется лишь часть вещественных доказательств вторая часть может быть использована для проверки результатов тем же экспертом-химиком, третья часть возвращается или хранится в лаборатории для повторного анализа, который проводят в другой лаборатории, если в нем возникает необходимость.

При получении ограниченных количеств вещественных доказательств они могут быть использованы полностью. Об этом указывается в сопроводительном документе к акту экспертизы. Необходимо соблюдать особую бережливость при расходовании дистиллятов, вытяжек и других объектов.

Одновременно эксперт-химик может проводить не более двух химико-токсикологических экспертиз (исследований), но при этом нельзя выполнять одинаковые операции по разным делам. Все операции и процессы, связанные с изолированием, обнаружением и количественным определением ядовитых веществ, выполняются лично экспертом-химиком, и он несет ответственность за правильность проведения всех операций.

Эксперт-химик ведет документ утвержденной формы, где фиксируются основания производства экспертизы, обстоятельства дела, описание вещественных доказательств, ход исследования экспертизы, методики исследования и полученные результаты, выводы. По окончании экспертизы (исследования) оформляет заключение эксперта по утвержденной форме.

7. Получение и направление образцов трупного материала для проведения экспертиз (исследований) в судебно-медицинской лаборатории

Для экспертного исследования получают: образцы для химико-токсикологической, судебно-гистологической, цитологической, судебно-биологической, медико-криминалистической, микробиологической (вирусологической) экспертизы, а также для экспертизы на диатомовый планктон.

При получении образцов для химико-токсикологической экспертизы эксперт следит за тем, чтобы предполагаемый яд не был удален из трупа и не попал в него извне. В этих целях до вскрытия тщательно вымывается секционный стол, инструменты и перчатки.

Части органов помещают в сухие стеклянные банки. Металлическая или керамическая посуда не используется. Банки моются раствором горчицы или соды, тщательно ополаскиваются чистой водопроводной, а затем дистиллированной водой и высушиваются в сушильном шкафу.

Органы водой не обмываются и не загрязняются химическими веществами или механическими примесями. Внутренние органы извлекают после наложения двойных лигатур на пищевод, желудок, кишечник (на расстоянии 1 метра в разных отделах) для предотвращения механического перемещения их содержимого. При подозрении на отравление неизвестным ядом, а также при комбинированных отравлениях необходимо изымать:

- 1) не менее 200 миллилитров крови;
- 2) 1/3 головного мозга;
- 3) 1/4 наиболее полнокровного участка легкого;
- 4) желудок с содержимым;
- 5) не менее 1/3 наиболее полнокровного участка печени, желчный пузырь и его содержимое;
- 6) селезенку;
- 7) одну почку и всю мочу;
- 8) по одному метру тонкой и толстой кишок с содержимым из наиболее измененных отделов;
- 9) матку и влагалище при подозрении на введение яда через влагалище или матку;

10) участок кожи и мышцы из области предполагаемого введения яда при подозрении на его подкожное или внутримышечное введение.

При отравлении яды распределяются в органах и тканях поразному. В зависимости от отравления предполагаемым ядом берут следующий трупный материал:

1) алкалоидами (опием, морфином, стрихнином, атропином, кокаином, анабазином, пахикарпином, аконитином, другими алкалоидами) - кровь, мочу, ткань мышцы, головной и спинной мозг, лёгкие, желудок с содержимым, печень с желчным пузырем, почку, селезенку, тонкую и толстую кишки с содержимым. При подозрении на отравление хинином - дополнительно матку;

2) барбитуратами и снотворными небарбитурового ряда - кровь, мочу, головной мозг, желудок с содержимым, печень с желчным пузырем, почку, тонкую кишку с содержимым;

3) гликозидами - печень с желчным пузырем, верхние отделы тонкого кишечника, кровь, почку, сердце, ткани из места инъекции (обязательной консервацией этиловым спиртом 96%); на исследование должна быть направлена контрольная проба того же спирта, равная количеству, которое было использовано для консервирования;

4) кислотами и едкими щелочами - глотку, трахею, пищевод, желудок с содержимым, почку, кишечник, участки кожи со следами действия яда;

5) "летучими" ядами (нитробензолом, анилином, бензолом и другими) - кровь (не менее 200 миллилитров), моча, мозг, лёгкое, желудок с содержимым, печень с желчным пузырем, почку, верхний отдел тонкой кишки с содержимым;

6) "металлическими" ядами - желудок с содержимым, печень, селезенку, почку, мочу, тонкую и толстую кишки с содержимым, и дополнительно: при подозрении на хроническое отравление соединениями свинца - плоские кости; при подозрении на хроническое отравление соединениями таллия - плоские кости и волосы; при подозрении на хроническое отравление соединениями мышьяка - волосы, ногти и плоские кости; при подозрении на отравление тетраэтилсвинцом - мозг и легкие;

7) метиловым и другими (кроме этилового) спиртами - кровь, стекловидное тело, спинномозговую жидкость, головной мозг, желудок с содержимым, печень с желчным пузырем, почку и мочу;

8) нитритами - кровь, моча, содержимое желудка и кишок. Объекты, направляемые для исследования на наличие нитритов этиловым спиртом не консервируются;

9) окисью углерода и другими газами - кровь (около 20 миллилитров);

10) психотропными веществами (аминазином, элениумом, седуксеном и другие) - кровь, мочу, печень, почку, желудок с содержимым, тонкую и толстую кишки с содержимым, если объект консервирован этиловым спиртом, то на исследование направляется контрольная проба того же спирта, равная количеству, которое было использовано для консервирования;

11) синильной кислотой и ее солями - кровь (не менее 200 миллилитров), мозг, желудок с содержимым, печень с желчным пузырем, почку и мочу;

12) фенолами, крезолами - мочу, головной мозг, желудок с содержимым, тонкую и толстую кишки с содержимым, почку, кровь;

13) формальдегидом (формалином) — головной мозг, печень, желудок с содержимым, двенадцатиперстную кишку, часть тощей кишки с содержимым, почку, мочу;

14) фосфорорганическими и карбаматными пестицидами - печень, почку, желудок, кишечник, кровь, мочу; при ингаляционном поступлении фосфорорганических соединений дополнительно изымают мозг и лешше;

15) фторидами - желудок с содержимым, тонкую и толстую кишки с содержимым, печень с желчным пузырем;

16) хлорорганическими углеводородами и хлорорганическими пестицидами - мозг, сальник, желудок с содержимым, тонкую кишку с содержимым, легкие, печень с желчным пузырем, почку;

17) этиловым спиртом - кровь и мочу в количестве не менее 5 миллилитров. При невозможности награвить кровь, мочу на этиловый спирт берут мышечную ткань (около 100 грамм). Транспортировка биологических объектов должна осуществляться при условиях препятствующих развитию гнилостных изменений. Кровь берут пипеткой или шприцем из исругнных вен конечностей или синусов твердой мозговой оболочки.

Образцы (объекты) исследования консервируют только при подозрении на отравление сердечными гликозидами, производными

фенотиазина, фосфорорганическими пестицидами, алкалоидами и три циклическими антидепрессантами. Для фиксации используют спирт-ректификат, с уровнем над внутренними органами в банках не менее 10 миллиметров. Одновременно с образцами (объектами) исследования направляют контрольную пробу спирта из той же партии в количестве 250-300 миллилитров.

Банки с образцами герметически закрывают притертыми стеклянными пробками (в порядке исключения - полиэтиленовыми крышками), обертывают чистой бумагой, обвязывают шпагатом или прочной ниткой и печатают так, чтобы их нельзя было открыть без нарушения печати.

На каждую банку наклеивают этикетку, соответствующую утвержденной типовой форме, и делают на ней все необходимые записи.

Получение образцов для исследования на диатомовый планктон. Изымают невскрытую почку, на ножку которой накладывают лигатуру; фрагмент бедренной или плечевой кости длиной 10-15 сантиметров.

Объекты помещают в чистые стеклянные банки без фиксирующей жидкости. Опечатанные банки с образцами (объектами) исследования немедленно пересылают в химико-токсикологическую лабораторию органа судебно-медицинской экспертизы.

Пользоваться водой запрещается.

<8. Документация химико-токсикологической лаборатории

И химико-токсикологической лаборатории ведется следующая документация:

- 1) Журнал регистрации экспертиз, или исследований, а также сведения о поступивших материалах.
- 2) Журнал учета и расхода этилового спирта и других наименований, подлежащих количественному учету.
- 3) Рабочий журнал эксперта с подробным описанием проводимых исследований, условий работы используемых приборов, приведением подробных расчетов и результатов.

Все журналы отделения должны быть пронумерованы, прошнурованы, опечатаны, подписаны первым руководителем. По мере использования журналы передаются в архив. Рабочие журналы хранятся в архиве 3 года, заключения экспертов - 25 лет. Вся документация должна храниться в сейфах или в запирающихся шкафах, которые опечатываются после работы.

Исполненные документы в лаборатории с пронумерованными листами прошнуровываются, опечатываются печатью и подписываются руководителем учреждения. Использованные документы сдаются под расписку в канцелярию учреждения.

Глава 3.

ОТРАВЛЕНИЯ И НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ГОКСИКОКИНЕТИКИ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ

В настоящее время число известных человеку природных и полученных синтетическим путем химических соединений превысило 10 млн. В дальнейшем возможен прирост веществ до 1 млн в течение каждого десятилетия. В интенсивном использовании находится не менее 70 тыс. соединений, из которых более 50 тыс. представляют потенциальную опасность для жизни людей. Эти соединения при поступлении в организм в высоких дозах, при изменении реактивности организма и т. д., могут нарушать жизненно важные функции организма, вызывать патологические изменения, а в ряде случаев и смерть. Комплекс патологических изменений, возникающих в организме под влиянием химических или других веществ, называется *отравлением*, или *интоксикацией*, а вещества, вызывающие отравления, называются *ядами*. Отравлениями обычно называют интоксикации, вызванные так называемыми «экзогенными» ядами, т.е. токсическими веществами, поступившими извне.

Отравления химической этиологии, связанные с угрозой жизнедеятельности людей изучает судебная токсикология являющаяся отраслью судебной медицины. Она изучает отравления, возникающие в результате применения ядов с целью убийства или самоубийства, а также интоксикации, являющиеся следствием несчастных случаев. Судебная токсикология направлена на осуществление задач правосудия и здравоохранения. Она дает научное обоснование методов экспертизы смертельных и не смертельных отравлений.

Для решения задач, стоящих перед судебной токсикологией, большое значение имеет токсикологическая химия, изучающая исследования различных ядовитых веществ, являющихся причиной отравлений. Успешному решению данного вопроса может способствовать знание закономерностей токсикокинетики ядовитых веществ, которое позволяет правильно произвести отбор органов и биологических жидкостей, подлежащих химико-токсикологическому исследованию, правильно оценить результаты химико-токсикологического анализа нативных соединений и их

метаболитов, решать ряд других важных вопросов, связанных с установлением причины отравления.

Отравления как заболевания химической этиологии, т.е. вызванные химическими агентами, поступившими извне, происходят в различных условиях: на производстве, в быту, при лечении заболеваний и т.д. Для установления точного диагноза и назначения способов лечения отравлений необходимо как можно быстрее определить характер отравления и причину, вызвавшую его.

1. Классификация отравлений

В основе классификации отравлений лежат три ведущих принципа: этиопатогенетический, клинический и нозологический.

I. *Этиопатогенетический принцип классификации подразделяет отравления:*

- а) по причине развития — на случайные и преднамеренные;
- б) по условиям (месту) развития — на производственные, бытовые и ятрогенные (лекарственные);
- в) по пути поступления яда — на пероральные (через рот), ингаляционные (через дыхательные пути) и перкутанные (накожные).

II. Клинический принцип классификации выделяет отравления:

- а) по особенностям клинического течения;
- б) по тяжести заболевания;
- в) по наличию осложнений;
- г) по исходу заболеваний и т.д.

III. Нозологический принцип классификаций характеризует отравления по названиям отдельных ядов, их групп или классов. Например: отравление метанолом, угарным газом, мышьяком и т.д. или групп веществ (например, отравление снотворными средствами, кислотами, щелочами и т.д.).

Случайные отравления развиваются независимо от воли пострадавшего по различным причинам:

- вследствие самолечения и передозировки лекарственных средств, например, обезболивающих при болевом синдроме или снотворных при бессоннице;

- в результате ошибочного приема одного лекарства вместо другого;

- при приеме внутрь средства для наружного применения при алкогольной интоксикации;

- при несчастных случаях (взрыв, утечка ядовитого вещества, повреждение тары и т.д.) на химическом производстве, на железнодорожном транспорте при перевозках опасных грузов, в быту, например при пожаре или при применении пищевых добавок.

Среди случайных отравлений значительное место занимают бытовые отравления. В настоящее время около 60 тыс. химикатов различного состава и назначения используется в быту. Только пищевых добавок (БАД) применяется около 5500 наименований. В эту группу входят консерванты, антиокислители, красители, текстураторы, усилители вкуса, рыхлители и др. Наибольшее число случайных отравлений в быту приходится на уксусную эссенцию, алкоголь и его суррогаты, этиленгликоль и др.

Преднамеренные отравления связаны с осознанным применением токсического вещества с целью самоубийства (суицидальные отравления) или убийства (криминальные отравления). В последнем случае возможны и несмертельные отравления вследствие применения ядов для создания у потерпевшего беспомощного состояния (в целях ограбления, изнасилования и т.д.).

Суицидальные отравления могут носить демонстративный характер, когда пострадавший на самом деле не преследовал цели самоубийства, а лишь симулировал его. Известно, что 10—15 % всех суицидальных отравлений совершают психически больные люди. Такие отравления представляют собой сложную социально-психиатрическую проблему во всем мире.

«Полицейские» отравления связаны с применением токсических веществ (например, слезоточивого газа) для разгона демонстраций, а в военных целях — с применением боевых отравляющих веществ в качестве химического оружия.

Отравления различаются по конкретным условиям (месту) их возникновения.

Производственные (профессиональные) отравления могут иметь место на различных химических предприятиях, в которых вырабатываются, используются или исследуются вредные вещества.

Воздействию ядовитых веществ подвергаются лица, работающие с ними. В результате нарушения правил техники безопасности, а также при технических авариях, разрушении емкостей, в которых хранятся или транспортируются токсичные вещества, персонал может получить хронические и острые отравления.

Ятрогенные, или лекарственные, отравления возникают в медицинских учреждениях при ошибке медицинского персонала в дозировке, виде или способе введения лекарственных средств.

Идентификация отравлений по пути поступления химического вещества в организм во многом определяет меры первой помощи при данном конкретном отравлении. Среди бытовых отравлений широко распространены нероральные, которые связаны с поступлением ядов через рот. К этой категории относится большая группа пищевых отравлений, когда яд попадает в организм вместе с пищей. Среди производственных отравлений чаще встречаются ингаляционные, наступающие при вдыхании токсичных веществ, которые находятся в окружающем воздухе. Кроме того, встречаются перкутанные (накожные) отравления при проникновении токсичных веществ через незащищенные кожные покровы. Инъекционные отравления наблюдаются при парентеральном введении яда, например при укусах змей и насекомых. Полостные отравления происходят при попадании яда в различные полости организма: прямую кишку, влагалище, наружный слуховой проход.

Классификация отравлений по клиническому принципу предусматривает, прежде всего, учет особенностей их клинического течения. *Острые отравления* развиваются при одномоментном (разовом) поступлении в организм токсической дозы вещества и характеризуются внезапным началом и выраженными специфическими симптомами. Они могут заканчиваться смертельным исходом в течение нескольких минут (синильная кислота и ее соли), часов или менее суток. Продолжительность острого воздействия ингаляционных ядов может длиться 1-4 ч. В большинстве случаев острые отравления являются случайными. Острые отравления можно рассматривать как «химическую травму», развивающуюся вследствие попадания в организм токсической дозы чужеродного вещества - ксенобиотика. Ответная реакция организма связана со специфическим воздействием на

организм ядовитого вещества и относится к токсикогенному эффекту «химической травмы». Этот эффект носит характер патогенной реакции и наиболее ярко проявляется в первой клинической стадии острых отравлений — токсикогенной, когда токсический агент находится в организме в дозе, способной вызвать специфическое действие. Второй этап клинической стадии острых отравлений называется соматогенной, которая наступает после удаления или разрушения токсического агента в виде осложнений, проявляющихся в поражении структуры и функций различных органов и систем организма. Таким образом, общий токсический эффект есть результат специфического токсического действия ядовитого вещества и неспецифических реакций организма — соматогенного действия.

Хронические отравления обусловлены длительным, часто прерывистым, поступлением ядов в малых (субтоксических) дозах. Заболевание начинается с появления малоспецифических симптомов, связанных с первичным нарушением функций преимущественно нервной и эндокринной систем. Выделяют и более редкие по своей распространенности подострые отравления, когда при однократном поступлении яда в организм клиническое развитие отравления протекает очень замедленно и вызывает продолжительное расстройство здоровья. Этот вид отравлений обычно рассматривают вместе с острыми отравлениями, которые близки к ним по патогенезу и симптоматике.

По степени тяжести отравления подразделяются на легкие, средней тяжести, крайне тяжелые и смертельные, которые прямо зависят от выраженности клинической симптоматики и в меньшей степени от величины поступившей дозы. Известно, что развитие осложнений (пневмония, острая почечная или печеночная недостаточность и т.д.) значительно ухудшает прогноз любого заболевания, поэтому осложненные отравления обычно относятся к категории тяжелых.

Нозологические формы отравлений основаны на воздействии конкретных химических веществ (например, отравление метанолом, угарным газом, мышьяком и т.д.) или групп веществ (например, отравление снотворными средствами, кислотами, щелочами и т.д.).

Иногда пользуются наименованиями целого класса веществ, объединенных общностью их применения (отравление

ядохимикатами, лекарственными веществами и т.д.) или происхождения (отравление растительными, животными и синтетическими ядами). В этих случаях используется не нозологическая, а видовая классификация отравлений, необходимая для систематизации многочисленных нозологических форм заболеваний химической этиологии (химического происхождения).

2. Виды и характеристики отравления

Количество химических соединений, используемых в настоящее время в народном хозяйстве, и в быту, настолько велико, а характер их токсикологического действия настолько разнообразен, что невозможно привести в единую характеристику отравлений, вызываемых ядовитыми веществами.

В зависимости от локализации патологического процесса отравления может быть местной и общей.

Местной называются отравления, при которой патологический процесс развивается непосредственно на месте аппликации яда. Возможно местное поражение глаз, участков кожи, дыхательных путей и легких, различных областей желудочно-кишечного тракта. Местное действие может проявляться альтерацией тканей (формирование воспалительно-некротических изменений - действие кислот и щелочей на кожные покровы и слизистые; ипритов, люизита на глаза, кожу, слизистые желудочно-кишечного тракта, легкие и т.д.) и функциональными реакциями (без морфологических изменений - сужение зрачка при действии фосфорорганических соединений на орган зрения).

Общей называется интоксикация, при которой в патологический процесс вовлекаются многие органы и системы организма, в том числе удаленные от места аппликации токсиканта. Причинами общей интоксикации, как правило, являются: резорбция токсиканта во внутренние среды, резорбция продуктов распада пораженных покровных тканей, рефлекторные механизмы.

Если какой-либо орган или система имеют низкий порог чувствительности к токсиканту, в сравнении с другими органами, то при определенных дозовых воздействиях возможно избирательное поражение этого органа или системы. Вещества, к которым порог чувствительности того или иного органа или системы значительно

ниже, чем других органов, иногда обозначают как избирательно действующие. В этой связи используют такие термины как: нейротоксиканты (например, психотомиметики), нефротоксиканты (например, соли ртути), гепатотоксиканты (например, четыреххлористый углерод), гематотоксиканты (например, мышьяковистый водород), пульмонотоксиканты (например, фосген) и т.д. Такое действие развивается крайне редко, как правило, при интоксикациях чрезвычайно токсичными веществами (например, ботулотоксином, тегродотоксином, аманитином). Чаще общее действие ксенобиотика сопровождается развитием патологических процессов со стороны нескольких органов и систем (например, хроническое отравление мышьяком - поражение периферической нервной системы, кожи, легких, системы крови).

В большинстве случаев интоксикация носит смешанный, как местный, так и общий характер.

В зависимости от интенсивности воздействия токсиканта (характеристика, определяющаяся дозо-временными особенностями действия) интоксикация может быть тяжелой, средней степени тяжести, и легкой.

Тяжелая интоксикация - угрожающее жизни состояние. Крайняя форма тяжелой интоксикации - смертельное отравление.

Интоксикация средней степени тяжести - интоксикация, при которой возможны длительное течение, развитие осложнений, необратимые повреждения органов и систем, приводящее к инвалидизации или обезображиванию пострадавшего (химический ожог кожи лица).

Легкая интоксикация - заканчивается полным выздоровлением в течение нескольких суток.

Периоды интоксикации. Как правило в течении любой интоксикации можно выделить четыре основных периода: период контакта с веществом, скрытый период, период разгара заболевания, период выздоровления. Иногда особо выделяют период осложнений. Выраженность и продолжительность каждого из периодов зависит от вида и свойств вещества, вызвавшего интоксикацию, его дозы и условий взаимодействия с организмом.

При остром воздействии многих веществ (альдегиды, кетоны, галогены и т.д.) происходят раздражения слизистой дыхательных путей, глаз, кожи.

При действии наркотических средств, многих лекарств, органических растворителей, пищевых продуктов (спирт) в малых дозах проявляется их седативно-гипнотическое действие (опьянение). Увеличение поступающей дозы токсиканта в организм приводит к превращению реакции в отравление: опьянение перерастает в кому; явление раздражения - в воспалительный процесс и т.д. Описание приведенных клинических характеристик интоксикации может помочь химику-токсикологу выбрать нужное направление исследования с целью установления диагностики отравления.

3. Бытовые отравления - алкоголизм и наркомания

К числу злостных бытовых отравлений относятся алкоголизм и наркомания. Алкоголизм - систематическое неумеренное употребление спиртных напитков в количествах, вызывающих алкогольное опьянение. В результате длительного неумеренного употребления алкоголя возникают ряд патологических изменений в организме алкоголиков (хронический алкоголизм). О широком распространении алкоголизма свидетельствует статистика отравлений, согласно которой основное число среди причин смертельных отравлений в нашей стране занимает этиловый спирт (по данным АФ ЦСМ до 70,0%). Важной социальной проблемой является наркомания, возникающая в результате систематического употребления наркотиков. При наркомании появляется труднопреодолимое влечение к постоянному приему возрастающих количеств наркотических средств.

Для определения понятия «наркомания» необходимо остановиться в определении термина наркотическое средство (наркотик). Термин «наркотическое средство» трактуется не только с фармакологической точки зрения, учитывая его действие на организм, но и содержит в себе три критерия: медицинский, социальный и юридический.

Отрицательные медицинские последствия, связанные со злоупотреблением наркотиками, проявляются в глубоких расстройствах психики наркоманов, одряхлении организма, подавлении умственной способности, нарушении функций внутренних органов и т. д.

Отрицательные социальные последствия наркомании проявляются в снижении трудоспособности наркоманов, распаде семьи, совершении преступлений и т. д. Таким образом, немедицинское применение наркотиков представляет опасность не только для самих наркоманов, но и для других членов общества

Вещества, злоупотребление которыми имеет отрицательные медицинские и социальные последствия, относятся к наркотикам только тогда, когда они соответствующими государственными органами юридически признаны наркотиками и включены в список наркотиков. Отсутствие хотя бы одного из указанных выше трех критериев не позволяет отнести соответствующее вещество к наркотикам. Исходя из определения термина «наркотическое средство», можно дать определение терминов «наркомания» и «токсикомания».

Наркомания - болезнь, возникающая в результате немедицинского употребления лекарственных или других средств, отнесенных в установленном порядке к наркотическим.

Токсикомания - болезнь, вызванная злоупотреблением некоторыми веществами или лекарственными средствами, которые не входят в список наркотиков, но систематическое применение которых имеет отрицательное медицинское и социальное значение. Причиной токсикомании может быть злоупотребление не только лекарственными средствами, но и рядом химических веществ, не являющихся лекарственными средствами (технические жидкости, предметы бытовой химии, части растений и т. д.).

4. Пути поступления ядов в организм

Яды могут поступать в организм различными путями: через рот, дыхательные пути, кожу, слизистые оболочки, плаценту и др.

Поступление ядов в организм через рот. Статистика показывает, что наибольшее число отравлений происходит в результате поступления ядов в организм через рот. Этот путь проникновения ядов в организм характерен для большинства пищевых и бытовых отравлений. При пищевых отравлениях яды поступают через рот вместе с пищей

Яды, поступившие в организм через рот, могут всасываться как во рту, так и в соответствующих отделах пищевого канала.

Вещества, всасывающиеся в кровь из слизистой оболочки полости рта, не подвергаются воздействию желудочного и кишечного соков. Они не поступают непосредственно в печень, как это происходит после всасывания их из желудка и кишок. Слизистой оболочкой рта всасываются цианиды, никотин, фенол, нитроглицерин и другие вещества. Этиловый спирт и спиртовые растворы некоторых веществ также могут проникать в организм через слизистую оболочку полости рта.

Значительно большее число ядовитых веществ, поступивших в организм через рот всасывается в желудке и тонкой кишке. Скорость всасывания веществ, поступивших в пищевой канал, зависит от их физических и химических свойств, рН, содержимого желудка и кишок. Ядовитые вещества кислотного и основного характера всасываются в пищевом канале в виде недиссоциированных молекул.

рН желудочного сока приблизительно равен единице. При этом значении рН подавляется диссоциация поступивших в желудок кислот, в результате этого вещества кислотного характера находятся в виде недиссоциированных молекул, которые хорошо всасываются в желудке. К таким веществам относятся барбитураты, которые под влиянием кислой среды желудочного сока переходят в кислотную форму, практически не диссоциирующую при рН 1,0. В желудке также всасываются молекулы многих других недиссоциированных веществ, а также липофильные вещества.

Органические вещества основного характера (алкалоиды, их синтетические аналоги и многие амины) под влиянием кислой среды желудочного сока превращаются в хорошо диссоциирующие соли. Поэтому органические вещества основного характера не всасываются в желудке.

Содержимое тонкой кишки имеет рН 5,07 - 7,07. При этом значении рН большинство алкалоидов, их синтетические аналоги и другие вещества основного характера находятся в виде недиссоциированных молекул, которые хорошо всасываются в тонкой кишке. Кроме того, в тонкой кишке, как и в желудке, всасываются линидорасгворимые вещества.

Поступление ядов через дыхательные пути (ингаляционный путь). Через дыхательные пути в организм могут проникать ядовитые вещества, находящиеся в окружающем воздухе в виде

газов, паров или пыли. Отравления путем вдыхания указанных веществ могут происходить главным образом в недостаточно вентилируемых производственных помещениях. Отравления оксидом углерода (II) и другими веществами, поступающими в организм через дыхательные пути, могут быть и в быту.

При ингаляционном поступлении ядов в организм они быстро проникают в кровь. Это объясняется большой поверхностью легочных альвеол, через которые всасываются ядовитые вещества, незначительной толщиной альвеолярных мембран, интенсивным током крови в легочных капиллярах.

Некоторые летучие вещества начинают всасываться уже в верхних дыхательных путях. Однако большинство таких веществ наиболее полно всасывается в легких. Проникновение летучих веществ в организм происходит по законам диффузии. Через дыхательные пути поступают в организм пары хлорпроизводных углеводородов, спиртов, летучих соединений серы, азота, фосфора, мышьяка, сероуглерода, синильной кислоты, ацетона, бензина, диэтилового эфира, формальдегида и др.

Проникновение в организм ядов через кожу. Кожа является одним из возможных путей поступления ядов в организм. Через эпидермис проникают только растворимые в липидах вещества. Водорастворимые вещества проникают через кожу только в незначительных количествах. Проникновению водорастворимых веществ в организм препятствует жировой слой, образующийся на поверхности кожи в результате секреторной деятельности сальных желез. Через кожу легко проникают никотин, аконитин, тетраэтилсвинец, хлорпроизводные углеводородов, хлорсодержащие ядохимикаты, ароматические амины, углеводороды жирного ряда (от С₆ до С₁₀), мелкоизмельченные соли таллия, ртути и других металлов. При механическом повреждении кожи (ожоги, раны) увеличивается проникновение ядовитых веществ через кожу.

Парентеральное поступление ядов в организм. При парентеральном введении ядов (путем инъекций под кожу, в мышцы, вену, серозные полости и т. д.) они минуя пищевой канал и поступают в кровь. Статистика показывает, что такие отравления встречаются редко.

Поступление ядов в организм через плаценту. Этим путем могут поступать токсичные вещества от матери к плоду. Описаны случаи отравления плода этиловым спиртом, хлорсодержащими ядохимикатами, солями тяжелых металлов и др.

Ядовитые вещества могут также поступать в организм через влагалище, прямую кишку и некоторыми другими путями.

5. Всасывание ядов в организме

Токсичные вещества из внешней среды поступают в циркулирующую кровь и лимфу. С их током они переносятся в интерстициальную (межклеточную) жидкость, а затем в клетки. Таким образом, распространение в организме поступивших ядов обеспечивается системой крово- и лимфообращения. Кроме кровообращения, распределение ядов по отдельным органам и тканям зависит от их связывания с белками плазмы и органов, растворимости в липидах, степени ионизации и других факторов.

Всасывание лекарственных средств и ядов из пищевого канала, легких и других мест их поступления в организм происходит через систему клеточных мембран. Однако не всякое поступившее в кровь вещество может легко проникать в любую клетку. Свободному проникновению ядов в клетки препятствуют покрывающие их мембраны, пропускающие внутрь клеток питательные и некоторые другие вещества. Продукты обмена этих веществ мембраны пропускают из клеток наружу. Учитывая большую роль клеточных мембран, изучению их структуры и функций уделяется большое внимание. Предложено несколько гипотез о структуре мембран. В настоящее время за основу принимается гипотеза элементарной мембраны, согласно которой мембрана состоит из белков и липидов. К липидам относятся жиры и воски (сложные эфиры жирных кислот с длинной углеродной цепью и высокомолекулярных одноатомных спиртов). Не растворимые в воде, но растворимые в органических растворителях молекулы мембранных липидов на одном конце содержат полярные группы (например, —COOH), обладающие гидрофильными свойствами, а на другом - длинные углеводородные цепи, обладающие гидрофобными свойствами. Согласно литературным данным, мембрана состоит из двойного слоя смешанных полярных липидов.

В двойном слое липидов углеводородные цепи обращены внутрь и образуют непрерывную углеводородную фазу, а гидрофильные группы липидов направлены наружу. Каждая поверхность двойного слоя липидов покрыта мономолекулярным слоем белка. На поверхности мембраны находятся олигосахариды, полимеры, различные моносахариды и др.

Белки и липиды, содержащиеся в клеточных мембранах, но своему составу могут быть различными. Для каждого типа мембран характерно определенное молярное соотношение специфических полярных липидов.

В клеточных мембранах имеются ультрамикроскопические щели (поры, каналы). Мембраны и образовавшиеся в них поры могут иметь определенные электрические заряды. Известно несколько механизмов переноса лекарственных и ядовитых веществ через мембраны в клетки.

Первый тип мембран. Мембраны первого типа препятствуют пропусканию ионов и пропускают нейтральные молекулы в зависимости от их липофильных свойств. Коэффициент распределения большинства мало ионизированных соединений в системе масло/вода или хлороформ/вода хорошо соответствует скорости проникновения их через мембраны.

Через мембраны первого типа вещества в клетки проникают по законам диффузии. Следовательно переход вещества в клетку через мембрану происходит тогда, когда концентрация его в клетке меньше, чем концентрация этого вещества в окружающей клетку жидкости. Этот переход происходит до тех пор, пока концентрация вещества по обе стороны мембраны не достигнет равновесия. Через мембраны первого типа переносятся в клетки липофильные вещества и малые молекулы неполярных соединений. Такими веществами являются этиловый спирт, ацетон, фенол и его производные, бензол, толуол, нитробензол, ароматические амины, хлороформ, дихлорэтан, четыреххлористый углерод, синильная кислота, сероуглерод, газообразные соединения, содержащие хлор, серу, азот, фосфор, мышьяк и др.

Путем диффузии в клетки переносятся и вещества, имеющие более крупные молекулы (белки и другие соединения). Они проникают в клетки через крупные поры в мембранах или путем пиноцитоза. При пиноцитозе мембрана образует выпячивание и как

бы полностью обволакивает крупную молекулу, которая в виде пузырька переносится через мембрану внутрь клетки. Затем токсикант высвобождается от оболочки, проникает в протоплазму и всасывается.

Мембраны второго типа. Для большинства полярных молекул и некоторых ионов клеточные мембраны непроницаемы. Однако некоторые из них проникают в клетки через клеточные мембраны в виде комплексов. Эти комплексы образуются при взаимодействии молекул соответствующих веществ с молекулами переносчика (транспортной системы), входящего в состав мембраны. Переносчиками могут быть ферменты, некоторые специфические белковые компоненты мембран и другие вещества. Образующиеся комплексы растворяются в мембранах и легко диффундируют через них в клетку. Проникнув в клетку, эти комплексы расщепляются, и при этом освобождается полярное вещество. В частности, таким путем проникает глюкоза в эритроциты крови человека

Мембраны третьего типа. Через эти мембраны осуществляется активный перенос, состоящий в том, что молекулы или ионы транспортируемого вещества переходят из среды с меньшей концентрацией в среду с большей концентрацией. При активном переносе молекула или ион вещества, которые должны проникнуть в клетку, лабильно соединяются с переносчиком подобно тому, как это происходит в мембранах второго типа. Однако здесь переносчик претерпевает химическое превращение, для осуществления которого требуется определенная энергия. В результате химической реакции по одну сторону мембраны переносчик видоизменяется и приобретает определенное сродство к веществу или иону, подлежащему переносу. Затем видоизмененный переносчик присоединяет к себе молекулы или ионы веществ, подлежащих переносу. Образовавшиеся при этом комплексы проходят через мембрану. Затем внутри клетки комплексы распадаются и освобождаются переносимые ими вещества или ионы, а переносчик переходит наружу через мембрану в свободном состоянии или в виде комплекса с другим веществом.

Системы активного переноса характеризуются строгой специфичностью. Они переносят растворенное вещество только в одном направлении (в клетку или из клетки). Рассмотрим процесс активного переноса на примере проникновения ионов калия в

эритроциты. Известно, что концентрация ионов калия внутри эритроцитов примерно в 35 раз выше, чем в плазме крови. Чтобы поддерживалась надлежащая концентрация ионов калия в эритроцитах, эти ионы должны переходить из плазмы в эритроциты (т.е. из среды с меньшей концентрацией в среду с большей концентрацией). Этот переход осуществляется только при определенной затрате энергии, источником которой может быть реакция гидролиза АТФ (аденозинтрифосфата). Под влиянием выделившейся энергии носитель претерпевает химические изменения и взаимодействует с ионами калия. Переход ионов калия в эритроциты приостанавливается тогда, когда поток ионов внутрь клетки будет уравновешен «утечкой» части ионов наружу, через мембрану по механизму обычной диффузии.

Мембраны четвертого типа. Мембраны этого типа отличаются от мембран предыдущих типов мозаичным строением. Они состоят из липидных цилиндров и белковых ячеек. Мембраны четвертого типа имеют поры, через которые свободно проникают молекулы воды и анионы небольшого размера. Эти мембраны не пропускают катионы, поскольку в их порах имеются положительно заряженные ионы, которые отталкивают катионы. В этих мембранах также имеются норы, через которые проникают молекулы некоторых неэлектролитов. С увеличением размеров молекул неэлектролитов уменьшается способность пропускания их через норы мембран четвертого типа. Как указано выше, крупные молекулы неэлектролитов способны проникать в клетки через мембраны первого типа.

В гистогематических барьерах имеются мембраны всех перечисленных выше типов, в том числе и мембраны типа мозаики, для каждого участка которых характерен определенный механизм проницаемости.

Основными компонентами мембран являются структурные белки и фосфолипиды, а специфика этих мембран зависит от наличия в них мукополисахаридов, липидов (холестерина, кардиолипина) и набора различных ферментов.

Действие токсических веществ, вступивших в контакт с клетками организма проявляется при их взаимодействии с рецепторами.

Рецепторы. Химические вещества (фармацевтические препараты, ядовитые вещества), поступившие в организм, оказывают определенное действие только тогда, когда они вступают во взаимодействие с соответствующими, содержащимися в клетках, реакционно-способными структурами, которые называются рецепторами. Рецепторами могут быть воспринимающие раздражения нервные окончания или специализированные нервные клетки, реагирующие на определенные изменения в окружающей среде. Изучены рецепторы, которые приспособлены к восприятию раздражений, поступающих из внешней среды (рецепторы, воспринимающие болевые раздражения, холод, тепло, звуковые и световые колебания и др.). Эти рецепторы изучаются в курсах физиологии и других дисциплин. Ниже мы остановимся только на таких рецепторах, с помощью которых осуществляются реакции организма на действие химических веществ. Токсическое действие ядовитых веществ зависит от наличия в биологических структурах рецепторов, представляющих собой группы атомов или молекул, способных взаимодействовать с ядовитыми веществами, поступившими в организм. Функции рецепторов могут выполнять сульфгидрильные, гидроксильные, карбоксильные, аминные и фосфорсодержащие группы белковых и других жизненно важных соединений в организме. Свойствами рецепторов также могут обладать некоторые аминокислоты, нуклеиновые кислоты, ферменты, витамины, гормоны и ряд других веществ.

В зависимости от химического строения и свойств ядовитых веществ и соответствующих им рецепторов, прочность химической связи между ними может быть различной. Взаимодействие рецепторов с ядовитыми веществами может осуществляться за счет образования ковалентных, ионных, ион-дипольных и водородных связей, а также за счет сил Ван-дер-Ваальса. Из этих связей наиболее прочными являются ковалентные связи. Непрочными являются ионные связи, затем водородные, а менее прочными являются связи, обусловленные силами Ван-дер-Ваальса.

Ниже приведены примеры взаимодействия некоторых рецепторов с ядовитыми веществами. Отравления солями тяжелых металлов и другими неорганическими веществами обусловлены связыванием катионов указанных соединений с сульфгидрильными

группами (рецепторами), содержащимися в молекулах белков. Связь между катионами некоторых металлов и сульфгидрильными группами является довольно прочной (ковалентной). Сульфгидрильные группы белковых веществ особенно прочно связываются с ионами мышьяка, сурьмы, ртути, висмута. При отравлении соединениями этих металлов в качестве противоядия применяют унитиол, который содержит сульфгидрильные группы, связывающие ионы металлов, ранее блокировавших сульфгидрильные группы белков.

Отравления фосфорорганическими соединениями, к числу которых относится достаточно большая группа ядохимикатов, объясняются связыванием этих веществ с оксигруппой серина, входящего в состав фермента ацетилхолинэстеразы, являющейся одним из видов холинэстеразы. Ацетилхолинэстераза расщепляет ацетилхолин на холин и уксусную кислоту. В результате блокирования ацетилхолинэстеразы некоторыми фосфорорганическими и другими веществами, происходит накопление в организме ацетилхолина в токсических дозах и наступает отравление.

В ряде случаев рецепторами могут быть специфические участки клеток определенных органов. Некоторые вещества, вызывающие состояние наркоза, влияют не на отдельные функциональные группы в молекулах белковых веществ или липидов, а на всю клетку.

Представляет интерес так называемая избирательная токсичность. Под этим термином понимают способность некоторых токсических веществ селективно повреждать определенные клетки, не затрагивая при этом других клеток, даже если оба вида этих клеток находятся в непосредственном контакте друг с другом.

В зависимости от прочности связей между рецепторами и ядами для изолирования последних из биологического материала при химико-токсикологическом анализе применяются различные методы. Для изолирования «металлических ядов» связанных в биологическом материале с рецепторами ковалентными связями, применяются методы разрушения органических веществ нагреванием исследуемых объектов с некоторыми кислотами, проявляющими окислительные свойства. Для изолирования ядов, связанных с рецепторами ионными и другими менее прочными

связями, применяются методы настаивания биологического материала с водой или же с растворами кислот в воде и этиловом спирте.

6. Распределение ядов в организме

Поступившие в кровь ядовитые вещества разносятся по всему организму. В каждом органе количество циркулирующей крови и содержащегося в ней яда зависит от кровоснабжения этого органа. Через сердце, легкие, мозг и печень протекает значительно больше крови и соответственно содержащихся в них ядовитые вещества больше, чем в других органах.

Ядовитые вещества из кровеносных капилляров поступают во внеклеточное пространство, а затем через мембраны проникают в клетки.

Большинство токсических веществ в различных органах и тканях распределяется неравномерно. Распределение веществ в организме зависит от их физических и химических свойств: от растворимости в воде, жирах и других липидах, диссоциации, состава и функциональных особенностей органов и тканей. Хорошо растворимые в липидах токсические вещества (анестетики, снотворные, седативные вещества, хлорсодержащие органические инсектициды и др.), хорошо проникающие через биологические мембраны, быстро и селективно распределяются в богатых липидами, хорошо снабжаемых кровью органах и тканях (в основном в головном и костном мозгу).

Неэлектролиты накапливаются преимущественно в тканях, сорбционная емкость которых наибольшая для данных веществ. Так, при хлороформном наркозе в продолговатом и спинном мозгу содержится хлороформа на 50% больше, чем в головном мозгу. Это объясняется тем, что в головном мозгу находится меньше липидов, чем в продолговатом и спинном мозгу. Растворимые в липидах лекарственные вещества и ядовитые вещества медленно выводятся из организма и медленно превращаются в нем.

Барбитураты, особенно тиobarбитураты короткого действия (тиопентал натрия), вначале поступают в головной мозг, а затем переходят в плазму, из которой поступают в органы и ткани, богатые липидами.

В результате неравномерного распределения ядовитых веществ в организме они могут локализоваться (отлагаться) в соответствующих органах и тканях. Так, в жировой ткани депонируют главным образом жирорастворимые ядовитые вещества (органические растворители, хлорпроизводные углеводов и др.). В костной ткани отлагаются свинец, барий, фтор и др. Антибиотики тетрациклинового ряда обладают сродством к зубной и костной ткани, в которых они накапливаются после поступления в организм. Аминазин (хлорпромазин) локализуется главным образом в головном, а бензол - в костном мозгу. В коже откладываются золото и серебро. Такие элементы, как висмут, ртуть, мышьяк, накапливаются в органах и тканях, богатых белками, содержащими сульфгидрильные или другие реакционно-способные функциональные группы. Ртуть накапливается в почках, вызывая в них некротические изменения.

Ионы кальция и ионы некоторых других элементов связываются с мукополисахаридами и мукопротеидами, содержащихся в межклеточной жидкости. Эта жидкость составляет примерно 20 % массы тела человека. Так, например, у человека массой 70 кг содержится около 14 л межклеточной и около 28 л внутриклеточной жидкости. После распределения в организме многие водорастворимые вещества находятся как в межклеточной, так и во внутриклеточной жидкости.

Места локализации некоторых токсических веществ зависит от характера отравления. При остром отравлении ртуть и мышьяк локализуются в печени и почках, а при хроническом отравлении эти элементы могут откладываться в ногтях, костях и в нервной ткани. При хронических отравлениях мышьяком он может быть обнаружен и в волосах.

Поскольку многие яды распределяются в организме неравномерно, знание их распределения и локализации имеет большое значение для правильного выбора объектов химико-токсикологического анализа.

На химико-токсикологический анализ необходимо брать те органы и ткани, в которых предположительно содержится наибольшее количество исследуемого яда.

7. Связывание ядов в организме

Большинство поступивших в организм лекарственных и ядовитых- веществ с белками, липопротеидами, форменными элементами крови и с другими веществами образуют комплексы или химические соединения. Прочность образовавшихся в организме комплексов или соединений зависит от природы веществ, образующих комплексы, и от типа связей в указанных комплексах или соединениях.

При взаимодействии ядов с белками и с другими веществами, находящимся в организме, между реагирующими соединениями могут образовываться ковалентные, ионные, водородные, ион-дипольные, диполь-дипольные связи. Связывание белковых веществ с ядовитыми веществами может осуществляться и с помощью сил Ван-дер-Ваальса.

Из всех перечисленных выше связей ковалентные являются наиболее прочными. В частности, ковалентные связи имеются в комплексах белковых веществ с ионами металлов, поэтому металлы длительное время задерживаются в организме. Учитывая, что токсическое действие большинства ядов является обратимым, можно предположить, что ковалентные связи между ядовитыми веществами и биологическим материалом, образуется только в некоторых случаях.

Комплексы, образующиеся при взаимодействии ядов с белками и другими веществами организма, обычно не транспортируются через биологические мембраны. Если связывание ядов обратимое, то в организме устанавливается равновесие между связанной и несвязанной формами яда. Из белковых веществ наиболее активно соединяется со многими ядовитыми веществами альбумин, фибриноген, гамма- глобулин и некоторые другие белковые вещества связываются только с незначительным числом ядов. В частности, гамма-глобулин связывается с билирубином.

До настоящего времени хорошо изучены условия образования комплексов белковых веществ с алкалоидами и их аналогами. Эти комплексы образуются при рН выше изоэлектрической точки белков. Изучение комплексов барбитуратов с белками показало, что альбумин активно связывается с барбитуратами, особенно с теми, в молекулах которых содержатся липофильные заместители.

Альбумин образует соединения или комплексы с жирными кислотами. С удлинением углеродной цепи в молекулах жирных кислот прочность связи их с альбумином возрастает.

К числу веществ, которые связываются с альбумином, относятся сульфаниламидные препараты, ароматические кислоты, йодсодержащие соединения (рентгеноконтрастные вещества), основные и кислотные красители, некоторые нейтральные вещества (кумарины, гликозиды, нафтохиноны, порфирины и др.).

Ионы цинка и меди хорошо связываются с бета-глобулином. Металлические яды (катионы металлов) с аминокислотами, пептидами и белками образуют прочные комплексные и внутриклеточные соединения. Стероидные гормоны связываются с липопротеидами, некоторые антибиотики - с нуклеиновыми кислотами, а оксид углерода (II) - с гемоглобином крови. Только незначительное число лекарственных и ядовитых веществ, поступивших в организм, не связывается с альбумином и другими белками. К ним относятся этиловый эфир, глюкоза, мочевины и др.

Наличие связей между ядовитыми веществами и белками (или другими веществами в организме) и их прочность необходимо учитывать при выборе оптимальных условий изолирования ядовитых веществ из биологического материала. При изолировании ядовитых веществ из биологического материала необходимо создавать условия, обеспечивающие разрыв связей между этими веществами и белками (или другими соединениями), и последующее переведение освобожденных веществ в жидкую фазу (вытяжку или минерализат). При изолировании из биологического материала алкалоидов, барбитуратов и других веществ разрушение связей (белок - ядовитое вещество) достигается путем создания необходимого рН экстрагирующей жидкости. Разрыв прочных связей между белками и ионами металлов достигается только после разрушения биологического материала с помощью соответствующих методов минерализации.

8. Выделение ядов из организма

Токсические вещества, поступившие в организм, оказывают определенное действие, а затем выделяются из организма в неизменном виде или в виде метаболитов. Основными путями выведения токсических веществ и их метаболитов из организма

являются почки, печень, легкие, кишечник и др. Некоторые токсические вещества и их метаболиты могут выделяться из организма не одним, а несколькими путями. Практически для этих веществ только один из путей выделения является преобладающим. Это можно показать на примере выделения этилового спирта из организма. Большая часть этилового спирта в организме метаболизируется до ацетальдегида. Около 10% его выделяется из организма в неизменном виде с выдыхаемым воздухом. Небольшие количества этилового спирта выделяются из организма с мочой, калом, слюной, молоком и т. д.

Несколькими путями выделяются из организма и другие токсические вещества. Так, хинин выделяется из организма с мочой и через кожу. Некоторые барбитураты выделяются из организма с мочой и с молоком кормящих матерей.

Почки. Почки являются одним из основных органов, через которые выделяются из организма многие лекарственные и токсические вещества и продукты их метаболизма. Через почки с мочой выделяются из организма хорошо растворимые в воде соединения. Чем меньше молекулярная масса этих соединений, тем легче они выделяются с мочой. Вещества, способные диссоциировать на ионы, лучше выделяются с мочой, чем неионизированные соединения.

На выделение слабых органических кислот и оснований из организма с мочой влияет рН мочи. От рН мочи зависит диссоциация указанных веществ на ионы. Слабые органические основания лучше выделяются с мочой, если она имеет кислую реакцию. К этой группе веществ относятся хинин, амитриптилин, кофеин, теofilлин, ацетанилид, антипирин и др. Органические вещества слабокислого характера (барбитураты, салициловая кислота, некоторые сульфаниламидные препараты, антикоагулянты и др.) лучше переходят в мочу, имеющую более щелочную реакцию, чем плазма крови. Сильные электролиты, хорошо диссоциирующие на ионы, выводятся с мочой независимо от рН среды. Некоторые металлы в виде ионов или комплексов с органическими веществами также выделяются с мочой.

Липофильные вещества почти не выделяются из организма почками. Однако большинство метаболитов этих веществ являются растворимыми в воде и поэтому выделяются из организма с мочой.

Скорость выделения отдельных ядовитых веществ с мочой может уменьшаться вследствие связывания их с белками плазмы.

Печень. Печень играет важную роль в выведении многих токсических веществ из организма. В печени происходит метаболизм большого числа токсических веществ, выделение которых с желчью зависит от размера молекул и молекулярной массы. С увеличением молекулярной массы токсических веществ возрастает скорость выделения их с желчью. Эти вещества выделяются с желчью главным образом в виде конъюгатов. Некоторые конъюгаты подвергаются разложению гидролитическими ферментами желчи.

Желчь, содержащая токсические вещества, поступает в кишечник, из которых эти вещества снова могут всасываться в кровь. Поэтому с калом из организма выводятся только те вещества, которые выделяются с желчью в кишечник и повторно не всасываются в кровь. С калом выделяются и вещества, не всасывающиеся в кровь после перорального введения, т.е. которые выделились слизистой желудка и кишок в полость пищеварительной системы. Этим путем выделяются из организма некоторые тяжелые и щелочноземельные металлы. Токсические вещества и их метаболиты, образовавшиеся в печени и поступившие с желчью в кишечник, а затем снова всосавшиеся в кровь, выделяются почками с мочой.

Легкие. Легкие являются главным органом выведения из организма летучих жидкостей и газообразных веществ, имеющих большую упругость паров при температуре человеческого тела. Эти вещества легко проникают из крови в альвеолы через их мембраны и выделяются из организма с выдыхаемым воздухом. Таким путем выделяются из организма в неизменном виде оксид углерода (II), сероводород, этиловый спирт, диэтиловый эфир, ацетон, бензол, бензин, некоторые хлорирующие углеводородов, а также летучие метаболиты некоторых ядовитых веществ (бензола, четыреххлористого углерода, метилового спирта, этиленгликоля, ацетона и др.). Одним из таких метаболитов указанных веществ является оксид углерода (IV).

Кожа. Ряд лекарственных и ядовитых веществ выводится из организма через кожу, главным образом через потовые железы. Таким путем выводятся из организма соединения мышьяка и

некоторых тяжелых металлов, бромиды, иодиды, хинин, камфора, этиловый спирт, ацетон, фенол, хлорпроизводные углеводов и др. Выделяемые через кожу количества указанных веществ относительно незначительные. Поэтому при решении вопроса об отравлении они не имеют практического значения.

Молоко. Некоторые лекарственные и ядовитые вещества выводятся из организма с молоком кормящих матерей. С молоком матери могут попадать к ее грудному ребенку этиловый спирт, ацетилсалициловая кислота, барбитураты, кофеин, морфин, никотин и др.

Коровье молоко может содержать отдельные пестициды и некоторые токсические вещества, которыми обрабатывают растения, поедаемые животными.

9. Факторы, определяющие развитие отравлений

Токсическое проявление ядовитых веществ зависит от характера их взаимодействия с организмом и определяется как поведением самого токсического агента в конкретно сложившейся ситуации, так и отношением организма на это воздействие. Факторы, влияющие на развитие отравлений можно разделить на две группы:

внутренние, присущие пострадавшему;

внешние, определяющие ответную реакцию организма на химическое воздействие.

Основными факторами считают определенные качества ядов и особенности пострадавшего организма.

К дополнительным факторам относят характеристики окружающей среды и конкретно сложившейся «токсической ситуации».

Такое разделение факторов, определяющих развитие отравлений, представляется достаточно условным, но необходимым. Дополнительные факторы, хотя и редко, но могут существенно изменять физико-химические свойства ядов и их токсичность и, безусловно, сказываются на клинической картине отравления, его тяжести и последствиях.

При рассмотрении совокупности факторов, определяющих развитие отравлений, выделяют четыре группы.

I. Основные факторы, относящиеся к ядам:

- физико-химические свойства ядовитого вещества;
- токсическая доза и концентрация ядовитого вещества в биосредах организма;
- характер связи с рецепторами токсичности;
- особенности распределения ядовитого вещества в биосредах организма;
- степень химической чистоты и наличие примесей;
- устойчивость и характер изменений при хранении.

II. Основные факторы, характеризующие пострадавшего:

- видовая чувствительность;
- масса тела, структура питания и характер физической нагрузки;
- пол и возрастные особенности;
- индивидуальная вариабельность и наследственность;
- возможность развития аллергии и токсикомании;
- влияние биоритмов и т.д.

III. Дополнительные факторы, влияющие на пострадавшего:

- температура и влажность окружающего воздуха;
- барометрическое давление;
- шум и вибрация;
- лучистая энергия;
- магнитные бури и т.д.

IV. Дополнительные факторы, относящиеся к конкретной «токсической ситуации»:

- способ, вид и скорость поступления яда в организм;
- возможность кумуляции и привыкания к ядам;
- совместное действие с другими токсичными и лекарственными веществами.

Успешное лечение отравлений зависит от учета многих факторов, определяющих их воздействие на организм. Большую роль при этом играет своевременное и квалифицированное оказание медицинской помощи как на месте происшествия, так и в лечебном учреждении.

Доза и концентрация. Одним из важнейших факторов, определяющих токсичность химических соединений, является доза (концентрация). Подробная классификация доз и их описание приводятся в ряде литературных источников. На практике

пользуются значениями терапевтической, токсической и смертельной доз.

Терапевтической (лечебной) называется доза вещества, вызывающая определенный лечебный эффект.

Токсической называется доза вещества, вызывающая патологические изменения в организме, не приводящие к летальному исходу.

Смертельной (летальной) называется такая доза вещества, которая вызывает гибель организма.

Дозы лекарственных и ядовитых веществ выражают по массе (в граммах, миллиграммах, микрограммах), объему (миллилитрах, каплях) и в единицах биологической активности (МЕ - международная единица).

Действие поступившего в организм вещества зависит не только от дозы, но и от времени пребывания в организме. С этой точки зрения срок пребывания яда в организме можно выражать промежутком времени от начала его резорбции 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} . Эта величина является той средней дозой, после поступления которой (в желудок, брюшную полость, на кожу) в течение трех суток наступает гибель 50 % подопытных животных. Иногда для определения LD_{50} , подопытных животных наблюдают в течение не трех, а 14 суток. LD_{50} выражается в миллиграммах вещества на килограмм массы животного (мг/кг).

Лицам старше 60 лет рекомендуются несколько меньшие дозы лекарственных препаратов, чем лицам молодого возраста, поскольку у более пожилых людей процессы метаболизма и скорость выведения из организма лекарственных препаратов, ядовитых веществ и их метаболитов несколько замедлены. У этих лиц эффективная концентрация лекарственных препаратов достигается после введения в организм меньших доз.

Дети имеют меньшую массу тела, чем взрослые. Поэтому для достижения терапевтического эффекта детям назначают

относительно меньшие дозы лекарственных препаратов, чем взрослым. Кроме того, для детей характерны возрастные особенности чувствительности к лекарственным препаратам и ядовитым веществам.

Токсичность газообразных веществ характеризуется не дозой, выраженной в единицах массы или объема, а концентрацией. Важнейшим параметром токсичности газообразных веществ является ПДК (предельно допустимая концентрация). Под ПДК понимают наименьшую концентрацию химических соединений, которая при ежедневном воздействии на организм человека в течение длительного времени не вызывает каких-либо патологических изменений или заболеваний, обнаруживаемых современными методами исследования.

С целью санитарной оценки воздушной среды и воды, находящейся в открытых водоемах (реки, озера), производится определение ПДК токсичных веществ в атмосферном воздухе, в воздухе рабочей зоны и в воде водоемов.

Для газообразных токсичных веществ ПДК выражается в миллиграммах на кубический метр (мг/м^3), а для токсичных веществ в воде - в миллиграммах на литр (мг/л). На основании результатов определения ПДК разрабатываются мероприятия по очистке воздуха предприятий и вод водоемов от загрязнений токсичными веществами.

Физические и химические свойства токсических 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 в организм через дыхательные пути, проявляют токсическое действие значительно быстрее, чем жидкие или твердые вещества, попавшие на кожу и поступившие в пищевой канал.

Токсичность твердых веществ зависит от размера их частиц. Тщательно размельченные твердые вещества являются более токсичными, чем те же вещества, имеющие более крупные частицы. Это объясняется различной растворимостью мелких и крупных частиц вещества а следовательно, и неодинаковой скоростью поступления их в кровь. Токсичность химических соединений

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. Аналогичные свойства характерны и для некоторых соединений мышьяка. Высокотоксичными являются хорошо диссоциируемые в воде арсениты и арсенаты. Слаборастворимые в воде оксид мышьяка (III) значительно менее токсичен, чем арсенаты и арсениты щелочных металлов. Растворимые в воде соли тяжелых металлов также более токсичны, чем их оксиды. Нерастворимый в воде хлорид ртути (I) менее токсичный, чем растворимый в воде хлорид ртути (II), а металлическая ртуть, поступившая в пищевой канал, вообще не оказывает токсического действия на организм. Однако под влиянием содержимого желудка определенная часть металлической ртути подвергается химическим превращениям и может растворяться, всасываться и проявлять токсические свойства.

Видовая чувствительность к ядовитым веществам. Одни и те же вещества могут действовать на людей и на различные виды животных неодинаково. Это 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. После приема людьми завышенных доз препаратов, полученных из красавки или наперстянки, возникают тяжелые отравления.

Для некоторых птиц, поедающих «шпанские мушки», содержащие кантаридин, они являются безвредными. Настойка «шпанских мушек» для людей является токсичной.

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. Это объясняется тем, что в организме белых крыс гистамин быстро разлагается и выводится в виде метаболитов.

Неодинаковую токсичность фенилтиомочевины для различных видов животных можно показать на следующем примере. Фенилтиомочевина высокотоксична для крыс ($LD_{50} = 5$ мг/кг), менее токсична для кроликов ($LD_{50} = 40$ мг/кг) и кур ($LD_{50} = 100$ мг/кг), но малотоксична для морских свинок ($LD_{50} = 250$ мг/кг). Неодинаковая токсичность ядовитых веществ для животных разных видов объясняется различной скоростью их метаболизма и выделения из организма

Действие токсических веществ в зависимости от путей и скорости поступления их в организм разное. Одна и та же доза ядовитого вещества поступившего в организм различными путями, может вызывать неодинаковый токсический эффект. 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 пищевой канал, то токсическое действие его будет проявляться значительно слабее.

При стенокардии больным назначают нитроглицерин в таблетках или в виде нескольких капель спиртового раствора. Нитроглицерин хорошо всасывается слизистой оболочкой рта (подъязычная область) и оказывает быстрое действие. Такое же количество нитроглицерина, принятое внутрь, всасывается медленнее и его действие замедляется. Скорость поступления лекарственных препаратов в организм имеет большое значение, особенно при их внутривенном введении. При быстром введении лекарственных препаратов в крови создается относительно высокая концентрация вводимого вещества, в результате чего могут возникнуть токсические явления.

Химическое строение и действие токсических веществ.
Установлено, что действие многих токсических веществ зависит от их химического строения. Однако 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 ($CH_2=CH-CH_2OH$), принадлежащий к

ненасыщенным соединениям, более токсичен, чем близкий к нему по составу насыщенный пропиловый спирт ($\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{OH}$)

Токсичными являются вещества, в молекулах которых содержатся следующие группы атомов: =C=O , S= , =C=C= , —N= , =O и др. Токсичность некоторых органических веществ обусловлена введением в их молекулы атомов хлора, фтора, мышьяка ртуты и др. Определенные группы атомов (—C=C— , $\text{—C}_6\text{H}_5$, —CH_3 , —NH_2 ; и др.), содержащиеся в молекулах токсических веществ, усиливают их токсичность.

Существуют ЛС, у которых выборочно замедлены процессы метаболизма у одного из изомеров, что может приводить к возникновению побочных эффектов и изменению силы воздействия фармакологического препарата. Отмечены факты применения ЛС, в составе которых один из хиральных изомеров оказывал сильное токсическое действие на организм. Например, трагически известный L - изомер талидомида обладает транквилизирующим действием, помогает беременным справиться с тошнотой, а его «правый» коварный двойник несет угрозу мутаций, уродств их младенцам. То же самое можно сказать и о морфине. Это вещество, добытое из природного сырья, является «левым» изомером и оказывает, как известно, сильнейшее обезболивающее действие. Когда же был получен синтетический морфин, оказавшийся «правым», то ученые столкнулись с тем, что он не имеет вообще такого свойства. Правило «левой руки» оказалось верным и для вещества допамин, применяемого при лечении болезни Паркинсона. Допамин должен поступать в организм только с «левыми» молекулами (препарат L-Дора). Производителям гормональных противозачаточных средств приходится включать в свои препараты большие дозы гормонов. Причина та же — в них содержались обе формы хиральных изомеров, а функцию выполнял только один.

Изомеры некоторых химических соединений имеют неодинаковую токсичность. Так, левовращающий изомер гиосциамин почти в 100 раз токсичнее, чем правовращающий изомер этого алкалоида.

Токсичность химических соединений зависит от их положения в соответствующих гомологических рядах. С увеличением молекулярной массы токсичность гомологов возрастает. Например: пропионовая кислота более токсична, чем уксусная, а масляная

кислота более токсична, чем пропионовая. Алифатические спирты имеют более выраженное токсическое действие, чем их изомеры с разветвленной цепью атомов. Подтверждением этому является более высокая токсичность пропилового и бутилового спиртов, чем их изомеров (изопропилового и изобутилового спиртов). Пары циклических углеводородов (циклопропана, циклобутана, циклопентана, циклогексана и др.) более токсичны, чем пары соответствующих им (по количеству атомов углерода) алифатических углеводородов (пропана, бутана, пентана, гексана и др.). С увеличением количества атомов углерода в молекулах спиртов токсичность их возрастает. Однако из этого правила имеются и некоторые исключения. Так, например, метиловый спирт (первый член гомологического ряда алифатических спиртов) является продуктом окисления метана. Однако он более токсичен, чем этиловый спирт. То же касается и токсичности формальдегида, получаемого из метилового спирта. Формальдегид более токсичен, чем ацетальдегид.

10. Методы детоксикации

Детоксикация - это процесс обезвреживания ядовитых веществ и ускорения их выведения из организма. Различные методы детоксикации способствуют освобождению желудка и кишечника от, еще невсосавшегося в кровь, ядовитого вещества, а также освобождению крови и тканей организма от находящихся в них токсических веществ и его метаболитов.

Освобождение организма от ядовитых веществ производится путем усиления определенных естественных физиологических процессов (вызывание рвоты, промывание желудка, очищение кишечника, форсированный диурез, гипervентиляция), искусственной детоксикации (гемодиализ, перитонеальный диализ, гемосорбция, обменное переливание крови и др.) или методом антидотной терапии.

Указанные выше методы освобождения организма от ядовитых веществ производятся специалистами - медиками. Однако химики-токсикологи должны знать принципы указанных выше мероприятий и процедур, направленных на удаление из организма ядов и их метаболитов. Необходимость знания этих мероприятий химиками-

токсикологами связана с тем, что они должны производить исследования рвотных масс, мочи, диализатов и других жидкостей, полученных в процессе детоксикации. Ниже приводится краткое описание основных методов детоксикации.

Вызов рвоты. После поступления ядовитых веществ в желудок может наступить рефлекторная рвота, как самопроизвольный акт. При этом часть яда удаляется из желудка с рвотными массами. Однако не всегда после поступления ядовитого вещества в желудок наступает рвота. Ее можно вызвать путем механического раздражения глотки и корня языка, а также применением некоторых лекарственных средств (апоморфин и др.).

При отравлении сильными кислотами и концентрированными растворами едких щелочей удаление ядовитых веществ из желудка с рвотными массами является нежелательным. Выделяясь во время рвоты наружу, эти вещества усиливают степень повреждения пищевода. Кроме этого, рвотные массы, содержащие сильные кислоты и щелочи, могут попадать в дыхательные пути и вызывать их ожог.

Промывание желудка. Для детоксикации широко применяется промывание желудка с помощью зонда. При отравлении хлорорганическими и фосфорсодержащими ядохимикатами промывание желудка производится несколько раз через каждые 3-4 ч.

Больные, отравленные наркотическими веществами, в течение нескольких суток могут находиться в бессознательном состоянии. Таким больным промывают желудок несколько раз (через 4-6 ч). При однократном промывании из желудка удаляется основная часть не всосавшегося яда. Однако после этого, в результате обратной перистальтики из кишечника в желудок может поступать определенное количество яда, для удаления которого необходимо проводить повторное промывание желудка.

Желудок промывают также тем больным, у которых наступила рвота, но нет уверенности в том, что ее следствием было полное опорожнение желудка. Промывают желудок также и при отравлении сильными кислотами. В этих случаях для промывания желудка нельзя применять раствор гидрокарбоната натрия. При взаимодействии кислот и гидрокарбоната натрия выделяется большой объем оксида углерода (IV), который значительно

расширяет стенки желудка. В результате этого усиливаются боли в области желудка и может возникнуть кровотечение. Промывание желудка противопоказано при отравлении ядовитыми веществами, вызывающими судороги (стрихнин и др.). Введение зонда таким больным увеличивает частоту и тяжесть судорог.

Чтобы воспрепятствовать всасыванию яда, оставшегося в желудке после промывания, больным назначают суспензию активированного угля в воде или другие сорбенты, поглощающие яды и препятствующие проникновению их в кровь. После вызова рвоты и промывания желудка больным назначают слабительные средства, способствующие выведению содержимого кишечника и освобождению их от ядовитых веществ. С помощью слабительных средств кишечник освобождается не только от находящегося в нем яда, но и от ядовитых веществ, уже всосавшихся в кровь, а затем выделившихся в пищевой канал через слизистую кишечника или с желчью. В качестве слабительных средств применяют вазелиновое масло (100-150 мл), хорошо растворяющее некоторые жирорастворимые яды, и некоторые другие слабительные.

Форсированный диурез. Это один из способов ускоренного удаления токсических веществ из организма, выделяющихся с мочой. Форсированный диурез позволяет удалить уже всосавшееся ядовитое вещество из кровеносного русла. Пользуясь методом форсированного диуреза, больным внутривенно вводят 1,5-2 л жидкости (изотонический раствор хлорида натрия, 5 %-й раствор глюкозы и др.). Для стимуляции диуреза назначают диуретические средства. Ими могут быть так называемые осмотические диуретики (15-20 % растворы мочевины или маннита). После внутривенного вливания раствора диуретика вводят растворы электролитов, содержащих ионы калия и натрия, со скоростью, равной скорости диуреза (500-800 мл/ч). Скорость выделения некоторых ядовитых веществ из организма зависит от рН мочи. Чтобы моча, выделяющаяся из организма, имела более щелочную реакцию, больным внутривенно вводят растворы лактата натрия, гидрокарбоната натрия или трисамина (триоксиметиламинометанола). От рН мочи зависит диссоциация в ней веществ, являющихся слабыми кислотами или слабыми основаниями. Чем лучше диссоциируют ядовитые вещества, тем в больших количествах они выделяются с мочой.

При небольшом смещении рН артериальной крови в щелочную область повышается содержание барбитуратов в плазме и уменьшается содержание их в тканях. Это объясняется увеличением ионизации молекул барбитуратов и снижением проницаемости этих веществ через клеточные мембраны. Метод форсированного диуреза в основном применяется при отравлении веществами, которые легко выводятся из организма почками. Этот метод является малоэффективным в тех случаях, если токсические вещества связаны с белками прочными связями, а также если ядовитые вещества относятся к числу жирорастворимых.

Гипервентиляция (форсированное дыхание) в ряде случаев является эффективным методом ускоренного выведения некоторых ядов из организма. Этот метод применяется только при отравлении летучими ядами, которые в определенной степени выделяются из организма с выдыхаемым воздухом. Для гипервентиляции применяется аппарат искусственного дыхания. Метод гипервентиляции показан при отравлении спиртами, бензином, ацетоном, хлороформом, трихлорэтиленом, растворителями для красок, оксидом углерода (II) и др. Однако имеется и ряд противопоказаний для применения этого метода.

Гемодиализ - один из эффективных методов ускорения выведения токсических веществ из организма. Он основан на явлении диализа, используемого для освобождения крови от токсических веществ. Гемодиализ проводится с помощью аппарата, известного под названием «искусственная почка». Этот аппарат снабжен полупроницаемой мембраной, через которую из крови переходят токсические вещества в диализирующую среду по ходу процесса гемодиализа.

Гемодиализ применяется при отравлении веществами, которые имеют небольшую молекулярную массу и проходят через полупроницаемую мембрану. Метод гемодиализа применяется для выведения из организма барбитуратов, изониазида, дифенилгидантоина, хлордиазепоксида, этиленгликоля, метилового спирта, четыреххлористого углерода, анилина, хинина, уксусной кислоты, производных фенотиазина, растворимых солей ртути, мышьяка, кадмия, свинца, фторидов и других веществ, вызвавших отравление.

Гемодиализ особенно эффективен в тех случаях, когда его применяют в ранней стадии острого отравления (в первые 24 ч после поступления токсического вещества в организм). Поэтому такой метод детоксикации организма называется «ранний гемодиализ».

Перитонеальный диализ является одним из способов детоксикации. Он известен также под названием перитонеальный лаваж, или брюшинный диализ.

Перитонеальный диализ основан на введении в брюшную полость специального раствора, в который из крови путем диализа переходят токсические вещества. При использовании метода перитонеального диализа роль полупроницаемой мембраны выполняет брюшина, имеющая большую поверхность (около 20 000 см²). Через брюшину из крови легко диффундируют токсические вещества во введенный в брюшную полость раствор. Переход токсических веществ из крови через брюшину в этот раствор объясняется разностью концентраций этих веществ по обе стороны брюшины. Известно, что в процессе диализа вещество переходит через полупроницаемую мембрану из среды с большей концентрацией в среду с меньшей концентрацией. Поскольку раствор, введенный в брюшную полость, не содержит токсического вещества, оно проникает из крови через брюшину в указанный раствор.

В качестве раствора, вводимого в брюшную полость, при перитонеальном диализе применяют смесь растворов хлоридов калия, натрия, кальция, магния, глюкозы в определенных соотношениях. Однако в зависимости от природы токсических веществ, которые должны быть удалены из организма, состав вводимого в брюшную полость раствора может изменяться. При отравлениях барбитуратами и другими веществами слабощелочного характера этот раствор доводят до pH = 7,5.. 8,4, а при отравлениях токсическими веществами, принадлежащими к числу слабых оснований - до pH = 7,1 ...7,25. Для доведения раствора до необходимого pH прибавляют раствор гидрокарбоната натрия. В ряде случаев к вводимому раствору прибавляют альбумин, который связывает некоторые токсические вещества и способствует переходу их из крови в брюшную полость. Раствор, в который путем диализа перешло ядовитое вещество, из брюшной полости выводится с помощью специального катетера.

Гемосорбция (гемоперфузия) является одним из способов искусственной детоксикации организма. Этот метод основан на поглощении сорбентами ядовитых веществ, находящихся в крови. При гемосорбции в качестве сорбентов в основном применяются активированный уголь и ионообменники (иониты). Гемосорбцию проводят с помощью прибора (детоксикатора), снабженного насосом для перекачивания крови и набором колонок (капсул), содержащих указанные выше сорбенты. Этот аппарат с помощью специального приспособления подключают к кровотоку больного. Кровь, проходящая через сорбенты, освобождается от токсических веществ, которые поглощаются этими сорбентами.

Применение активированных углей и ионообменников, как сорбентов при гемосорбции, в ряде случаев приводит к некоторым нежелательным явлениям (уменьшению количества тромбоцитов, снижению артериального давления и т. д.). Эти нежелательные явления можно предотвратить путем нанесения белковых покрытий на гранулы сорбентов. Для этой цели рекомендован альбумин. За рубежом ряд фирм для гемосорбции выпускает гранулы активированного угля, покрытые очень тонкой пленкой акрилового гидрогеля.

Гемосорбция применяется для выведения из организма ядов, находящихся в крови, а не в клетках, и рекомендуется при отравлении барбитуратами, салицилатами, глутетимидом, гликозидами наперстянки, производными фенотиазина, ядовитыми грибами и др.

Обменное переливание крови. Этот метод детоксикации организма основан на кровопускании и замещении удаленной крови больного одногруппной кровью донора. Для детоксикации организма также применяется метод замещения плазмы крови больного плазмой доноров или плазмозаменителями.

Детоксикация организма с помощью антидотов (противоядий). Детоксикацию организма с помощью антидотов вначале производили в основном для обезвреживания токсических веществ, находящихся в желудке. Затем антидоты нашли применение и для инактивирования токсических веществ в крови, паренхиматозных органах и т. д.

Применение антидотов является эффективным способом детоксикации только на ранней стадии острых отравлений. Продолжительность этой стадии зависит от свойств токсического

вещества. Для быстро метаболизирующихся соединений (синильная кислота, ее соли и другие токсические вещества) стадия острого отравления непродолжительна, а для тяжелых металлов она достигает 8-12 сут. При отравлении соединениями тяжелых металлов антидоты могут применяться и на более поздних стадиях интоксикации. Они постепенно связывают катионы тяжелых металлов, ранее поступивших в организм и образовавших комплексы с сульфгидрильными группами ферментов и других белковых веществ.

Некоторые антидоты являются специфичными по отношению к определенному ядовитому веществу. Поэтому для рационального применения антидотов необходимо знать, каким веществом вызвано отравление. При неправильном выборе антидота и введении его в организм в большой дозе может наступить отравление самим антидотом. Поэтому данные клинико-лабораторного (в том числе и химико-токсикологического) исследования токсического агента, находящегося в организме, имеют большое значение для правильного выбора и применения соответствующего антидота.

В качестве антидота часто используют активированный уголь, действие которого основано на адсорбции ядов в желудке. Благодаря большой удельной поверхности частиц активированного угля он адсорбирует находящиеся в желудке ядовитые вещества, и этим препятствует всасыванию их в кровь.

Большую группу антидотов составляют вещества, вступающие в химическое взаимодействие с ядовитыми веществами. В результате этого происходит инактивация ядов, которые превращаются в безвредные вещества, выделяемые из организма с мочой или калом. В качестве антидотов могут применяться и смеси нескольких веществ, вводимых в организм в определенной последовательности или же одновременно.

Заслуживают внимания антидоты, принадлежащие к группе меркаптосоединений (унитиол, димеркаптоантарная кислота, пеницилламин и др.).

Одним из представителей меркаптосоединений, часто применяемых в качестве антидота, является унитиол (2,3-димеркаптопропансульфонат натрия). Он содержит две сульфгидрильные группы, способные взаимодействовать с ионами металлов с образованием прочных соединений

Унитиол взаимодействует не только с соединениями мышьяка и ионами тяжелых металлов, находящихся в крови, но и с уже

вступившими во взаимодействие ферментами и другими белковыми веществами в организме. При этом освобождаются ранее связанные с ионами металлов сульфгидрильные группы белков, и восстанавливается их функция. Соединения унитиола с ионами тяжелых металлов являются малотоксичными, водорастворимыми, и поэтому легко выделяются из организма с мочой.

Аналогично унитиолу действует и димеркаптоянтарная кислота (так называемый сукдимер). Она содержит две сульфгидрильные группы и применяется в качестве антидота при отравлении соединениями свинца, ртути и др.

Пеницилламин (диметилцистеин) также относится к группе антидотов, содержащих сульфгидрильную группу. Кроме этого в молекуле пеницилламина содержится атом азота и карбоксильная группа. В связи с наличием в молекуле пеницилламина указанных функциональных групп и атома азота он легко образует прочное соединение с атомами ряда металлов, имеющих токсикологическое значение. Пеницилламин используется в качестве антидота при отравлении соединениями свинца и ртути.

К антидотам, содержащим сульфгидрильные группы, относятся цистеин и ацетилцистеин. Цистеин - это серосодержащая аминокислота являющаяся эффективным антидотом при отравлении однозамещенными галоидопроизводными алифатических углеводов (бромистый метил, йодистый метил, хлористый этил и др.). Эти галоидопроизводные углеводов с цистеином образуют конъюгаты, в составе которых и выделяются из организма с мочой. С увеличением количества атомов галоида в молекулах галоидопроизводных углеводов эффективность действия цистеина как антидота уменьшается. Эффективным антидотом при отравлении галоидопроизводными алифатических углеводов является ацетилцистеин.

В качестве антидотов широко используются некоторые вещества, образующие с ионами металлов внутрикомплексные соединения (хелаты). Чтобы такой антидот мог проникнуть в клетки, быстро выводиться из организма, его молекула должна содержать определенное количество атомов водорода, способных ионизироваться или образовывать водородные связи. Такие атомы водорода содержатся в некоторых функциональных группах (-ОН, —СООН, —SH, —NH₂) хелатообразующих антидотов. Причем, после связывания ионов металлов с антидотами, в них должен

оставаться хотя бы один атом водорода, способный ионизироваться или образовывать водородные связи.

Указанным выше требованиям, предъявляемым к антидотам, которые с ионами металлов образуют хелаты, отвечают комплексоны (производные этилендиаминтетрауксусной кислоты, ЭДТА). Некоторые комплексоны с ионами металлов образуют прочные хелаты, которые относительно быстро выводятся из организма. К таким комплексонам относятся тетацин-кальций (кальций динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты) и пентацин. Известны и другие антидоты, не относящиеся к меркаптосоединениям или веществам, образующим хелаты. Отдельную группу веществ, применяемых в медицине при отравлениях, составляют так называемые физиологические или функциональные антидоты. Они упреждают или устраняют вредное действие ядов на организм. При отравлении синильной кислотой и ее солями в качестве антидота последовательно применяют нитриты, тиосульфат натрия и глюкозу.

При отравлении грибами - мухоморами, содержащими мускарин, а так же ацетилхолином, пилокарпином, ареколином, физостигмином, прозеринном, галантамином, фосфорсодержащими органическими соединениями (пестицидами), в качестве антидота применяют атропин и другие холиноблокаторы. При тех же отравлениях менее выраженное действие оказывают скополамин, гллатифиллин, тропацин и др.

Бемеград применяется в качестве антидота при острых отравлениях препаратами снотворного действия. При отравлении морфином и промедолом в качестве антидота применяется гидрохлорид налорфина. При отравлении соединениями марганца в качестве антидота назначают L-Дофу.

11. Метаболизм чужеродных соединений (ксенобиотики)

Вещества, поступившие в организм с пищей, а также лекарственные и другие соединения под влиянием ферментов подвергаются различным превращениям. Процесс превращения поступивших в организм веществ называется метаболизмом, или биотрансформацией, а вещества, образующиеся при этих превращениях, называются метаболитами.

Белки, жиры, углеводы, гормоны, витамины и некоторые другие вещества, поступившие в организм, являются свойственными организму. Они служат источником энергии или являются структурными элементами для создания клеток, тканей и т. д. Свойственные организму вещества подвергаются метаболизму с помощью специфических ферментных систем, обеспечивающих жизнь тканей и деятельность организма. Кроме свойственных организму веществ, в него могут поступать лекарственные препараты, пищевые добавки, химические средства защиты растений, предметы бытовой химии и многие другие вещества, которые не свойственны организму. Они не обеспечивают энергией все нуждающиеся в ней формы жизнедеятельности и не превращаются в компоненты клеток и тканей. В определенных условиях эти вещества могут нарушать нормальные процессы метаболизма белков, жиров и других свойственных организму соединений, вызывать отравления и даже смерть. Такие вещества называются чужеродными, или ксенобиотиками. Преобладающее число метаболитов является менее токсичным, чем чужеродные вещества, из которых они образовались. Метаболиты легко выводятся из организма. Поэтому метаболизм лекарственных веществ и особенно ядов является одним из путей детоксикации. И в связи с этим изучение метаболизма представляет большой интерес для фармакологов, токсикологов, клиницистов и специалистов ряда других отраслей науки.

Интерес химиков-токсикологов к изучению метаболизма ядовитых веществ объясняется тем, что некоторые лекарственные вещества и ядовитые вещества быстро метаболизируются в организме и могут быть обнаружены только в виде метаболитов.

Физические и химические свойства большинства метаболитов отличаются от свойств нативных чужеродных соединений, из которых они образовались. Поэтому методы выделения чужеродных соединений из биохимического материала, применяемые в химико-токсикологическом анализе, во многих случаях непригодны для выделения метаболитов. Не располагая соответствующими методами выделения метаболитов из биологического материала в ходе анализа объектов биологического происхождения на наличие ядовитых веществ, химики-токсикологи частично или полностью могут потерять метаболиты.

Из-за частичной или полной потери метаболитов в ходе химико-токсикологического анализа заключение химиков-экспертов о наличии и количестве ядовитого вещества в соответствующих органах или биологических жидкостях не может отражать истинного содержания искомого вещества, поступившего в исследуемые объекты. Для более полного представления о количестве ядовитого вещества, вызвавшего отравление, при химико-токсикологическом анализе необходимо производить идентификацию и количественное определение не только ядовитого вещества, но и его метаболитов. Однако методы обнаружения и количественного определения многих метаболитов еще не разработаны или разработаны недостаточно.

Методам анализа метаболитов посвящена книга Ж. Хирца «Аналитические методы исследования метаболизма лекарственных веществ. -М.: Медицина, 1975. - 272 с.», которая представляет большой интерес для химиков-аналитиков и химиков-токсикологов, изучающих методы исследования ядовитых веществ и их метаболитов. Однако эта книга не может быть руководством для специалистов указанных областей знаний. В ней приведена сводка методик анализа метаболитов без подробного описания основных этапов их исследования. Несмотря на затруднения, возникающие при изучении метаболизма, в этой области уже получены определенные результаты, позволяющие установить состав и строение многих метаболитов и вывести некоторые общие закономерности процессов биотрансформации.

Метаболизм чужеродных соединений (лекарственных препаратов, различных токсичных веществ и др.) в организме людей и животных происходит под влиянием ферментных систем. Большинство из ядовитых веществ метаболизируется в печени, в которой продуцируется значительное число ферментов. Эти ферменты локализуются в митохондриях, микросомах, лизосомах клеток печени. Метаболиты, образующиеся в печени, поступают в желчь, затем в кишечник и выводятся с калом или поступают в почки и выделяются с мочой. Как правило, метаболиты являются более полярными, чем первоначальные чужеродные вещества, из которых они образовались. С увеличением полярности метаболитов возрастает их растворимость в воде. Это обстоятельство приводит к увеличению возможности выделения

метаболитов из организма через почки с мочой. Метаболизм чужеродных соединений частично происходит в почках, легких, пищевом канале, коже и др.

Многие ферменты, под влиянием которых происходит метаболизм чужеродных соединений, присущи организму. Они катализируют превращение близких по химической природе веществ. Однако некоторые ферменты, необходимые для превращения чужеродных веществ, отсутствуют в организме, но образуются в процессе метаболизма. В этих случаях чужеродные соединения индуцируют образование ферментов, которые катализируют их метаболизм. Такие ферменты называются индуцированными.

За небольшим исключением метаболиты являются менее токсичными, чем чужеродные соединения, из которых они образовались. Таким образом, метаболизм является одним из путей дезактивирования (дезинтоксикации) чужеродных соединений в организме.

Однако в ряде случаев метаболиты могут быть более токсичными, чем чужеродные соединения, из которых они образовались. Известно, что гексаметилентетрамин не обладает антибактериальной активностью, а его метаболит формальдегид проявляет указанную активность и является токсичным. Метиловый спирт имеет значительно меньшую токсичность, чем формальдегид, являющийся метаболитом этого спирта. При метаболизме кодеина может образовываться морфин, более токсичный, чем кодеин. Хлоралгидрат проявляет снотворное действие только после превращения его в более токсичный метаболит - трихлорэтанол. Метаболитом фенаcetина является парацетамол, который имеет более выраженное фармакологическое действие на организм, чем фенацетин. Примеров образования метаболитов более токсичных, чем чужеродные соединения, можно привести еще много. Эти превращения ядовитых веществ в более токсичные называются летальным синтезом.

При летальном синтезе из более простых чужеродных соединений в организме образуются более сложные соединения, обладающие токсическим действием. Это можно показать на таком примере: нетоксичная фторуксусная кислота $F-CH_2-COOH$ в организме подвергается синтезу, в результате которого образуется ядовитая фторлимонная кислота

На метаболизм чужеродных соединений влияют различные факторы. Изменения метаболизма чужеродных веществ могут зависеть от возраста, пола, питания, различных заболеваний, стрессовых состояний, наличия других чужеродных соединений в организме и некоторых других факторов.

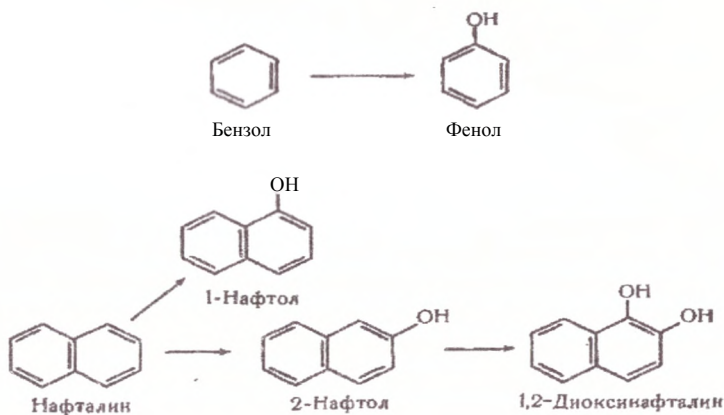
Метаболизм ряда чужеродных соединений происходит в две фазы.

В первой фазе под влиянием ферментных систем чужеродные соединения превращаются в их метаболиты, при этом чужеродные соединения могут подвергаться окислению, восстановлению, гидролизу, дезаминированию, дезалкилированию, десульфированию и другим превращениям. Во второй фазе метаболиты и некоторые чужеродные соединения с определенными веществами, находящимися в организме, образуют конъюгаты.

12. Окисление чужеродных соединений

При окислении под влиянием ферментов происходит превращение многих чужеродных соединений в их метаболиты, содержащие гидроксильные (спиртовые, фенольные) группы. Поэтому такие реакции окисления называются реакциями гидроксילирования. При окислении некоторых чужеродных соединений, содержащих азот и серу, образуются оксиды и другие соединения.

Гидроксילирование ароматических соединений.



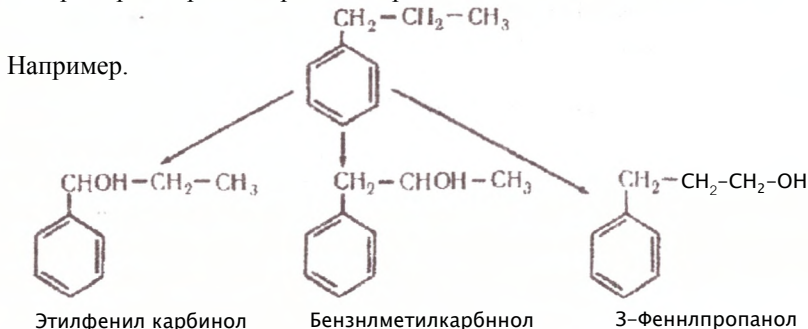
При окислении бензола в организме под влиянием ферментов образуется фенол, а при окислении нафталина - нафтолы:

Продукты окисления (гидроксилирования) бензола и нафталина (фенол и нафтолы) выделяются из организма.



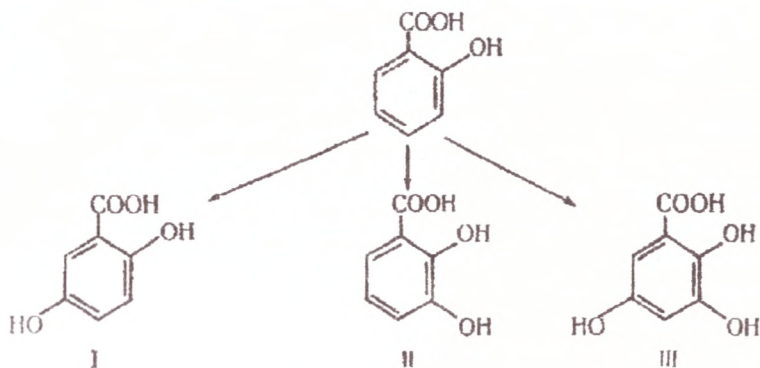
В алкильных производных бензола в первую очередь подвергается окислению алкильная группа. Так, толуол (метилбензол) окисляется до бензинового спирта, при дальнейшем окислении которого образуется бензойная кислота, выделяющаяся из организма в виде конъюгатов.

При наличии нескольких атомов углерода в боковой цепи алкильных производных бензола гидроксилирование может происходить при различных атомах углерода. Это можно показать на примере гидроксилирования n-пропилбензола:



3-Фенилпропанол-1 подвергается окислению до фенилпропионовой кислоты, которая при дальнейшем окислении превращается в бензойную кислоту.

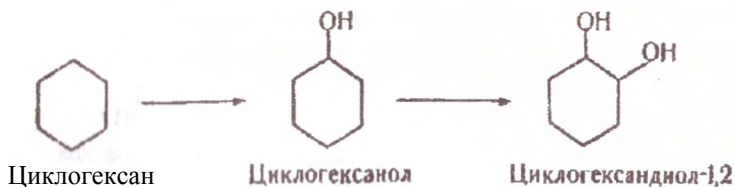
Поступившая в организм салициловая кислота может выделяться из него в неизменном виде и в виде глюкуронида.



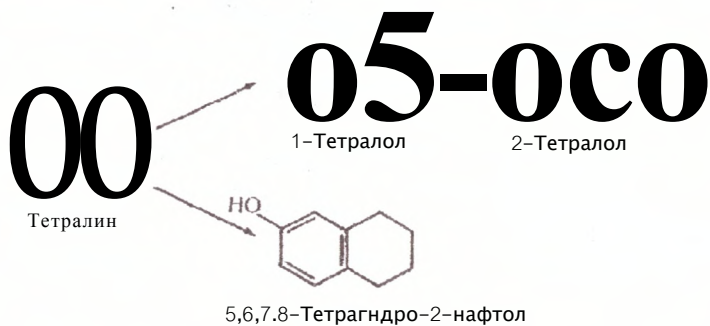
Однако, часть салициловой кислоты под влиянием ферментов печени метаболизируется с образованием гентициновой (I), диоксибензойной (II) и триоксибензойной кислоты (III).

Гидроксилирование алициклических соединений.

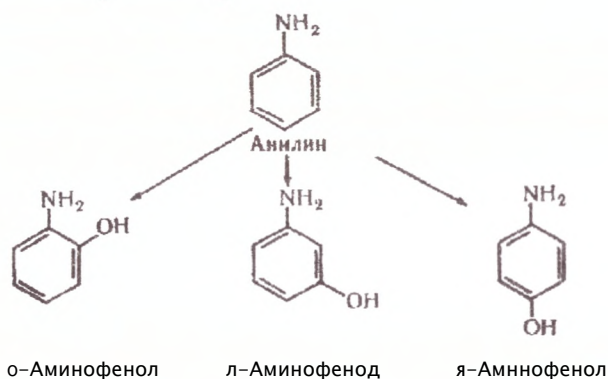
Алициклическими называются соединения, содержащие циклы или кольца из атомов углерода (кроме бензола и его производных). В организме алициклические вещества подвергаются гидроксилированию с образованием соответствующих спиртов. Циклогексан (гексагидробензол) метаболизируется в циклогексанол и циклогександиол-1,2:



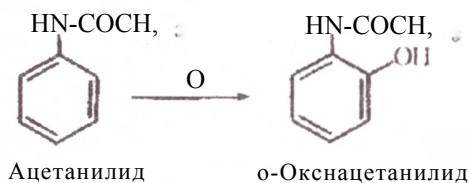
Если соединения содержат алициклическое и ароматическое кольца, то насыщенное (алициклическое) кольцо гидроксилируется легче, чем ароматическое. Это можно показать на примере метаболизма тетралина, который метаболизируется с образованием тетралола и незначительного количества 5, 6, 7, 8-тетра -гидро-2 -нафтола:



Гидроксилирование ароматических аминов и их производных.
 Анилин является аминопроизводным бензола. В организме под влиянием ферментов анилин подвергается гидроксилированию с образованием о-, м- и п-аминофенолов



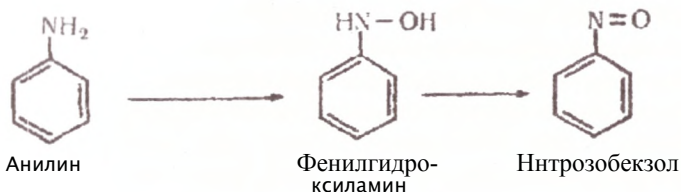
Ацетанилид метаболизируется путем гидроксилирования. При этом образуется о-оксиацетанилид.



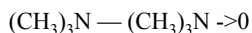
Анилин также может подвергаться гидроксильрованию по аминогруппе. При этом в качестве метаболита образуется фенолгидроксиламин. Этот процесс метаболизма относится к так называемому N - г и д р о к с и л и р о в а н и ю .

Фенолгидроксиламин, образующийся при метаболизме анилина, может превращаться в нитрозобензол:

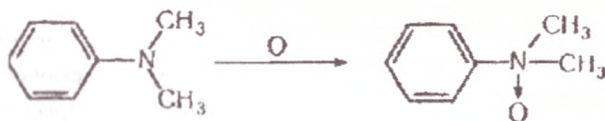
Соединения, в молекулах которых содержится азот или сера под влиянием ферментов могут окисляться в организме с образованием N-оксидов, сульфоксидов или сульфонов. В зависимости от атомов, подвергающихся окислению, процесс метаболизма подразделяют на N-окисление и S-окисление.



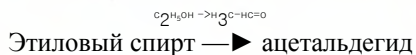
При N -окислении триметилamina образуется триметилamin-оксид:



Аналогично метаболизируется диметиланилин, который под влиянием ферментов превращается в диметиланилин-N-оксид:



Окисление спиртов. Первичные спирты (этиловый, пропиловый, бутиловый, бензиловый и др.) с помощью фермента алкогольдегидрогеназы, которая локализуется в печени, почках и легких, окисляются в соответствующие альдегиды:



Алкогольдегидрогеназа млекопитающих имеет незначительное влияние к метиловому спирту, который метаболизируется в основном с помощью ксантинооксидазы и каталазы. Под влиянием этих ферментов метиловый спирт превращается в формальдегид.

Вторичные спирты в организме окисляются в кетоны с помощью алкогольдегидрогеназы. Однако скорость окисления этих спиртов в организме значительно меньше, чем скорость окисления первичных спиртов. Высшие вторичные и третичные спирты в организме окисляются медленно.

Окисление альдегидов. Альдегиды алифатического и ароматического ряда под влиянием ферментов окисляются в соответствующие карбоновые кислоты. Бензальдегид под влиянием альдегидоксидазы превращается в бензойную кислоту:



Хлоралгидрат под влиянием альдегиддегидрогеназы метаболизируется в трихлоруксусную кислоту.

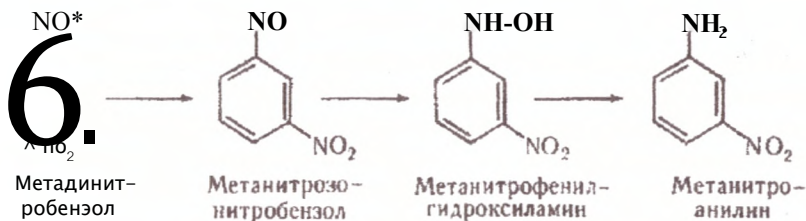


13. Восстановление и гидролиз чужеродных соединений

Кроме окислительных ферментных систем в печени, почках, крови содержатся ферментные системы, способствующие восстановлению чужеродных соединений в организме. Эти ферментные системы катализируют восстановление ароматических нитросоединений в амины.

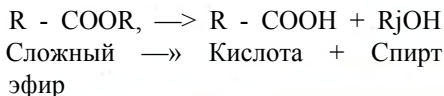
С помощью ферментов (редуктаз) происходит восстановление нитробензола в анилин, п-нитрозобензойной кислоты в п-аминобензойную кислоту и т. д.

Восстановление нитросоединений в амины происходит через образование ряда промежуточных продуктов. Это можно показать на примере восстановления м-динитробензола:



Под влиянием соответствующих ферментов в организме происходит восстановление дисульфидов, сульфоксидов, N-оксидов, гидроксамовых кислот и ряда других чужеродных соединений.

Гидролиз чужеродных соединений. В организме ряд чужеродных соединений, к числу которых относятся сложные эфиры, амиды, гидроксамовые кислоты, карбаматы, нитрилы и другие вещества, под влиянием ферментных систем подвергается гидролизу. С помощью ряда гидролитических ферментов, находящихся в печени и плазме крови, гидролизуются сложные эфиры и амиды. Под влиянием эстеразы сложные эфиры разлагаются на соответствующие кислоты и спирты:



В организме людей и животных гидролитические ферменты в различных тканях и биологических жидкостях могут действовать неодинаково. Свидетельством этому является то, что в плазме кроликов атропин и кокаин быстро подвергаются гидролизу, а в плазме крови человека они не гидролизуются (Д. Парк, 1973).

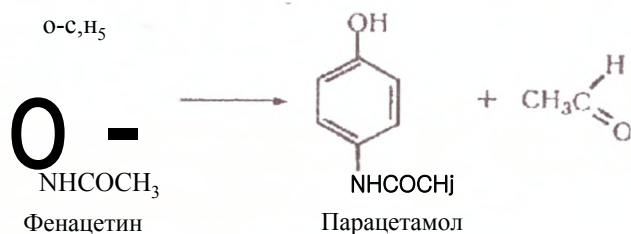
Амиды в организме под влиянием ферментов (амидаз) подвергаются гидролизу. Однако гидролитическое расщепление амидов происходит медленнее, чем расщепление эфиров с помощью эстераз.

14. Дезалкилирование, дезаминирование и десульфирование чужеродных соединений

Ряд чужеродных соединений в организме под влиянием соответствующих ферментных систем подвергается дезаминированию, дезалкилированию и десульфированию.

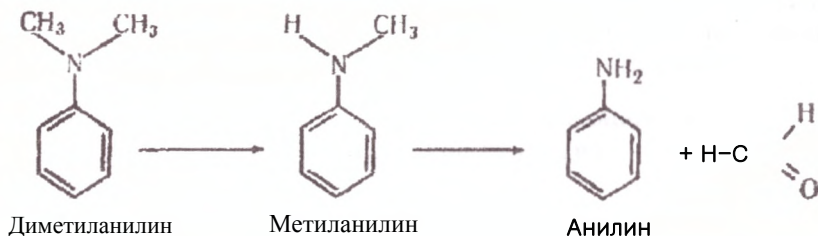
1. *Дезалкилирование (деалкализация).* При дезалкилировании происходит отщепление алкильных групп, находящихся в молекулах чужеродных соединений. Наиболее часто дезалкилированию подвергаются соединения, содержащие алкильные группы при атомах кислорода, азота и серы. В зависимости от этого процессы отщепления алкильных групп подразделяются на O-, N- и S-дезалкилирование. При дезалкилировании указанных соединений образуются соответствующие фенолы, амины и тиолы (тиофенолы, тиоспирты).

O-дезалкилирование. Процесс O-дезалкилирования можно показать на примере фенаcetина. При O-дезалкилировании фенаcetина образуются амидофенол (парацетамол) и ацетальдегид:

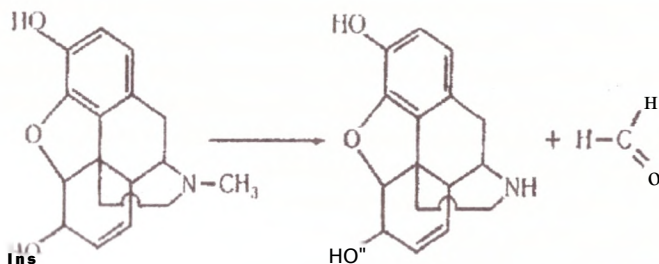


Путем O-дезалкилирования в организме происходит превращение кодеина в морфин.

N-дезалкилирование. Чужеродные соединения, являющиеся вторичными и третичными аминами, в организме подвергаются N-дезалкилированию. В результате этого образуются соответствующие амины и альдегиды. Так, диметиланилин метаболизируется с образованием метиланилина, превращающегося в анилин и формальдегид:



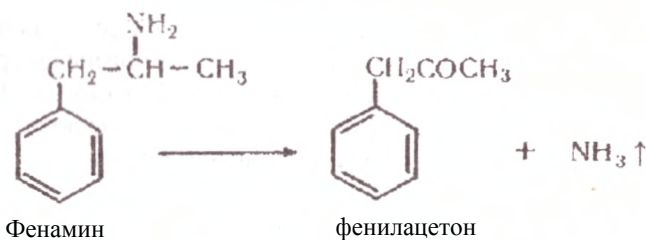
В организме N-дезакилированию подвергаются морфин и его O-производные. При N-дезакилировании морфина образуются норморфин и формальдегид:



S-дезакилирование. Под влиянием соответствующих ферментов тиоэфиры подвергаются S-дезакилированию с образованием тиоспиртов и альдегидов:

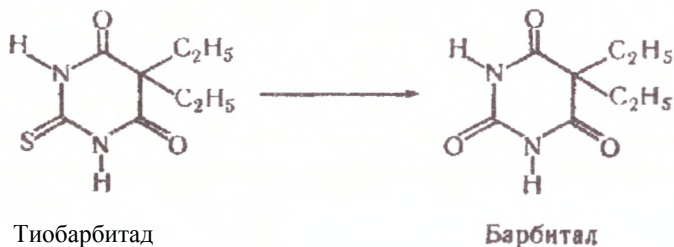


2. *Дезаминирование.* Ряд чужеродных соединений, содержащих первичные аминогруппы, под влиянием ферментов подвергается дезаминированию. В результате этого от молекулы вещества отщепляется аминогруппа в виде аммиака. Одним из препаратов, подвергающихся дезаминированию, является фенамин, который под влиянием ферментов печени превращается в фенилацетон и аммиак:



Многие другие чужеродные соединения, содержащие первичную аминогруппу, также подвергаются дезаминированию в организме.

3. *Десульфирование.* Некоторые чужеродные соединения, содержащие атомы серы (инсектициды, тиобарбитураты, производные фенилтиомочевины и др.) под влиянием ферментов превращаются в соответствующие кислородные аналоги. В таких соединениях атомы серы замещаются атомами кислорода. Процесс десульфирования чужеродных соединений в организме можно показать на примере тиобарбитала:



Выше рассмотрены различные типы метаболических превращений чужеродных соединений, которые под влиянием ферментных систем происходят в организме людей и животных. Кроме указанных типов превращений имеются и другие, механизм которых не выяснен или выяснен недостаточно. К ним относятся процессы восстановления дисульфидов, гидроксамовых кислот, разрыв кольца в циклических соединениях, образование кольца (циклизация) и др.

15. Реакции конъюгации

Во второй фазе метаболизма происходит конъюгация метаболитов с некоторыми веществами, находящимися в организме. Реакции конъюгации являются реакциями биосинтеза. Известны чужеродные соединения, которые, минуя первую стадию биотрансформации (не превращаясь в метаболиты), вступают в реакции конъюгации. Способность чужеродных соединений и метаболитов вступать в реакции конъюгации зависит от наличия в их молекулах определенных функциональных групп.

В результате реакций конъюгации в организме образуются конъюгаты, которые являются более полярными, лучше растворимыми в воде и менее токсичными, чем нативные

чужеродные соединения. Поэтому в результате процессов конъюгации происходит понижение токсичности чужеродных соединений (лекарственных препаратов и ядов) и увеличение скорости выделения их из организма. Таким образом, реакции конъюгации являются реакциями детоксикации.

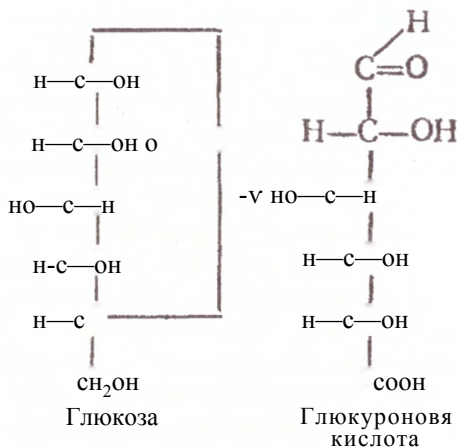
В организме метаболиты и некоторые чужеродные соединения под влиянием соответствующих ферментов могут образовывать конъюгаты с глюкуроновой кислотой, аминокислотами (глицином, цистеином и др.), ацетатами, сульфатами и рядом других веществ.

Активность некоторых ферментов зависит только от их состава и структуры. Однако имеется ряд ферментов, активность которых зависит от наличия определенных групп (или молекул) небелковой природы, которые называются кофакторами. В роли кофакторов могут выступать *сложные органические вещества, которые называются коферментами, или ионы металлов.*

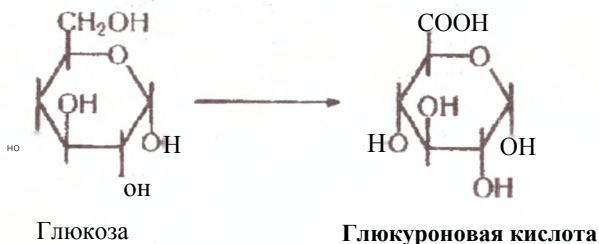
Коферменты - это низкомолекулярные органические соединения (в большинстве случаев - производные витаминов), обуславливающие активность ферментов. Коферменты с белковой частью ферментов образуют легко диссоциирующие комплексы. Коферменты выполняют роль переносчиков (доноров или акцепторов) групп атомов, атомов водорода и электронов. В процессе метаболизма коферменты удаляют из субстрата (чужеродных соединений или метаболитов) или присоединяют к нему определенные группы атомов. В некоторых случаях для проявления каталитической активности ферментов требуется присутствие как коферментов, так и ионов металлов.

При конъюгации в качестве коферментов (переносчиков групп атомов) могут быть УДФ-глюкуроновая кислота (уридиндифосфатглюкуроновая кислота), S-аденозилметиония, ацетил-КоА (КоА-пантетеинадениннуклеотиддифосфат) и др.

Конъюгация с глюкуроновой кислотой. Глукжуроновая кислота $C_6H_{10O_7}$ относится к уроновым кислотам (продуктам окисления альдоз). Она представляет собой альдегидкарбоновую кислоту. При образовании уроновых кислот (в том числе и глюкуроновой) первичная спиртовая группа альдоз окисляется до карбоксильной группы, а альдегидная остается неизменной. Образование глюкуроновой кислоты из глюкозы происходит по схеме:



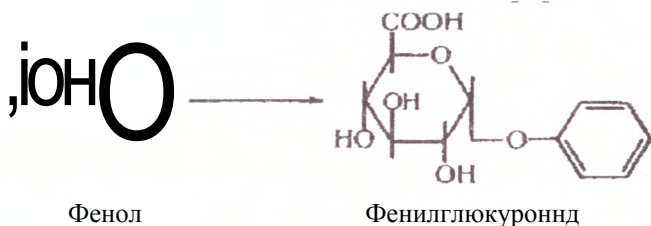
Глюкозу и глюкуроновую кислоту в форме пираноз можно представить такими формулами:



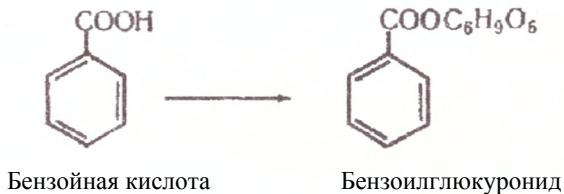
Уроновые кислоты (глюкуроновая, маннуриновая, галактуриновая) являются компонентами многих полисахаридов, олигосахаридов и др. В организме свободная глюкуроновая кислота образуется при ферментативном гидролизе УДФ-глюкуроновой кислоты, некоторых гликопротеидов и других веществ.

Глюкуроновая кислота со спиртами, фенолами, карбоновыми кислотами, тиолами, аминами и некоторыми другими веществами образует конъюгаты. Продукты взаимодействия глюкуроновой кислоты с указанными выше веществами называются глюкуронидами. Образование глюкуронидов происходит главным образом в печени. Они также образуются в почках, коже, пищевом канале и др.

Характерной особенностью глюкуронидов является то, что карбоксильная группа в их молекулах остается свободной. Поэтому в плазме и моче глюкурониды почти полностью ионизированы по карбоксильной группе. При образовании глюкуронидов переносчиком (коферментом) остатка глюкуроновой кислоты является УДФ-глюкуроновая кислота. Процесс образования глюкуронидов происходит при помощи фермента глюкуронилтрансферазы. Под влиянием указанного фермента глюкуроновая кислота с фенолами и спиртами образует О-глюкурониды:



Бензойная и глюкуроновая кислоты в организме образуют бензоилглюкуронид, являющийся сложным эфиром:



где $C_6H_5O_6$ — остаток глюкуроновой кислоты.

Глюкуроновая кислота с рядом азотсодержащих соединений (аминами, амидами, производными карбаминовых кислот, азотсодержащими гетероциклами и др.) образует N-глюкурониды. Тиофенолы и ряд других органических соединений, содержащих атомы серы, с глюкуроновой кислотой образуют S-глюкурониды. Глюкурониды под влиянием фермента β -глюкуронидазы могут подвергаться гидролизу с образованием глюкуроновой кислоты и соответствующего вещества, ранее вступившего в реакцию конъюгации с этой кислотой.

Метилирование. В организме метилированию могут подвергаться амины, фенолы и тиолы. В результате метилирования образуются соответствующие N-, O- и S-метильные конъюгаты. При метилировании чужеродных соединений и некоторых метаболитов переносчиком метильных групп является кофермент S-аденозилметионин. С участием метильных групп этого кофермента происходит метилирование перечисленных выше соединений. Реакции метилирования происходят под влиянием ферментных систем (метилтрансфераз).

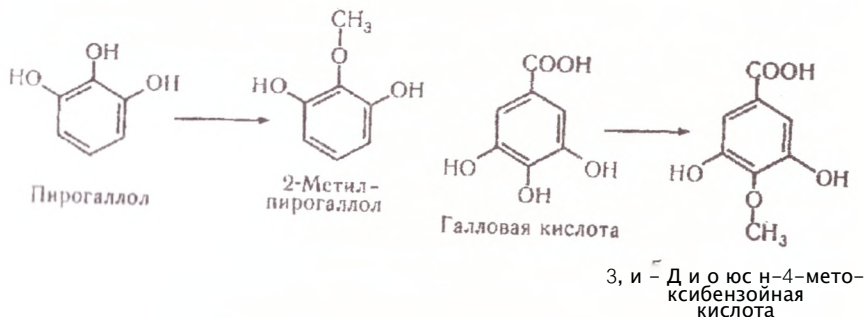
N-метилирование. При N-метилировании метильная группа S-аденозилметионина под влиянием N-метилтрансферазы присоединяется к атомам азота метаболитов или чужеродных соединений. Здесь приводятся продукты N-норадреналина, серотонина, нормеперидина и пиридина:



O-Метилирование. Этому типу конъюгации подвергаются соединения, содержащие фенольные группы. Под влиянием ферментов (O-метил-трансфераз) метильная группа кофермента S-аденозилметионина присоединяется к атомам кислорода фенольных

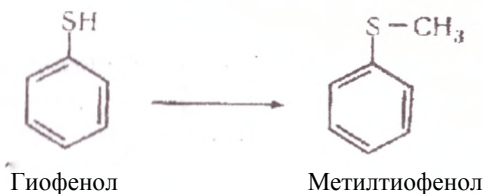
гидроксильных. Для реакции метилирования фенолов кроме кофермента требуется присутствие ионов магния или ионов других двухвалентных металлов.

Здесь приводятся формулы продуктов метилирования фенолов на примере пирогаллола и галловой кислоты:



Соединения, содержащие одну фенольную группу, при наличии указанных ферментов не метилируются.

S-Метилирование. Некоторые чужеродные соединения, содержащие тиоловые группы (-SH) в организме подвергаются метилированию. При этом метильная группа кофермента S-аденозилметионина в присутствии ферментов (метилтрансфераз) переносится к атомам серы метаболитов или чужеродных соединений с образованием соответствующих S-метилпроизводных этих соединений.

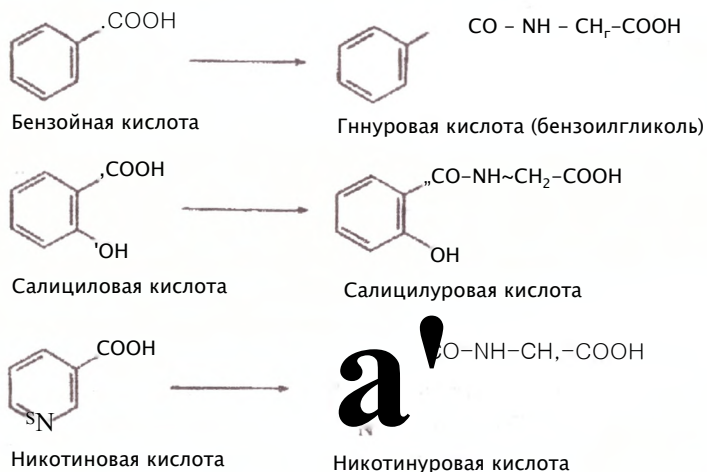


Ацетилирование. Процесс ацетилирования является основным путем метаболизма ароматических аминов, сульфаниламидов и некоторых чужеродных аминокислот. При ацетилировании происходит присоединение ацетильной группы к молекулам чужеродных соединений или метаболитов. Источником ацетильных

групп, реагирующих с чужеродными соединениями или метаболитами, является кофермент ацетил-КоА. Под влиянием фермента ацетилтрансферазы происходит перенос ацетильной группы от ацетил-КоА к соответствующим аминам, сульфидам и аминокислотам, подвергающимся конъюгации, и освобождается КоА.



Конъюгация с глицином. Ароматические карбоновые кислоты, замещенные бензойной кислотой и гетероциклические карбоновые кислоты с глицином (гликоколем) H_2N-CH_2COOH и другими аминокислотами образуют конъюгаты. Глициновые конъюгаты бензойной, салициловой, никотиновой и других кислот встречаются иод названием гиппуровые кислоты.

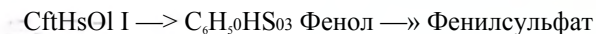


Алифатические карбоновые кислоты с глицином не образуют конъюгатов. В качестве конъюгирующего агента иногда может вступить цистеин, представляющий собой α-аминокислоту.

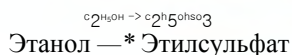
Конъюгация с глутатионом. Глутатион - сложный природный трипептид (глутаминил-цистеинил-глицин); с бензолом, нафталином и антраценом образует конъюгаты (меркаптуровые кислоты). Образование конъюгатов с глутатионом катализирует фермент глутатион-S- арилтрансфераза.

Конъюгация с сульфатами. Фенолы и спирты в организме конъюгируются с сульфатами. При этом образуются конъюгаты, представляющие собой эфиры этих веществ. В организме источником сульфатов, вступающих в реакции конъюгации, является 3-фосфоаденозин-5-фосфосульфат. Реакция образования конъюгатов спиртов и фенолов катализируется ферментом сульфотрансферазой.

Конъюгаты фенолов с сульфатами представляют собой сложные эфиры — арилсульфаты:



При конъюгации первичных алифатических спиртов с сульфатами образуются сложные эфиры — алкилсульфаты:



Двойная конъюгация. Некоторые чужеродные соединения и метаболиты имеют две и больше функциональных групп, с помощью которых они могут вступать в реакции конъюгации. Большинство таких соединений вступает в реакции конъюгации по одной функциональной группе. Однако некоторые чужеродные соединения и метаболиты образуют двойные конъюгаты за счет присоединения к их молекулам двух различных соединений или групп атомов. Так, известны чужеродные соединения, одновременно образующие конъюгаты с глюкуроновой кислотой и глутатионом или с глюкуроновой кислотой и сульфатами.

Однако в ряде случаев чужеродные вещества метаболизируются несколькими путями. Сложные эфиры гидролизуются с образованием кислот и спиртов. Спирты, в свою очередь, могут окисляться до кислот, которые вступают в реакции конъюгации с глицином. Сульфаниламиды могут метаболизироваться путем окисления и путем конъюгации с ацетатами. Нитросоединения восстанавливаются до аминов, которые затем ацетируются.

Скорость процессов метаболизма различных чужеродных соединений неодинакова. Процесс метаболизма некоторых чужеродных соединений не доходит до конца. Поэтому одни чужеродные соединения частично выделяются из организма в неизменном виде, а другие — в виде смеси, состоящей из чужеродных соединений, метаболитов и конъюгатов. Выше, на примере некоторых чужеродных соединений приведены основные типы процессов метаболизма. Метаболизм отдельных, токсикологически важных веществ, приведен в последующих главах книги при описании свойств, токсичности и методов анализа этих соединений.

16. Посмертные изменения лекарственных веществ и ядовитых веществ в трупах

После смерти происходит разложение тканей трупов, в результате чего образуются вещества, мешающие обнаружению и количественному определению ядовитых веществ, вызвавших отравление. Многие вещества, образующиеся при гниении трупов, дают такие же реакции, как и некоторые яды. Это обстоятельство может быть причиной ошибочных заключений о наличии ядов в органах трупов. Кроме того, в процессе разложения трупов химическим изменениям подвергаются и некоторые ядовитые вещества, вызвавшие отравление. При выборе методов обнаружения, количественного определения и выделения исследуемых веществ из трупного материала эксперт-химик должен учитывать возможность появления новых веществ в группных тканях в результате разложения и изменения состава, находящихся в них ядов.

Разложение биологического материала после наступления смерти

После наступления смерти под влиянием специфических клеточных ферментов, так называемых катепсинов, происходит аутолиз (самопереваривание) клеток, в результате чего белковые вещества разлагаются на более простые соединения. Катепсины содержатся в лизосомах клеток многих органов. Наибольшие их количества содержатся в клетках поджелудочной железы, печени, почек, селезенки. В меньших количествах они содержатся в других органах и тканях.

При жизни организма катепсины и некоторые другие гидролитические ферменты обладают незначительной активностью. Вызываемый катепсинами распад белков в живом организме быстро восполняется путем их синтеза. После смерти активность катепсинов значительно возрастает. При жизни ткани организма имеют рН 6,8...7,2, а после смерти рН тканей сдвигается в более кислую область, благоприятную для проявления активности катепсинов.

Таким образом, аутолиз является одним из ранних трупных явлений. Аутолизу в первую очередь подвергаются ткани трупов, наиболее богатые катепсинами (поджелудочная железа, печень, почки и др.). Более быстрому аутолизу тканей трупов способствует прижизненное их повреждение (воспаление, ожоги, обморожение). Известен ряд факторов, тормозящих процесс аутолиза (наличие в трупах фторидов, цианидов, соединений мышьяка, карбоксигемоглобина, сердечных гликозидов и др.) Уже через несколько часов после смерти бактерии, находящиеся в кишечнике, 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. Видовой состав бактериальной флоры, развивающейся в трупах (трупной флоры), зависит и от природы бактерий, находящихся в кишечниках. Чаще всего трупную флору составляют стрептококки и стафилококки.

Таким образом, разложение трупов вначале происходит в результате аутолиза, затем аутолизу сопутствует процесс гниения, который начинается через 3-4 ч после смерти. О начале гниения

трупа свидетельствует появление специфического гнилостного запаха. Дальнейшее, более глубокое, разложение тканей трупов происходит путем гниения, вызванного ферментами микроорганизмов. При гнилостном разложении белковых и других веществ образуется ряд более простых соединений, химические свойства которых могут быть подобны свойствам некоторых ядов. Это затрудняет химико-токсикологическое исследование некоторых ядов, находящихся в гнилостных органах и тканях трупов. Интенсивность процессов гниения трупов и состав образующихся при этом веществ зависят от видового состава микробной флоры, температуры, влаги, доступа воздуха и ряда других факторов.

При гниении белковых веществ образуются пептиды, которые разлагаются образованием аминокислот. Последние могут подвергаться дезаминированию выделением аммиака. Аминокислоты, содержащие серу разлагаются с выделением сероводорода. При гниении белков могут образовываться меркаптаны (тиоспирты и тиофенолы), органические кислоты, продукты их декарбоксилирования, а также амины, которые часто называют птомаинами (гiутресцин, кадаверин, этилендиамин и др.). При гнилостном разложении углеводов образуются органические кислоты, продукты их декарбоксилирования, альдегиды, кетоны, лактоны, оксид углерода (ГV).

Под влиянием гнилостных бактерий наступает окисление аминокислот и жиров с образованием спиртов, в смеси которых содержатся метиловый, этиловый и высшие спирты. Под влиянием ферментов кишечной палочки из глюкозы образуются различные количества пропилового, бутилового и метилового спиртов. Из лейцина образуется амиловый спирт, а из валина - изобутиловый. Перечисленные высшие спирты затем окисляются до альдегидов и соответствующих кислот.

Ф. Сельми в 1878 г. в гнилостных трупах обнаружил так называемые птомаины, получившие это название от греческого слова *Ptoma*, что означает мертвое тело (труп). К числу главных птомаинов вначале относили путресцин (тетраэтилендиамин) и кадаверин (пентаметилендиамин). Эти вещества считали наиболее токсичными из известных в то время веществ.

$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$ - тетраэтилендиамин - Путресцин.

$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_5-\text{NH}_2$ - пентаэтилендиамин - Кадаверин.

Позднее другие исследователи сообщили о выделении ими из загнившего биологического материала так называемых трупных алкалоидов (кониина, вератрина, стрихнина и др.), которые тоже относили к числу птомаинов. Гадамер обобщил данные литературы сг птомаинах и привел сводку, включающую 67 названий этих веществ. Доказательство принадлежности веществ, выделенных из гнилостных органов трупов, к числу трупных алкалоидов базировалось на незначительном числе неспецифических реакций осаждения и окрашивания. Так, например, если вещество, выделенное из трупа, давало такие же реакции, как и кониин, его называли «трупным кониинном».

С развитием органической и аналитической химии стало ясно, что «трупные алкалоиды» по элементному составу не идентичны соответствующим алкалоидам. Аналогичные выводы были сделаны и на основании результатов некоторых физико-химических методов анализа (хроматографии, спектрофотометрии и др.). Таким образом, установлено, что большинство птомаинов относится не к алкалоидам, а к другим азотистым веществам основного характера, которые мешают обнаружению алкалоидов, выделенных из биологического материала. Поэтому делать заключение о наличии алкалоидов, выделенных из гнилостного биологического материала, только на основании качественных реакций невозможно. Для указанной цели должны применяться кроме качественных реакции и физико-химические методы.

Токсичность птомаинов тоже оказалась спорной. После очистки игомаинов были получены вещества, обладающие меньшей юксичностью, чем птомаины, выделенные из трупов. Путресцин и кадаверин, полученные в лаборатории путем синтеза, тоже оказались менее токсичными, чем те, которые выделены из органов трупов. Поэтому токсичность птомаинов объясняется действием некоторых примесей, содержащихся в гнилостном биологическом материале наряду с птомаинами. К примесям относятся бактериальные токсины и ряд продуктов синтеза, образующихся в зрупном материале под влиянием бактериальных ферментов.

Описанные выше гнилостные процессы происходят в трупах в основном без доступа воздуха (в могилах). Однако в отдельных случаях трупы могут находиться и на поверхности или в местах, в которые хорошо проникает кислород воздуха. В этих случаях гниение трупов происходит под влиянием ферментов аэробных бактерий. Такие процессы разложения трупов называются тлением.

Тление. Этот вид гниения трупов в основном происходит под влиянием аэробных бактерий при доступе воздуха и небольшой влажности. Тление происходит значительно быстрее, чем гниение трупов в могилах.

При тлении в трупах образуются вещества, которые по химическому составу отличаются от веществ, образующихся при гниении трупов в могилах без доступа воздуха. При отсутствии воздуха в трупах при гниении образуется большее число соединений, чем при тлении. Кроме того, многие соединения, образующиеся при гниении без доступа воздуха, являются более токсичными, чем вещества, образующиеся при тлении. В процессе тления происходит быстрое обезвоживание трупов и создаются условия для появления червей, которые могут объедать труп до скелета, и плесневых грибов.

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

Жировоск является своеобразным состоянием тканей трупов, возникающим 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 эпидермис в труп проникает вода. Она вымывает кровь и ряд веществ из тканей, а затем происходит омыление жиров. 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 соли (мыла), которые и составляют жировоск. Он представляет собой твердую мылообразную или творожистую массу.

В результате образования жировоска труп сохраняет внешнюю форму. Внутренние органы трупа, находящегося в состоянии жировоска отсутствуют. На их месте обнаруживаются комки воскообразной массы. При судебно-медицинской экспертизе трупов или их частей, находящихся в состоянии жировоска, можно обнаружить следы ранее причиненных повреждений (огнестрельных ран, порезов и др.). В жировоске долгое время могут сохраняться и некоторые яды. Таким образом, 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 месяцев, а трупы новорожденных за 3-4 недели. В мумифицированных трупах длительное время могут сохраняться некоторые ядовитые вещества, вызвавшие отравления.

Выше при описании процессов разложения органов и тканей трупов были перечислены некоторые образующиеся при этом вещества. Однако список этих веществ не исчерпывается приведенными данными. В результате разложения трупов может образовываться около 1300 различных соединений. Многие из этих соединений дают такие же реакции, как и некоторые вещества, подлежащие исследованию при химико-токсикологическом анализе биологического материала на наличие ядовитых веществ.

Безусловно, такое большое число продуктов разложения трупов никогда не может одновременно содержаться в разлагающемся биологическом материале. Образование этих веществ, в трупах происходит поэтапно. На каждом этапе гниения трупов образуется определенное число продуктов разложения, которые подвергаются дальнейшим превращениям. 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 суток после наступления смерти. Однако в ряде случаев в химико-токсикологические лаборатории на анализ поступают органы трупов и биологические жидкости (кровь, моча), уже подвергшиеся гнилостным изменениям. Это объясняется рядом причин. Иногда трупы обнаруживаются только через несколько суток или месяцев после наступления смерти, а затем подвергаются вскрытию. В ряде случаев возникает необходимость производить эксгумацию трупов для судебно-медицинского и химико-токсикологического исследования.

17. Изменение ядов при разложении трупов

При гниении или тлении трупов ядовитые вещества, вызвавшие отравления, подвергаются различным превращениям. Характер этих превращений зависит от химической природы ядовитых веществ, трупной бактериальной флоры, доступа воздуха, влаги, времени гниения или тления трупов и от ряда других факторов.

В гниющих трупах ядовитые вещества, принадлежащие к различным классам органических соединений, разлагаются быстрее, чем неорганические ядовитые вещества. Из органических ядов наиболее быстро разлагаются сложные эфиры. Значительное число представителей этой группы ядовитых веществ не обнаруживается в трупах уже через несколько суток или недель после наступления 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. Литературные данные о сохраняемости органических ядовитых веществ, в трупах часто противоречивы. Сроки превращения этих ядов в трупах зависят от условий гниения.

В трупном материале более стойкими являются неорганические ядовитые вещества. Большинство этих веществ восстанавливается при гниении трупов. Ионы металлов в неорганических ядах,

имеющие высокую степень окисления восстанавливаются до ионов с низшей степенью окисления. Соединения мышьяка, фосфора, серы и других неметаллов могут восстанавливаться с образованием летучих соединений этих элементов с водородом. Соединения мышьяка и таллия могут сохраняться в трупе около 8-9 лет, соединения бария и сурьмы около 5 лет, соединения ртути сохраняются в трупах несколько месяцев. После этого соединения неорганические ядовитых веществ, проникают в почву и не всегда могут быть обнаружены в остатках гниющих или сгнивших трупов.

Глава 4. МЕТОДОЛОГИЯ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Химико-токсикологический анализ (ХТА) — это научно-обоснованные методы обнаружения и количественное определение ядовитых и сильнодействующих веществ и их метаболитов в биологических пробах живых лиц, в трупном материале и в вещественных доказательствах отравления.

При ХТА требуется быстро получить достоверные результаты, позволяющие установить диагноз и приступить к лечению или сделать судебно-медицинское заключение о причине смертельного отравления.

В химико-аналитической лаборатории в первую очередь необходимо соблюдать методологию *ХТА* и освоить методики определения:

- алкоголя и его суррогатов (алифатические спирты, их эфиры, хлорированные, ароматические углеводороды, кетоны, тормозные жидкости с этиленгликолем);
- алкалоидов и наркотических средств;
 - снотворных и психотропных лекарственных средств;
- сердечных гликозидов;
 - ядохимикатов различной природы и назначения;
 - соединения токсичных металлов;
- отравления угарным газом;
 - прижигающих жидкостей (концентрированные растворы кислот и щелочей) и др.

ХТА на приведенные группы токсичных веществ, проводятся в химико-токсикологических лабораториях: 1. Специализированного центра по лечению острых отравлений для объектов от живых лиц; 2. Наркологической службы или в Центре судебно-медицинской экспертизы МЗ РК и его филиалов для объектов от трупа и других вещественных доказательств.

Работа Специализированного центра по лечению острых отравлений, наркологической службы, а также региональных подразделений Центра судебно-медицинской экспертизы осуществляется в соответствии с требованиями уполномоченных органов - Министерств Юстиции страны и рекомендациями ВОЗ.

Химико-токсикологическая лаборатория этих учреждений должна быть обеспечена соответствующим помещением, оснащением, оборудованием, позволяющая выполнять, в полном объеме ХТА. Это, в первую очередь различные виды хроматографии (тонкослойная, газовая, газо-жидкостная, высокоэффективная жидкостная хроматография) и спектрофотометрические методы (электронная спектрометрия в ультрафиолетовой и видимой частях спектра). Эти методики надежны, экспрессны и позволяют работать с небольшим количеством биоматериала и других вещественных доказательств. В крупных административных центрах целесообразно создание централизованной лабораторий аналитической диагностики отравлений токсичными веществами. В них должен быть информационный банк аналитических и клинических данных по различным классам токсикантов и экологической обстановке в регионах. Для проведения испытаний в таких центрах необходимо иметь набор стандартных образцов сравнения лекарственных средств, вновь синтезированных наркотических и допинговых веществ, новой продукции бытовой химии и других токсикантов.

1. Особенности химико-токсикологического анализа при отравлениях

Главным требованием к ХТА объектов от живых лиц является быстрое получение результатов. Работа лаборатории должна быть круглосуточной, а расположение должно обеспечивать незамедлительную доставку проб от стационара.

Объектами ХТА являются кровь, спинномозговая жидкость, моча, рвотные массы, промывные воды желудка, а также связанные с отравлением вещественные доказательства: лекарственные препараты, растительные объекты (например, маковая соломка), органические растворители, средства бытовой химии, остатки пищи, неизвестные жидкости и др.

В некоторых перечисленных объектах возможно низкое содержание яда. Содержание некоторых сильнодействующих лекарственных средств (например, клофелина, резерпина, сердечных гликозидов) в организме пострадавшего может быть ниже предела обнаружения. Для их определения требуются

специальные методы изолирования и высокочувствительные физико-химические экспресс-методы анализа. Современные методы ХТА являются объективной основой правильного клинического диагноза, позволяют контролировать выведение (клиренс) токсичных веществ из организма в процессе детоксикации (мониторинг лечения).

Надежность получаемых результатов зависит от момента взятия биологической пробы. Для токсикантов разной химической природы существует определенный временной интервал между отравлением и отбором пробы, что связано с механизмами поступления, распределения, а также периодом полувыведения токсиканта.

Кроме того, при проведении ХТА следует принимать во внимание:

- характер отравления (острое или хроническое);
- количество принятого яда и массу тела (доза на единицу массы);
- биодоступность токсиканта и его связывание с белками;
- синергизм/антагонизм действия с другими химическими веществами;
- пол пострадавшего;
- состояние здоровья (сопутствующие заболевания).

Пренебрежение любым из перечисленных факторов может стать причиной ошибки анализа и привести к ложноотрицательному или ложноположительному результату. Получение ложноотрицательного результата возможно при малой дозе токсиканта или в результате применения низкочувствительной методики исследования, неправильном хранении биологической пробы на исследование «летучих ядов», отсутствии токсикокинетических характеристик, умышленном разбавлении пробы или ее подмене. Ложноположительный результат может быть получен, например, при обнаружении в биологической пробе лекарств, не являющихся причиной отравления и применявшихся пострадавшим перед отравлением в лечебных целях. *По данным, приведенным в учебнике «Токсикологическая химия» под ред. профессора Т. В. Плетеновой «В целом достоверность отрицательных заключений составляет около 70%, а достоверность положительных заключений превышает 90%.*

Например, при определении опиатов (методы ГХ/МС и поляризационного флуороиммуноанализа — ПФИА) в 730 образцах мочи наркоманов, находящихся на лечении в одной из городских наркологических больниц, из 437 положительных анализов 7 оказались ложноположительными (1,6%), а из 273 отрицательных ошибочными оказались 13 (4,8%)»

В химико-токсикологической лаборатории ведется журнал регистрации анализов. Это юридический документ. Журнал должен быть прошнурован и содержать пронумерованные страницы. В журнал вносят:

- название отделения, дату, номер анализа, фамилию и инициалы пострадавшего, номер истории болезни, диагноз (предварительный и окончательный);
- объект исследования (кровь, моча, волосы);
- время отбора и доставки биологической пробы;
- выбранный метод исследования и результат проведенного анализа. Регистрацию завершает подпись специалиста клинической лаборатории, выполнявшего анализ.

Для быстрого лабораторного определения природы токсиканта необходим первичный клинический диагноз отравления, на основании которого можно провести *направленный анализ* биожидкости. *Ненаправленный* лабораторный поиск токсиканта с последовательным определением в биологическом материале веществ разных классов (например, барбитуратов, фенотиазинов, хлорированных углеводов, опиатов и др.) занимает много времени, поэтому результат анализа может потерять свое клиническое значение. Чаще всего поступающие для исследования материалы не содержат указаний на направление поиска. В сопроводительных документах, как правило, пишут: «Отравление токсикантом неизвестной природы». В таком случае требуется проведение ненаправленного ХТА.

Схема ХТА обычно следующая. На *догоспитальном этапе* бригада скорой помощи проводит сбор вещественных доказательств отравления (остатки лекарственных препаратов — порошки, таблетки, ампулы, подозрительные жидкости, остатки пищи). Для транспортировки жидкости переливают в чистую емкость и тщательно закупоривают. Отобранные образцы порошков помещают в разные конверты, печатают и маркируют.

Для проведения ХТА у живых лиц берут пробы мочи и промывных вод желудка при отравлении нераспознанным ядом (первая порция 200 мл). Жидкости наливают в чистую сухую посуду, которую закупоривают пробкой. На посуду наклеивают этикетку с указанием даты и времени отбора пробы, фамилии, имени, отчества пострадавшего, номера истории болезни.

Кровь объемом 10 мл отбирают в чистый сухой флакон, содержащий 2—4 капли антикоагулянта (гепарина, цитрата натрия). Флакон закрывают пробкой, содержимое флакона перемешивают и пробу маркируют.

При взятии пробы крови для исследования на содержание алкоголя нельзя дезинфицировать поверхность кожи этанолом или органическими растворителями. При хранении более 1 суток при комнатной температуре в крови образуется до 1 ‰ этанола (ложно положительный результат).

Для замедления метаболических процессов отобранные пробы хранят в холодильнике. Однако низкие температуры не всегда предотвращают биотрансформацию ксенобиотиков, например, при хранении мочи здорового человека в холодильнике в ней образуется за сутки до 0,5 ‰ этанола, а при хранении мочи больного сахарным диабетом образуется до 1,1 ‰ этанола. В воздушном слое над кровью или мочой во флаконе возможно окисление этанола, что приводит к снижению его содержания в анализируемом образце.

При подозрении на отравление веществами, имеющими очень короткую токсикогенную фазу, например угарным газом, берут кровь из вены в чистые флаконы из-под антибиотиков с резиновыми пробками, куда заранее добавляют гепарин как антикоагулянт (1 капля на 5 мл крови).

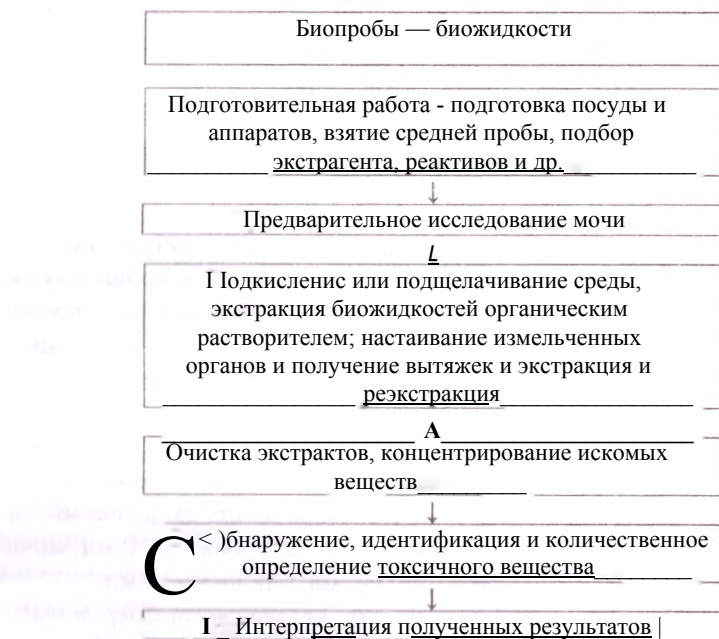
При поступлении пострадавшего в стационар самостоятельно до начала инфузионной терапии берут пробы крови и мочи. В стационаре врач-токсиколог на основании клинических симптомов и результатов предварительных испытаний биожидкостей и вещественных доказательств определяет направление поиска токсиканта.

При химико-токсикологическом исследовании сначала анализируют пробы мочи, осуществляя некоторые частные капельные химические реакции, хроматографический скрининг щелочных, нейтральных и кислых извлечений (при определении

лекарственных токсикантов), летучих веществ (при определении алкоголя и его суррогатов).

На начальном этапе ХТА изолируют токсичное вещество из биологического материала. Это достигается экстракцией органическими растворителями при различных рН, реэкстракцией, дистилляцией, сорбцией или минерализацией (при определении металлических ядов).

Далее проводится качественное обнаружение токсиканта химическими реакциями или инструментальными методами. При качественном обнаружении какой-либо группы веществ, возможно их одновременное количественное определение в той же пробе.



Общая схема изолирования и определения яда органической природы при проведении химико-токсикологического анализа биоматериала.

Независимо от природы яда общая схема изолирования его из биоматериала включает этапы подкисления или подщелачивания пробы, экстракции в органический или водный растворитель,

реэкстракции в водный или органический раствор при разных значениях рН (рис. 1). Возможны изменение числа и последовательность стадий экстракции, природы растворителей, оптимизация значений рН и выбора органического растворителя. Особенности проведения ХТА при определении алкалоидов, лекарственных веществ и других токсикантов изложены в методиках отечественных и зарубежных ученых, в соответствующих разделах данного издания.

Современное аналитическое оборудование химико-токсикологической лаборатории и специфика объектов исследования требуют разносторонней медико-биологической и физико-химической подготовки врача клинической лабораторной диагностики или химика-аналитика. Как правило, для интерпретации результатов анализа и оперативного лечения отравления необходим тесный контакт специалиста, осуществляющего анализ, и врача-токсиколога. Например, химик-аналитик, не имеющий специальной медико-биологической подготовки, может не знать, что присутствие метгемоглобина или ацетона в крови иногда связано не только с отравлением, но и с заболеванием, а отсутствие или обнаружение этанола в крови может быть результатом неправильного хранения пробы. Окончательный диагноз отравления ставит врач-токсиколог на основании результатов ХТА в комплексе с данными клинического обследования.

Таким образом, основными особенностями химико-токсикологического анализа при острых отравлениях являются:

Небольшое количество объекта исследования. В зависимости от возраста и состояния больного могут взяты: кровь - 1-10 мл, моча - 2-50 мл, спинномозговая жидкость - 1-2 мл, слюна - 5-10 мл.

1. *Химико-токсикологический анализ является многократным.* И проводится в течение всего периода детоксикации. Поэтому методики исследования должны легко и быстро выполняемы, а также достоверно воспроизводимы.

2. *Выявление фазы распределения вещества в организме.* Проводится путем определения концентрации ядовитого вещества в крови и моче. Если концентрация ядовитого вещества выше в крови, чем в моче, больной находится в *фазе резорбции*, если

концентрация яда выше в моче, чем в крови, - в *фазе элиминации*. I период всасывания и выведения яда называется *токсикогенной стадией отравления*. В этой стадии необходим химико-токсикологический анализ, чтобы выбрать и оценить эффективность применяемых методов детоксикации.

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

2. Экспертиза алкогольного, наркотического и токсикоманического опьянения

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

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

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

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

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

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

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

Сопроводительные документы

Направление на химико-токсикологическое исследование. В нем указывается дата, наименование лаборатории, ФИО пострадавшего или освидетельствуемого, перечисляются объекты и их количество, указывается код пробы, дата и время ее отбора, предварительный клинический диагноз и цель исследования (на какое вещество или группу веществ требуется провести анализ). Документ подписывает дежурный врач и медсестра (фельдшер).

Особенности анализа

1. Объекты и извлечения из них загрязнены эндогенными соединениями, продуктами метаболизма наркотических средств и различных химических и лекарственных веществ.

2. Особые трудности представляет анализ в случае иолинаркомании и политоксикомании.

3. При анализе чаще всего используют скрининговые методы (ТСХ, ВЭЖХ, ГЖХ) и иммунохимические способы.

4. При оценке результатов химико-токсикологического исследования необходимо учитывать, что некоторые вещества (например, опиаты) определяются лишь при значительных концентрациях в биологических жидкостях, быстро разрушаются и выводятся из организма за 8 ч. Другие соединения могут содержаться в биологических жидкостях длительное время (например, барбитураты обнаруживают в течение нескольких дней, а тетрагидроканнабинол в моче обнаруживается в течение 3-х суток).

5. Исследование на наличие алкоголя должно проводиться в течение 1 ч после получения биологической пробы на анализ. Допускается хранение пробы при асептическом ее отборе в холодильнике при 0°C не более суток.

6. Возможность фальсификации пробы и сокрытия факта употребления наркотических и одурманивающих веществ.

Примечание. Химико-токсикологическая экспертиза на указанные вещества может быть выполнена, в соответствии с постановлением следственных органов, а также по направлениям врачей, в химических лабораториях токсикологических, наркологических центров и в химико-токсикологических лабораториях ЦСМ МЮ РК.

3. Химико-токсикологический анализ объектов исследования при производстве судебно-медицинской экспертизы (химико-токсикологическая экспертиза)

Химико-токсикологический анализ объектов исследования при смертельных отравлениях проводится в химико-токсикологических лабораториях Центра судебной медицины МЮ РК в соответствии требованиями «Инструкции по организации и производству судебно-медицинской экспертизы» утвержденного приказом МЗ РК № 368 от 20 мая 2010 г, изложенного в предыдущей главе и называется химико-токсикологической экспертизой. Задача, которая при этом ставится перед судебно-медицинским экспертом-химиком при производстве химико-токсикологической экспертизы это: обнаружение и количественное определение ядовитых, сильнодействующих веществ в предоставленных объектах исследования с целью получения объективных данных, необходимые для судебно-следственных органов при раскрытии преступлений, а также для других заинтересованных юридических лиц.

Согласно УПК РК, *«экспертиза назначается в тех случаях, когда при производстве дознания, предварительного следствия и при судебном разбирательстве необходимы специальные познания в науке, технике, искусстве, ремесле».*

Экспертиза проводится по предложению органов дознания, следствия, суда и по направлениям судебно-медицинских экспертов, врачей токсикологических центров, наркологических диспансеров, санитарных и других служб. При этом эксперт применяет современные методы исследования с соблюдением минимальных сроков проведения анализа и использования методических, информационных и организационно-методических указаний уполномоченного органа. Ход исследования тщательно фиксируется в рабочем журнале эксперта и используется для составления заключения экспертизы.

4. Этапы химико-токсикологического анализа

Прием объектов на исследование. Прием объектов на исследование производится согласно инструкции по производству химико-токсикологической экспертизы. Химико-токсикологическая экспертиза производится только тогда, когда эксперт убежден, что полученный на анализ объект - именно тот, который был направлен, и что в процессе транспортировки с ним не произошло никаких изменений, кроме естественных процессов.

Выбор объекта для исследования и его количества. Для анализа берут тот объект, в котором накапливается подозреваемое ядовитое вещество. Количество объекта для анализа 100 или 50 г. Однако, имеются методики, где на исследование берут навеску 20 г и используют в работе высоко чувствительные инструментальные методы.

Выбор метода изолирования яда из объекта зависит от природы предполагаемого ядовитого вещества или группы ядовитых веществ.

Очистка извлечений и концентрирование ядовитых веществ, изолированных из объекта проводятся в соответствии технологическим регламентом выбранной методики.

Обнаружение ядовитого вещества и его количественное определение. Проводится теми методиками, которые хорошо усвоены экспертом-химиком и отвечает требованиям GLP, принятой в производстве химико-токсикологической экспертизы.

Интерпретация результатов полученных в процессе химико-токсикологической экспертизы должна проводиться на основе научных и объективных данных, приведенных в официальных источниках литературы (информационного банка).

Составление заключения экспертизы по результатам исследования.

Должна выполняться с соблюдением соответствующих правил оформления заключения химико-токсикологических экспертиз.

5. Особенности химико-токсикологической экспертизы

1. *Многообразие ядов и объектов исследования.* Объектами химико-токсикологической экспертизы являются внутренние органы трупов людей, биологические жидкости (кровь, моча,

слюна), волосы, ногти, пищевые продукты, напитки, предметы домашнего обихода, косметические средства, остатки лекарственных веществ, пестициды, предметы бытовой химии, посуда, воздух, земля, одежда и тлї. Эксперт, обладая соот ветствующими знаниями, умениями и навыками, обязан найти правильный подход к анализу любого объекта, чтобы дать объективное заключение по результатам исследования.

2. *Необходимость изолирования* из большой навески или объема объекта малых (часто следовых) количеств ядовитого вещества и его продуктов превращения, которая могла стать причиной отравления. От выбора метода изолирования зависит ход исследования и его результаты.

3. *Химико-токсикологический анализ* проводится чаще всего не с химически чистыми индивидуальными веществами, а смесями их с эндогенными соединениями и продуктами первичного и вторичного метаболизма, изолируемыми вместе с ядовитым веществом из биологических объектов. Эти соединения могут иметь общую структуру или свойства с ядовитым веществом и влиять на результаты анализа. Кроме этого, в отдельных случаях обнаружения метаболитов является основой для дачи заключения нативного ядовитого вещества. Например, обнаружение морфина и 6-МAM в биологических жидкостях при исследовании на наркотические вещества является основой для дачи заключения приема героина освидетельствуемым.

4. *Правильная оценка результатов и исключение ложноположительных и ложноотрицательных заключений.* На практике судебно-медицинской экспертизы встречается необходимость установления причин смерти от отравления, после проведенных реанимационных мероприятий на стационаре. А также рч г токсичных элементов являются составной частью организма человека и животного (например, микроэлементы). Они могут быть обнаружены в ходе исследования. Поэтому особенностью исследования является необходимость правильной оценки результатов экспериментов.

5. *Изменение самого объекта* в зависимости от условий хранения. На экспертизу могут доставляться гнилостно-разложившиеся объекты. Анализ таких объектов затруднен присутствием трупных ядов (птомаинов), а также продуктов распада тканей под действием ферментов и бактерий.

6. *Анализ* может быть *общим (нецеленаправленным)*, когда необходимо провести исследование на неизвестное ядовитое вещество. В этом случае эксперт пользуется перечнем, приведенным в Инструкции по организации и производству судебно-медицинской экспертизы, утвержденным приказом МЗ РК № 368 от 20. 05. 2010 г. в котором определены списки веществ, на которые необходимо провести обязательное исследование. Анализ может быть *целенаправленным*, когда по обстоятельствам дела предполагается или известно, каким веществом или группой веществ произошло отравление. В этом случае достаточно подтвердить или исключить наличие данного вещества.

7. *Чувствительность* используемых для химико-токсикологического анализа методик должна быть в пределах не ниже предполагаемых токсических доз. Обычно предел обнаружения для аналитических методик составляет 10^{13} — 10^6 г на взятую для исследования пробу. В отдельных случаях должны применяться методики не чувствительные к естественно содержащимся компонентам ткани.

6. Документация химико-токсикологических экспертиз

При выполнении любого вида химико-токсикологических экспертиз эксперт постоянно проводит записи в рабочем журнале, связанные с исследованием объектов исследования, такие как: взятия для анализа навески объекта, основные операции при производстве изолирования ядовитого вещества, техника выполнения и результаты качественных реакций, данные и расчеты по количественному определению.

На основе записей на рабочем журнале эксперт составляет заключение химико-токсикологической экспертизы: К заключению химико-токсикологической экспертизы по возможности должны быть приложены микрофотографии полученных кристаллов, налетов (например, в трубке Марша), продуктов реакций (например, «берлинской лазури», «серебряного зеркала»), которые подтверждают правильность сделанных экспертом выводов.

7. Выбор методов изолирования ядовитых веществ

Объективность и достоверность результатов ХТА является главной задачей химико-токсикологической экспертизы (исследования), проводимой в соответствии с постановкой задач сотрудниками уполномоченных официальных органов.

Объективность и достоверность результатов ХТА обеспечиваются при соблюдении условий: а) правильного приема в соответствии с требованиями нормативных документов, а также оценки состояния и природы объектов на исследование, исключающее их подмены, неправильной упаковки, консервирование, транспортировки и хранения; б) правильного составления плана исследования, исходя из поставленных вопросов и информацией, изложенная в сопроводительных документах, а также с учетом данных предварительных испытаний; в) качественного выполнения задачи, *изолирование* искомым ядовитых веществ из объектов исследования, которое является ответственной стадией ХТА, обеспечивающее достижения объективных результатов на следующих этапах — обнаружения и количественного определения ядовитых веществ в. Ответственность операции *изолирования* из объектов исследования объясняется тем, что только здесь обеспечивается максимальное, без потерь, выделение, очищение от сопутствующих примесей и концентрирование исследуемого ядовитого вещества, особенно при производстве химико-токсикологической экспертизы биологического материала. В то же время процесс изолирования основывается на физических — прежде всего растворимости и химических свойствах — тип связи, основность, амфотерность и др. искомого или группы ядовитых веществ и их же свойства ядовитых веществ лежат в основе для их разделения и концентрирования, а также для их обнаружения, идентификации и количественного определения. При выполнении ненаправленного анализа на объекты исследования используют общую схему изолирования на группы токсичных веществ, входящих в список веществ, подлежащих обязательному химико-токсикологическому исследованию.

Конечный выбор метода изолирования определяется: а) установочными вопросами, изложенных в постановлении работников следственных органов, прокуратуры, определений суда и направлений судебно-медицинских экспертов а также врачей

медицинских учреждений; б) обстоятельствами дела, изложенными в сопроводительном документе и результатами предварительных испытаний; в) возможностью выбранного метода изолирования для максимального и качественного выделения ядовитого вещества, выполнения эффективной очистки извлечений с методами последующего обнаружения, идентификации и количественного определения ядовитого вещества в извлечении.

В соответствии с классификацией токсикологически важных веществ в химико-токсикологической практике для изолирования ядовитых веществ из представленных объектов используются следующие методы:

1. Методы изолирования подкисленным спиртом (Стаса-Отто, Е.М Саломатина), изолирования подкисленной водой (А.В Васильевой: В.Ф. Крамаренко, В.И Поповой, Степанова-Швайковой), изолирования подщелоченной водой П. Валова, изолирование нейтральным ацетоном В.А. Карташова изолирование органическими растворителями для группы веществ, изолируемых из объектов исследования методами экстракции и сорбции: лекарственные, наркотические вещества и пестициды.

2. Метод перегонки с водяным паром, микродиффузии и «микрперегонки» для группы веществ, изолируемых из объектов исследования методами дистилляции: «летучие» яды.

3. Методы «сухого озоления» и «мокрой минерализации» для группы веществ, изолируемых из объектов исследования методами минерализации: «металлические» яды, соединения фтора.

4. Метод экстракции водой в сочетании с диализом для группы веществ, изолируемых из объектов исследования настаиванием водой в сочетании с диализом: минеральные кислоты, щелочи, нитриты, нитраты.

5. Группа веществ, не требующих применения методов изолирования их из объекта исследования: вредные пары и газы, оксид углерода.

8. 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 могут дать совершенно другие результаты. При смертельных отравлениях вещественные доказательства вторично не могут быть предоставлены.

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.

В ряде случаев результаты наружного осмотра объектов исследования, обнаружение в них инородных включений, определение рН среды, запаха и окраски объектов позволяют предположить, чем произошло отравление, и включить в план химико-токсикологического анализа исследование предполагаемого вещества.

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 с данными в сопроводительном документе, приступают к вскрытию упаковки, что делается осторожно, чтобы предотвратить попадание в сам объект частей печати или упаковки.

Определение наличия инородных включений. При осмотре, после вскрытия упаковки, содержимого желудка невооруженным глазом, а затем с помощью лупы или микроскопа в нем могут быть обнаружены фарфоровидные крупинки оксида мышьяка (III), призматические кристаллы нитрата стрихнина, кишечнорастворимые таблетки или капсулы с характерными признаками наружной оболочки, семена или части ядовитых растений и др. Обнаруженные подозрительные инородные включения отбирают пинцетом и производят их исследование. Исследование частей растений, грибов, семян и других включений растительного происхождения производится лицами, имеющими познания в области фармакогнозии.

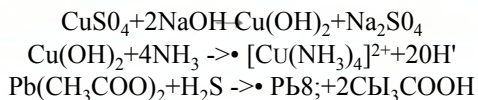
Определение рН среды проводится в содержимом желудка и имеет значение для предварительного решения вопроса о веществах с кислотно-основными свойствами, которые могли быть причиной

отравления. С этой целью применяют индикаторные бумажки, пропитанные фенолфталеином, лакмусом, конго красным и универсальным индикатором. Для этого 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 $pH < 3$. Если при разбавлении водной вытяжки в 5-10 раз очищенной водой красная бумажка конго посинеет, можно говорить о наличии минеральных кислот в объекте. Слабокислая реакция среды ($pH = 4,0-6,5$) объекта может быть обусловлена продуктами кислотного брожения, малым количеством органических кислот. При наличии в объекте щелочей красная лакмусовая бумажка синее, фенолфталеиновая - краснеет, универсальная индикаторная бумажка показывает $pH > 7$. 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 раствором ацетата свинца, смоченную щелочным раствором сульфата меди. Колбу нагревают. Если в объекте присутствует аммиак, красная лакмусовая бумажка меняет цвет на синий, «медная» принимает также синее окрашивание, а «свинцовая» остается без изменения. Если в объекте начались процессы гниения, то образовались эн-

догенные сероводород и аммиак. В этом случае изменяют цвет все три бумажки: красная лакмусовая и «медная» - на синий цвет, «свинцовая» - на черный. При таком результате делают вывод о невозможности обнаружения аммиака в данном объекте.



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

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 запахов сероводорода и аммиака. Например, запахи горького миндаля и пиридиновых оснований указывает на возможное отравление цианидами и денатурированным спиртом. Также можно ощутить характерный запах фенола, сивушного масла, хлороформа, ацетона, формальдегида, этилового спирта и других пахучих веществ.

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

Например, желтая окраска стенки пищевода и желудка указывает на возможное отравление хроматами, концентрированной азотной кислотой, некоторыми анилиновыми красителями, пикриновой кислотой, акрихином. Зеленое, синее или фиолетовое окрашивание встречается при отравлении солями меди и некоторыми красителями, черное окрашивание (с обугливанием) слизистой желудка или одежды может дать указание на наличие концентрированной серной кислоты и т.д. Биологические жидкости (кровь, моча) могут также иметь необычную окраску при отравлении некоторыми ядовитыми веществами. Например, при попадании в организм фенола моча обычно окрашена в оливковый

или темно-зеленый цвет за счет продуктов окисления фенола. При отравлении нитробензолом, анилином кровь приобретает шоколадную окраску, при отравлении нитритами, бертолетовой солью - красно-коричневую, при отравлении оксидом углерода - алию.

По ряду причин консервирование биологического материала этиловым спиртом является нежелательным. Этиловый спирт может быть причиной отравления. Кроме этого, наличие в биологическом материале этилового спирта как консерванта мешает разрушению биологического материала при исследовании его на наличие металлических ядов. Поэтому перед разрушением таких объектов необходимо освобождать их от этилового спирта.

9. Предварительные пробы в химико-токсикологическом анализе

В настоящее время известны тысячи веществ, которые могут быть причиной отравлений. Для исследования биологического материала, поступившего в химико-токсикологические лаборатории, на каждое вещество потребовалось бы много времени и очень большое количество анализируемых объектов. Чтобы рационально расходовать биологический материал, присланный на исследование, и сократить время анализа СМЭ-химик (химик-токсиколог) должен составить хорошо продуманный план исследования и исключить многие вещества и лишние операции из этого плана.

Для составления плана химико-токсикологического анализа большое значение имеют положительные или отрицательные результаты предварительных проб на наличие или отсутствие токсических веществ в исследуемых объектах.

На основании только предварительных проб нельзя сделать окончательный вывод о наличии предполагаемого вещества или группы веществ в исследуемом объекте.

При отрицательном результате предварительных проб на соответствующие вещества дальнейшее исследование их не проводят и не включают в план химико-токсикологического анализа. Следовательно, предварительные пробы в химико-токсикологическом анализе имеют определенное значение только при их *отрицательном* результате.

Исторически применяемые предварительные пробы позволяли установить принадлежность ядовитых веществ к органическим или неорганическим соединениям, кислотам, щелочам, окислителям, восстановителям, определять «металлические яды» по окраске пламени или по окраске «перлов буры» и др.

В настоящее время химики-токсикологи разработали способы выполнения предварительных проб на наличие ядовитых веществ в извлечениях, моче, крови и плазме скрининговыми методами. Подробное описание исследований на группы токсических веществ будут описаны при изучении методов ХТА соответствующих разделов токсикологической химии.

Выполнение предварительных проб на многие вещества описано в руководстве по химико-токсикологическому анализу Е. Г. Кларка. К числу этих веществ относятся: метиловый и этиловый спирты, хлороформ, производные алифатических углеводородов, барбитураты, салициловая кислота, кодеин, аминазин, diaзепам, ноксирон и др.

Описываемые в соответствующих разделах книги предварительные пробы «скрининговыми» методами могут быть использованы и в качестве экспресс-методов анализа крови, мочи, промывных вод желудка лиц, поступивших в лечебные учреждения по поводу острых отравлений неизвестным ядом. Однако результаты исследования указанных объектов с помощью экспресс-методов на неизвестные яды необходимо подтвердить исследованиями с помощью других реакций и методов.

Указанные предварительные пробы на наличие токсических веществ в моче и крови являются чувствительными, но не специфическими. Ввиду высокой чувствительности этих проб в биологических жидкостях можно обнаружить не только токсические, но и терапевтические дозы принятых веществ. При исследовании токсических веществ в биологическом материале методами «скрининга» различные исследователи рекомендуют хроматографию в тонких слоях сорбентов и сочетание этого метода химическими и другими физико-химическими методами (спектрофотометрия, газовая хроматография и др.).

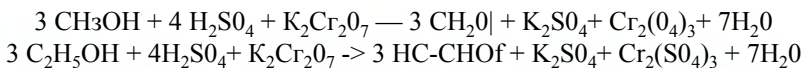
Предварительные испытания преследуют цель сократить время исследования объекта, что особенно важно при ненаправленном анализе. Такие испытания позволяют сузить круг веществ в окончательном испытании и определить направление его основного исследования. Обычно для предварительных испытаний подбирают групповые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

9.1. 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).

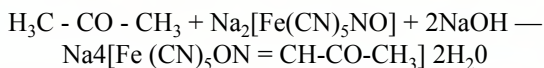
Испытание на этиловый и метиловый спирты. К моче добавляют дихромат калия и серную кислоту. При наличии спиртов постепенно появляется зеленое окрашивание. Спирты окисляются до соответствующих альдегидов, а хром (VI) восстанавливается до хрома(III), соли которого окрашены в зеленый цвет (основа пробы по методу с трубкой Шинкаренко). Аналогичного результата можно добиться с реакцией калия перманганатом в кислой среде (проба Раппопорта). Реакции неспецифичны.



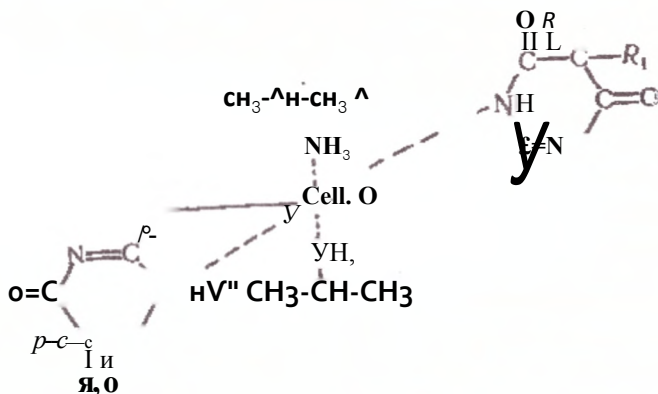
Испытание на алкилгалогениды. К моче добавляют гидроксид натрия и пиридин. При нагревании на водяной бане появляется розовое или красное окрашивание. В сильнощелочной среде при нагревании хлороформ вызывает расщепление пиридинового кольца с образованием иолиметина (реакция Фудживара).

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

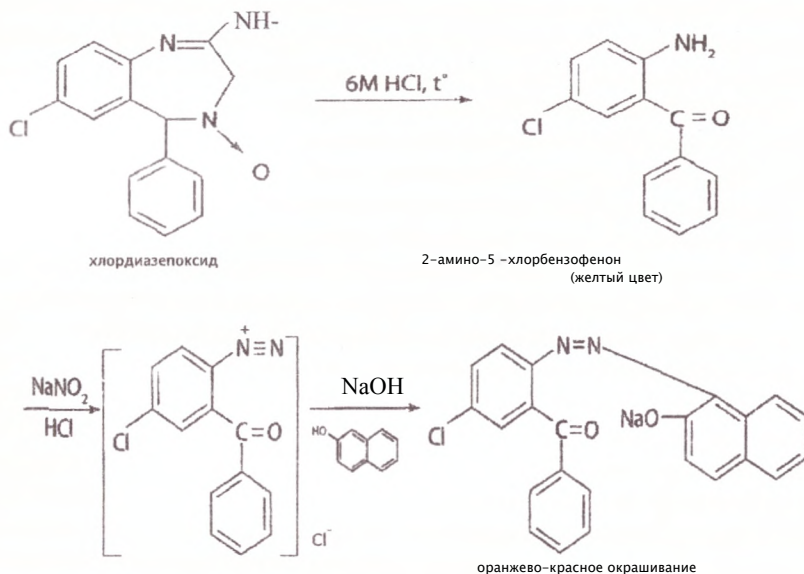
Испытание на ацетон. К моче добавляют растворы гидроксида и нитронруссида натрия - появляется красное или красно-оранжевое окрашивание, которое при добавлении уксусной кислоты переходит в вишнево-красное.



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



Испытание на хлордиазепоксид. Экстрагируют хлордиазепоксид из мочи хлороформом при значении pH= 9-10, хлороформ испаряют, остаток гидролизуют 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 (раствор формалина в концентрированной серной кислоте) 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.

9.2. Характеристика объектов химико-токсикологического анализа

Характерной особенностью химико-токсикологического анализа, как было отмечено ранее, является большое разнообразие объектов, которые могут стать предметом исследования. Основными и наиболее часто встречающимися объектами из трупа являются печень, почки, мышечная ткань, кровь, моча, слюна, волосы, ногти в практике химико-токсикологической экспертизы и кровь, моча, промывные воды желудка, смывы с пальцев рук и ротовой полости, спинномозговая жидкость, слюна, волосы, ногти при ХТА объектов от живых лиц. Знание состава исследуемого объекта, поведения и превращения ядовитого вещества в нем имеет особое значение при выборе способа пробоподготовки и метода изолирования чужеродного соединения в случае отравления им.

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

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

Наибольшее число белков в тканях представлено альбуминами и глобулинами. Изоэлектрическая точка у альбуминов наблюдается при значении $pH=4,8$, у глобулинов - при значении $pH=5,4$. Альбумины делятся на растворимые в воде и нерастворимые в насыщенных растворах сернокислого аммония. Глобулины нерастворимы в воде, но растворимы в ней в присутствии

различных солей. С глобулинами в организме образуют прочные связи «металлические» яды.

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

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

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

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

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

В плазме содержатся 7,5 мг/мл минеральных солей, 4-8 мг/мл липидов, в том числе 2-2,5 мг/мл фосфолипидов. В плазме (сыворотке) находится много эндогенных низкомолекулярных органических веществ. Среди них гормоны, биогенные амины, витамины, креатин, креатинин, билирубин, мочевая кислота, мочевины и др. Эти соединения могут потенциально мешать проведению химико-токсикологического анализа на ядовитые и наркотические вещества. Многие токсические вещества связываются в крови с белками (иногда до 90%), в основном с альбуминами, реже с глобулинами.

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

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

концентрацией анализируемого вещества в слюне и его концентрацией в плазме крови.

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

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

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

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

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

В последние годы установлено, что в волосах наркоманов обнаруживаются опиаты, амфетамины, кокаин, каннабиноиды, фенциклидин, метаквалон и другие яды. Возникает возможность обнаружения лекарственных, наркотических, психотропных средств, сильнодействующих и одурманивающих веществ,

некоторых «металлических» ядов в волосах в отдаленные сроки после окончания их приема и даже в тех случаях, когда анализ биологических объектов дает отрицательный результат. В литературе описаны случаи обнаружения опиатов в волосах ирландского поэта Джона Китса спустя 167 лет после смерти. Известно обнаружение морфина в волосах египетской мумии через несколько тысяч лет после гибели организма. Бензоилэксгонин был обнаружен в мумии человека, жевавшего листья кока -2000 лет назад.

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

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

9.3. Подготовка объектов к изолированию ядовитых веществ

Внутренние органы (печень, почки, мышечная ткань). Органы измельчают до размеров кусочков 0,8 x 0,8 x 0,8 см. В соответствии с законом диффузии более мелкое измельчение приводит к увеличению экстракционной поверхности и одновременно к значительному увеличению количества балластных эндогенных соединений (белков, ферментов, продуктов распада белковых молекул, пигментов и др.) в извлечении. При этом химик вынужден будет применить особые способы очистки, что приведет к потере токсических веществ, особенно при их следовых количествах в объекте.

Рекомендуется использовать также *вымораживание* объекта при температуре -30 - 40°C . При этом в органах образуются льдинки, которые разрывают клетки, ткани и способствуют выходу токсических веществ в окружающую среду, что увеличивает процент изолирования искоемых соединений. С целью повышения извлечения количества ядовитого вещества из ткани может быть рекомендовано растирание биоматериала с кварцевым песком.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ферментативный гидролиз проводится в присутствии одного или смеси ферментов Р-сульфатазы и В-глюкуронидазы в мягких условиях, что уменьшает образование побочных продуктов, и

гидролизат получается более чистым. Существенным недостатком метода являются необходимость соблюдения строгих условий гидролиза: рН, температуры, состава буфера, активности ферментов, - а также длительность процесса (12-20 ч). Легче гидролизуются конъюгаты, образованные через кислород фенольного гидроксила, более длительно - конъюгаты, связанные через кислород спиртовой (гидроксильной) группы.

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

Слюна. Для снижения активности ферментов слюну при хранении замораживают. Перед экстракцией ее разбавляют очищенной водой в отношении 1:3, после чего экстрагируют токсические вещества органическими растворителями при соответствующем значении рН.

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

ГЛАВА 5. МЕТОДЫ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

В практике химико-токсикологического анализа используются различные методы аналитической химии, обеспечивающие разделение компонентов и очистку от сопутствующих веществ (белки, липиды, аминокислоты, жиры и др.), а так же обнаружение и количественное определение ядовитых соединений. Наибольшее применение нашли следующие методы: жидкость-жидкостная экстракция, различные виды адсорбционной и распределительной хроматографии, спектральные методы, перекристаллизация, переосаждение, перегонка, возгонка и другие. Какие бы методы не применялись, в химико-токсикологических исследованиях главным является получение объективных и статистически достоверных результатов. Эта задача может быть достигнута при условии обеспечения ряда обстоятельств. К ним можно отнести соблюдения правил надлежащей лабораторной практики - GLP. Обеспечения правил соблюдения GLP достигается, если выполняются требования:

- ио размещению помещения, оборудованное необходимыми приборами, аппаратами, реактивами, всеми лабораторными принадлежностями;
- наличия информационного фонда;
- обеспеченность современными вспомогательными техническими средствами;
- обеспеченность квалифицированными специалистами;
- использование в работе калиброванных (поверенных на соответствия требованиям ГОСТ-ов) и сертифицированных средств измерений;
- использование хорошо воспроизводимых и валидированных методик исследования, стандартных образцов токсических веществ и др.

Однако, надо помнить о том, что каждый результат анализа (как и любого измерения) имеет случайную (неопределенную) и систематическую (определенную) погрешности.

1. Основы метрологии

Случайные погрешности - это ошибки допускаемые экспертом из-за невнимательности в работе, возможно нехватки опыта работы и влияние других факторов (атмосферные изменения, колебание напряжения в электросети и др.).

Систематическая погрешность характеризует правильность анализа, чем она ближе к нулю, тем выше правильность. Причинами систематических погрешностей могут быть недостатки метода анализа, неисправность прибора или ошибки оператора.

Чаще всего для оценки систематической погрешности применяют следующие методы.

Метод добавок — это анализ проб исследуемого вещества с добавками известных количеств определяемого компонента в соответствующей химической и физической форме. Если найденное содержание определяемого элемента в пределах погрешности методики равно количеству этого элемента в добавке, то можно считать, что систематическая погрешность существенно меньше случайной и анализ выполнен правильно.

Метод кругового анализа — это анализ одного и того же вещества различными методами. Например, если результаты определения какого-то компонента методами атомно-эмиссионного, рентгеноспектрального и полярографического анализа оказываются равнозначными в пределах случайной погрешности, то их можно считать правильными, так как вероятность появления одних и тех же систематических погрешностей при анализе различными методами очень мала.

Метод стандартных образцов состава использует государственные стандартные образцы (ГСО). Стандартные образцы считают адекватными анализируемому веществу, если их различие в химическом составе и физических свойствах не приводит к различию аналитических сигналов (результатов прямых измерений) при одинаковом содержании определяемого компонента в образце и веществе. Контроль правильности по стандартным образцам является основным при анализе органических веществ и биологических объектов.

Для получения надежных и достоверных результатов анализа во всех случаях необходимо оценивать его точность и правильность.

В соответствии с требованиями Международной организации по стандартизации (ИСО) и ГОСТ РК ИСО 5725 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений» при выполнении анализа проводится контроль повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, воспроизводимости и правильности.

Повторяемость — степень близости друг к другу независимых результатов единичного анализа, полученных по одной и той же методике, на одних и тех же пробах, в одинаковых условиях и практически одновременно.

При контроле повторяемости (сходимости) абсолютное значение разности результатов параллельных определений, регламентированных методикой анализа, не должно превышать предела повторяемости (сходимости), приведенного в методике (ранее он назывался нормативом сходимости), т.е. должно выполняться условие:

$$X_{\text{тпах}} - X_{\text{мин}} < \tau$$

Если указанное условие не выполняется, анализ повторяют.

Внутрилабораторная прецизионность — степень близости друг к другу независимых результатов анализа, полученных по одной и той же методике, на одних и тех же пробах, но в различных условиях (разное время, разные операторы, разные реактивы).

При контроле внутрилабораторной прецизионности абсолютное значение разности двух результатов анализа одной и той же пробы не должно превышать предела промежуточной внутрилабораторной прецизионности $1(TO)$, приведенной в методике анализа (прежний норматив воспроизводимости), т.е. должно выполняться условие:

$$|X_1 - X_2| < 1(TO),$$

где T — различия, обусловленные периодом времени; O — различия, обусловленные сменой оператора.

Если указанное условие не выполняется, анализ повторяют.

Воспроизводимость — степень близости друг к другу независимых результатов анализа, полученных по одной и той же методике, на одних и тех же пробах, но в различных условиях (разное время, разные операторы, разные партии реактивов одного типа, разные наборы мерной посуды, разные экземпляры средств измерений одного типа, разные лаборатории).

При контроле воспроизводимости, абсолютное значение разности двух результатов анализа одной и той же пробы, полученных в условиях воспроизводимости, не должно превышать предела воспроизводимости R , приведенного в методике анализа.

Правильность — степень близости среднего значения из серии результатов единичного анализа X к истинному (аттестованному или опорному) значению $X_{ат}$. Контроль правильности проводят путем анализа контрольных образцов (ГСО, СОП) или при их отсутствии рабочих проб с установленным опорным значением. При этом абсолютное значение разности результата анализа контрольного образца X и принятого опорного (аттестованного) значения $X_{ат}$ не должно превышать критического значения K , т.е. должно выполняться условие:

$$X - X_{ат} | < K$$

Значения норматива K рассчитывают по формуле.

Точность — степень близости результата анализа к истинному значению.

Наряду с оценкой правильности и воспроизводимости большую роль в анализе веществ имеет понятие - предел обнаружения.

Предел обнаружения — это минимальное содержание искомого компонента, которое может быть определено данным методом с доверительной вероятностью 0,95 или 0,99. Это значит, что в 95 или в 99 случаях из 100 измерительный сигнал соответствует определяемому элементу и не является ложным. Обычно предел обнаружения устанавливается на основе контрольного (холостого) опыта, который полностью повторяет ход анализа реальной пробы.

Предел обнаружения (C) рассчитывают по формуле:

$$C = x + ks,$$

где x — среднее значение поправки контрольного (холостого) опыта; s — стандартное отклонение результатов определения этой поправки; k — константа (для указанных выше вероятностей $k=2-3$).

2. Хроматографические методы определения токсичных веществ

В современных химико-токсикологических исследованиях наиболее часто применяют различные типы хроматографических методов: тонкослойную хроматографию (ТСХ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), газовую хроматографию (ГХ) или газожидкостную хроматографию (ГЖХ).

Физико-химические основы хроматографии.

Хроматографией называется разделение веществ, основанное на распределении компонентов смеси между неподвижной (стационарной) и подвижной (мобильной) фазами.

Молекулы разделяемых веществ диффундируют через поверхность раздела фаз и в зависимости от химической природы удерживаются той или иной фазой по-разному. При продвижении компонентов смеси в разделяющей среде диффузия между фазами осуществляется многократно, причем каждый раз достигается небольшое разделение. Чем выше эффект разделения, тем точнее конечный результат анализа.

Хроматографию сравнивают с ректификацией и пользуются понятием «теоретическая тарелка». Однако если для оценки эффективности ректификационной колонки используют понятие «число теоретических тарелок», то в хроматографии для оценки эффективности системы применяют понятие «высота, эквивалентная теоретической тарелке» (ВЭТТ). ВЭТТ соответствует расстоянию между двумя соседними теоретическими тарелками.

В ТСХ — наиболее простом варианте хроматографии, используют хроматографические пластинки эффективностью несколько тысяч теоретических тарелок. Современная хроматография (в частности ВЭЖХ) располагает высококачественными сорбентами, позволяющими готовить хроматографические колонки эффективностью несколько десятков тысяч теоретических тарелок.

В зависимости от агрегатного состояния подвижной фазы различают жидкостную и газовую хроматографию.

В основе газовой хроматографии лежат процессы распределения и адсорбции. Свойства подвижной фазы (газа-носителя) имеют второстепенное значение для процесса разделения.

В жидкостной хроматографии процесс разделения в значительной степени определяется составом подвижной фазы. В качестве подвижной фазы используется множество веществ, поэтому для каждого специального случая можно подобрать подходящую систему разделения. ГЖХ применяют главным образом для аналитических целей, а жидкостную хроматографию чаще используют для препаративных целей.

2.1. Методы хроматографии

В настоящее время известно множество модификаций методов хроматографии, применяемых в химико-токсикологических исследованиях для разделения смесей веществ, очистки, идентификации и количественного определения различных химических соединений. Эти методы подразделяются в зависимости от природы сил взаимодействия компонентов смеси с подвижной и неподвижной фазами, от агрегатного состояния фаз, от способа проявления хроматограмм и т.д.

В практике химико-токсикологического исследования наиболее часто применяется распределительная хроматография. Распределительная хроматография впервые предложена А. Мартином и Р. Сингом в 1941г. С помощью этого метода они успешно разделили смесь ацетилированных аминокислот на компоненты.

Метод распределительной хроматографии основан на различном распределении компонентов смеси между двумя несмешивающимися растворителями. Один из этих растворителей (чаще всего вода) находится в порах твердого носителя и является неподвижной жидкой фазой, а другой - подвижной фазой. Чтобы произошло разделение веществ, компоненты смеси должны различаться по величине коэффициента распределения (D) между двумя несмешивающимися (подвижной и неподвижной) жидкими фазами (см. метод экстракции).

Поскольку компоненты смеси имеют разные коэффициенты распределения, то скорость передвижения их при разделении тоже будет неодинаковой. Наибольшей подвижностью обладает компонент, имеющий наибольший коэффициент распределения.

Известно несколько вариантов метода распределительной хроматографии. Разделение веществ можно производить в

колонках, на пластинке и т. д. Варианты метода разделения отличаются друг от друга выбором носителя для неподвижной фазы и техникой эксперимента.

2.2. Метод хроматографии в тонком слое сорбента

В химико-токсикологическом и фармацевтическом анализе наиболее часто применяется метод хроматографии в тонком слое сорбента, впервые предложенный советскими учеными К.А.Измайловым и М.С.Шрайбер в 1938 г. С помощью этого метода М.А.Измайлов и М.С.Шрайбер разделили ряд физиологически активных соединений, содержащихся в настойках из лекарственных растений.

Разделение веществ осуществляется на пластинках, покрытых тонким слоем сорбента (силикагель, оксид алюминия и др.). На стартовую линию пластинки наносят каплю смеси исследуемых веществ и помещают ее в камеру, на дно которой (или в отдельный лоток) налита индивидуальной или смесь растворителей называемой хроматографической системой растворителей. Под влиянием капиллярных сил система растворителей поднимается по пластинке и перемещает нанесенные на пластинку вещества через тонкий слой сорбента с различной скоростью, в результате чего происходит разделение их на компоненты.

По технике выполнения опытов метод хроматографии в тонких слоях сорбента аналогичен методу хроматографии на бумаге. Разделение веществ методами хроматографии в тонких слоях сорбентов происходит быстрее, чем методом хроматографии на бумаге. Тонкий слой сорбента устойчив к агрессивным средам и нагреванию. Увеличение ассортимента материалов, применяемых для приготовления тонких слоев, расширяет возможности использования метода хроматографии в тонких слоях сорбентов в различных областях науки и техники.

Разделение веществ на пластинках, покрытых тонким слоем сорбента, можно проводить несколькими способами: восходящей, нисходящей, круговой, одномерной, двумерной и многократным хроматографированием.

Восходящее хроматографирование. При этом методе растворитель под действием капиллярных сил поступает на пластинку (из

лотка или из дна камеры) снизу вверх и увлекает разделяемые вещества.

В аналитической практике химико-токсикологической экспертизы чаще всего применяется метод восходящего одномерного хроматографирования.

2.3. Сорбенты, применяемые для приготовления хроматографических пластинок

Результаты разделения и обнаружения веществ методом хроматографии в тонких слоях сорбентов в значительной мере зависят от химического состава и свойств сорбентов, их предварительной обработки, способа приготовления хроматографических пластинок и т.д. Для приготовления тонких слоев применяются силикагель, кремневая кислота, кизельгур, оксид алюминия и ряд других сорбентов. Краткая характеристика отдельных сорбентов, используемых для приготовления хроматографических пластин, используемых в химико-токсикологическом анализе, приводится ниже.

Силикагель SiO_2 получают при взаимодействии концентрированных растворов растворимых силикатов с минеральными кислотами. Силикагель представляет собой полярный гидрофильный сорбент с высокоразвитой капиллярной структурой.

Разделение веществ с помощью силикагеля зависит от его структуры, пористости, размера частиц, величины поверхности, наличия активных центров на поверхности и т.д. На разделение большое влияние оказывает активность силикагеля, зависящая от содержания в нем влаги, величины частиц и т. д. Повышение содержания влаги приводит к дезактивации (снижению активности) силикагеля.

Для повышения активности силикагеля его нагревают при высокой температуре, а для понижения активности к высушенному силикагелю прибавляют небольшое, но известное количество воды. В отдельных случаях используют нелетучий органический растворитель.

Силикагель I степени активности - безводный, силикагель II степени активности содержит 10% воды, а силикагель III степени активности - 12% воды.

При выборе силикагеля для аналитических целей необходимо учитывать его структуру, пористость, величину Зерен и т.д. Перечисленные характеристики изменяются в зависимости от марки силикагеля, способа обработки его перед анализом и т.д.

Силикагель Г. В ряде зарубежных стран выпускается смесь силикагеля с гипсом под названием «Силикагель Г». При отсутствии готового силикагеля Г его можно заменить смесью, состоящей из 25 г силикагеля и 5 г гипса.

Кремневая кислота. Для приготовления хроматографических пластинок в ряде случаев применяют водную кремневую кислоту. Известно несколько кремневых кислот: H_2SiO_3 - мегакремневая кислота, H_4SiO_4 - ортокремневая кислота, $H_2Si_2O_5$ - метадикремневая кислота и др, которые отличаются друг от друга количеством молекул воды, связанной с молекулой SiO_2

Кизельгур. Основной составной частью кизельгура является оксид кремния (IV). Кизельгур получают из остатков кремневых панцирей инфузорий и диатомовых водорослей, живших в глубокой древности. Кизельгур встречается в виде залежей на дне бывших водоемов. Кроме оксида кремния (IV) кизельгур содержит определенное количество воды, оксидов металлов, глинистых веществ и других примесей. В литературе кизельгур встречается под названиями «инфузорная земля», «диатомитовая земля» и др.

Оксид алюминия Al_2O_3 . Одним из полярных сорбентов, широко используемых в хроматографии, является оксид алюминия. В зависимости от места получения и термической обработки оксид алюминия может находиться в нескольких кристаллических формах, Применяемый в хроматографии оксид алюминия в основном содержит, у-форму и небольшое количество других кристаллических форм, которые обладают близкими сорбционными свойствами. В зависимости от природы разделяемых веществ для хроматографии применяют нейтральный, основной и кислый оксиды алюминия. Кислый оксид алюминия готовится из основного путем обработки его азотной кислотой.

Разделительная способность тонких слоев сорбента, содержащих оксид алюминия, зависит от величины частиц, способа

активирования, приготовления тонкого слоя и т.д. Активность оксида алюминия для хроматографии зависит от содержания в нем воды. Уменьшение содержания воды в оксиде алюминия, повышает его активность, увеличение же, наоборот, приводит к снижению ее (деактивации).

Согласно Брокману, прокаленный оксид алюминия, не содержащий воды, имеет I степень активности, оксид алюминия с содержанием 3% воды — II степень активности, 6% воды - III степень, 10% - IV степень активности и т.д.

Для приготовления тонкого слоя в основном применяются силикагель КСК и оксид алюминия. Эти сорбенты доступны, недороги, обладают хорошей и разделительной способностью, активность их можно легко регулировать. Силикагель КСК легко подвергается очистке. Для этого материал попеременно обрабатывается растворами разбавленных хлористоводородной и азотной кислот, отмывается дистиллированной водой, сушат и просеивают через сита, имеющие 100, 150 и 200 меш. Полученный таким образом силикагель сохраняют в склянках с притертой пробкой.

2.4. Пластинки для хроматографирования

В аналитической практике токсикологической химии применяются пластинки с незакрепленным и закрепленным тонким слоем сорбента,готавливаемые вручную, а также пластинки с модифицированным и готовым слоем заводского приготовления различными фирмами - силуфол, сорбфил, полисорб и другие.,

Описанные выше хроматографические пластинки широко применяется для разделения и идентификации смесей гидрофильных веществ. Однако они непригодны для разделения гидрофобных (липофильных) соединений. При разделении гидрофильных веществ неподвижной фазой является вода или другая полярная жидкость, в которой легко растворяются гидрофильные вещества и не растворяются вещества, обладающие гидрофобными свойствами.

Для разделения гидрофобных веществ был предложен метод хроматографии с обращенными фазами. Согласно этому методу, неподвижной жидкой фазой должно быть гидрофобное вещество, а

подвижной - органический растворитель, предварительно насыщенный неподвижной жидкой фазой. Для того, чтобы твердый носитель (силикагель, оксид алюминия и др.) хорошо удерживал неподвижную (гидрофобную) жидкую фазу, его гидрофобизируют путем смачивания пластинки с тонким слоем сорбента в гидрофобных жидкостях. В качестве таких жидкостей используют вазелиновое или силиконовое масло, растворенное в летучих органических растворителях.

Пластинки с незакрепленным слоем сорбента

На стеклянную пластинку или другую подложку наносят сорбент, уравнивают его на пластинке и равномерно укатывают валиком нержавеющей стали, на концах которого имеются утолщения (0,5-1,0 мм). Расстояние между утолщенными концами валика должно быть на 10- 12 мм меньше ширины пластинки. При использовании таких валиков для укатывания сорбентов края пластинки (5-6 мм) получают свободными от сорбента.

Для уплотнения незакрепленного слоя сорбента вместо валика из нержавеющей стали можно пользоваться стеклянной трубкой, на которую с обеих сторон, надеты кусочки резиновой трубки. Расстояние между этими кусочками должно быть на 10-12 мм меньше ширины пластинки.

Для приготовления пластинок, покрытых незакрепленным слоем сорбента, в качестве подложки лучше применять пластинки из матового стекла.

При использовании пластинок с тонким незакрепленным слоем сорбента процесс хроматографирования происходит быстрее, чем на пластинках с закрепленным тонким слоем. Однако незакрепленный слой сорбента менее прочный, чем закрепленный.

Пластинки с закрепленным слоем сорбента

В аналитической практике такие пластинки применяются значительно чаще, чем пластинки с тонким незакрепленным слоем. Для приготовления закрепленного тонкого слоя применяют суспензию, состоящую из сорбента, связывающего вещества (фиксатора) и воды.

Для приготовления хроматографических пластинок с одинаковой толщиной слоя предложено несколько способов. Один из способов состоит в том, что суспензию, содержащую сорбент разбавляют соответствующей жидкостью и наносят на пластинку при помощи пульверизатора.

Согласно другому способу, пластинку опускают в суспензию, а затем разравнивают ее на пластинках при помощи специальных приспособлений. Для приготовления пластинок с одинаковой толщиной слоя применяют специальную аппаратуру с подвижным или неподвижным устройством.

Один из наиболее распространенных способов нанесения тонкого слоя, который широко используется в лабораторной практике, состоит в следующем:

стеклянную пластинку устанавливают на ровную горизонтальную поверхность и наносят необходимое количество суспензии, затем равномерно распределяют ее поверхность при помощи шпателя, часто наклоняя пластинку в разные стороны. После нанесения тонкого слоя сорбента пластинку высушивают при комнатной температуре.

В случае необходимости перед хроматографированием тонкий слой сорбента активируют нагреванием пластинки в сушильном шкафу. При этом пластинку предварительно высушивают на воздухе во избежание образования в тонком слое трещин. Приготовленные пластинки сохраняют в эксикаторе.

Во время приготовления суспензий, содержащий гипс, необходимо избегать «схватывания» гипса, который после прибавления воды через некоторое время превращается в твердую массу. Поэтому суспензию, в состав которой входит гипс, необходимо наносить на пластинку не позднее чем через 4 мин после прибавления воды к смеси сорбента и гипса.

Закрепленный тонкий слой сорбента более прочный, чем незакрепленный. Однако из-за наличия связывающих веществ в закрепленном слое сорбента изменяются его сорбционные свойства. Поэтому развитие хроматограммы в закрепленном тонком слое происходит медленнее, чем в незакрепленном слое.

Пластинки с модифицированным слоем сорбента.

В отдельных случаях используются пластинки с модифицированным слоем сорбента. Для приготовления

сорбционной массы, из которой получают модифицированный сорбционный слой, берут смесь сорбента и связывающего вещества (гипс, крахмал). К этой смеси вместо воды прибавляют растворы кислот, ^ щелочей, буферные растворы или растворы соответствующих реактивов. Иногда к смеси сорбента и связывающего вещества прибавляют определенное количество воды, а затем один из указанных растворов.

Пластинки с готовым тонким слоем сорбента.

В некоторых странах выпускаются пластинки с готовым тонким слоем сорбента. Например, в отдельных лабораториях используются пластинки с готовым, тонким слоем под названием «Силуфол». Эти пластинки изготавливаются в ЧССР. Подложкой в них является алюминиевая фольга. В состав тонкого слоя входят порошки - силикагель и крахмал, иногда тонкий слой содержит флуоресцентный индикатор.

Пластинки с готовым слоем удобны в работе. Они имеют равномерно нанесенный слой сорбента определенной толщины. Однако эти пластинки имеют и некоторые недостатки. С них довольно трудно снимается слой сорбента, следовательно, затрудняется элюирование веществ из пятен. Различные добавки, содержащиеся в тонком готовом, слое сорбента, могут давать окраску с проявляющими реактивами. Эти же добавки могут исказить результаты спектрофотометрического определения исследуемых веществ в элюатах. Пластинки с готовым слоем, нанесенным на пластмассовую подложку нельзя нагревать выше 130-150°C и т.д.

2.5. Подготовка пластинок для разделения исследуемых проб

Растворы исследуемых проб (вытяжки, экстракты, дистилляты из биологического материала) наносят на хроматографические пластинки в виде пятен или полос. Для этой цели применяют капилляры, пипетки или шприцы. Если исследуемые вещества после разделения методом хроматографии определяют количественно, то для нанесения растворов этих веществ на пластинку применяют хорошо калиброванные микропипетки

(удобно пользоваться микропипетками объемом 10 мм³ с делением в 1 мм³) или микрометрические шприцы (шприцы, снабженные специальными дозирующим устройством).

Способ нанесения растворов исследуемых проб на пластинки с тонким слоем сорбента зависит от цели исследования. Для идентификации веществ их растворы (приблизительно по 5 мкл) наносят на хроматографическую пластинку на линию старта, при этом пятна должны располагаться на расстоянии 1,5-2,0 см друг от друга. Рядом на линии старта аналогичным образом наносятся растворы стандартных образцов (растворы свидетелей), предполагаемых токсических веществ. Пластинку подсушивают на воздухе, а затем помещают в камеру, насыщенную парами растворителей.

Для очистки веществ, находящихся в относительно больших объемах растворов, растворы наносят на пластинки в виде полос. При этом на линию старта на пластинке наносят исследуемый раствор в виде близко расположенных друг к другу точек. При нанесении растворов на пластинки таким способом после развития хроматограммы получают довольно широкие неровные полосы. Для элюирования веществ из таких полос необходимо снимать сорбент с большого участка пластинки, что приводит к ухудшению эффективности элюирования.

Для нанесения растворов исследуемых веществ на пластинки в виде полос лучше пользоваться специальным устройством, при помощи которого можно регулировать ширину полос и объем растворов, наносимых на пластинки.

Раствор, который наносят на пластинку в виде точек или полос, должен быть прозрачным, в нем не должно содержаться изношенных частиц. Нельзя допускать высыхания раствора, нанесенного на пластинку, чтобы не происходила кристаллизация находящихся в нем веществ. Если после высыхания раствора на пластинке образуются кристаллические осадки, то на хроматограммах появляются пятна с длинными «хвостами». Подготовленные соответствующим образом пластинки переносятся в камеры для хроматографирования

Камеры для хроматографирования изготавливают из стекла, иногда из стали и пластмассы. Камеры из пластмассы применяются редко, так как она может частично или полностью растворяться

некоторыми растворителями, применяемыми для развития хроматограммы.

Камеры, применяемые для хроматографии в тонких слоях сорбента, должны быть герметичными, крышки их - хорошо пришлифованными. При работе с камерами, не обеспечивающими герметичность, нельзя добиться насыщения их пространства парами растворителей, вследствие чего получаются невоспроизводимые результаты разделения и идентификации веществ. Однако имеются отдельные методики, например, метод В.А.Карташова, используемого для ТСХ скрининга «лекарственных ядов» с применением легко летучего растворителя (ацетон), без предварительного насыщения.

Величина камер зависит от размера помещаемых в них пластинок. Для насыщения камеры в нее вносят систему растворителей, плотно закрывают крышки и оставляют на 30-40 мин до насыщения пространства парами растворителей. В подготовленную таким образом камеру помещают пластинку с нанесенными на нее растворами разделяемых веществ.

2.6. Оценка разделения веществ на пластинках

При разделении смесей токсических веществ методом хроматографии в тонких слоях сорбента каждый компонент смеси, независимо от присутствия других веществ, под влиянием потока подвижной фазы движется на пластинке вдоль неподвижной фазы. Если время перехода двух веществ из одной фазы в другую неодинаково, то и скорости движения этих веществ на пластинке будут различны. Этим и объясняется разделение смесей веществ на компоненты методом хроматографии в тонких слоях сорбента.

Наиболее достоверные результаты будут достигнуты если правильно выбраны используемые сорбенты и системы растворителей. Согласно данным литературы, наиболее точные результаты идентификации и разделения смесей веществ методом хроматографии в тонком слое сорбента имеют места тогда, когда R_f исследуемых веществ равно приблизительно 0,50. При использовании метода для аналитических целей на пластинки наносят от 0,1 до 50 мкг, а для препаративных целей берут смеси, содержащие от 0,1 до 0,5 г исследуемого вещества.

Методика хроматографирования. На линию старта, находящуюся на расстоянии 1,5 см от нижнего края пластинки с тонким слоем сорбента, наносят 1-2 капли исследуемого раствора. Правее, на линию старта (через 1,5 - 2,0 см) наносят такой же объем раствора стандарта или как его часто называют - «свидетеля», в виде круглого пятна или полоски. Затем пластинку высушивают при комнатной температуре или в токе воздуха, помещают в камеру для хроматографирования, предварительно насыщенную парами растворителей. При помощи подставки пластинку устанавливают в камере вертикально или под углом 80-85°C. Нижний край пластинки должен погружаться в растворитель или в систему растворителей на 0,5 - 0,7 см. Во избежание размывания растворителями нанесенных пятен, они должны находиться выше (приблизительно на 1 см) уровня жидкости в камере. После этого камеру плотно закрывают крышкой и оставляют до тех пор, пока жидкость не поднимется до намеченной линии фронта растворителя.

После достижения жидкостью линии фронта растворителей пластинку вынимают из камеры, высушивают при комнатной температуре и «проявляют» зоны нахождения соответствующих веществ на пластинке. С этой целью пластинку опрыскивают растворами реактивов, которые с разделяемыми веществами дают окраску. Например, реактив Драгендорфа со многими токсичными азотистыми веществами образует оранжевое окрашивание. Вещества, которые флуоресцируют (хинин сульфат), можно проявить путем облучения пластинок УФ-светом. На проявленных хроматограммах измеряют фронт вещества (расстояние от линии старта до центра пятен) и фронт растворителей. На основании результатов измерений «проявленных» зон исследуемого вещества и вещества «свидетеля» вычисляют отношение этих величин (R_f) для каждого вещества по формуле: $R_f = \frac{\text{Фронт вещества, см (I)}}{\text{Фронт растворителя, см (L)}}$. Совпадение числовых значений R_f пятна, содержащего исследуемое вещество и пятна вещества, содержащегося в растворе «свидетеля», а также окрашивание зоны указывает на идентичность веществ, нанесенных на пластинку. В литературе приводятся величины R_f для многих веществ. Однако для аналитиков эти данные могут быть только ориентировочными, поскольку не всегда можно провести эксперимент в точно таких же

условиях, в которых его проводил автор опубликованных данных где, 1 - линия фронта растворителя; 2 - центр проявленной зоны вещества; 3 — точка нанесения анализируемой пробы. L — расстояние от линий старта до линий фронта растворителя и I - расстояние от линий старта до центра проявленной зоны вещества.

Rf - это сокращенная запись слов rate fraction, что означает «скорость фракции». Величина Rf является важной качественной характеристикой каждого разделяемого вещества и зависит от многих факторов.

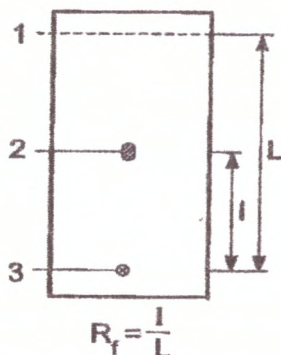


Рис. 1. Хроматографическая пластинка (пояснение в тексте).

Иногда в литературе приводятся не числовые значения величин Rf, а результат умножения этих величин на 100 (Rf x100). Этот результат обозначают буквами hRf.

При правильном выборе условий хроматографирования вещества должны разделяться на пластинках в области величин Rf от 0,15 до 0,85. Величины Rf ниже 0,15 и выше 0,85 являются ненадежными при идентификации веществ методом хроматографии в тонком слое сорбента.

Например, по нашим наблюдениям, при обнаружении опийных алкалоидов в трупном материале на тонком слое силикагеля (система: ацетон - хлорорформ - диоксан - аммиак 25% раствор (5 : 45 : 47,5 : 2,5), восходящий способ, проявляющий реактив - реактив Драгендорфа, модифицированный по Мунье) морфин, 6-моноацетилморфин проявляются со значениями Rf до 0,15, а папаверин и наркотин проявляются со значениями Rf около 0,80 -

0,95. В этих областях значения R_f на пластинке с реактивом Драгендорфа также проявляются соэкстрактивные вещества, содержащие нейтральные аминокислоты, пептиды и др. Поэтому заключение об обнаружении указанных алкалоидов должно быть осторожным и подтверждаться другими исследованиями.

Если для хроматографирования используются пластинки «Силуфол» и другие, в которых сорбент закреплен раствором крахмала, проявлять вещества на таких пластинках растворами, содержащими йод (реактив Драгендорфа и др.) невозможно, т.к. реактив со всей поверхностью тонкого слоя носителя образует синее окрашивание и зоны исследуемых веществ на хроматограмме распознать практически невозможно. Чтобы устранить мешающее влияние йода при опрыскивании пластинок «Силуфол» реактивом Драгендорфа и другими йодосодержащими реактивами, к этим реактивам прибавляют аскорбиновую кислоту, сульфит натрия и другие восстановители, которые переводят свободный йод до йодида. С этой целью на практике к 100 мл реактива Драгендорфа прибавляют 2 - 3 мл 10% раствора аскорбиновой кислоты.

2.7. Применение метода для обнаружения токсических соединений

Доказательством обнаружения исследуемого вещества методом хроматографии в тонком слое сорбента является совпадение аналитических характеристик и значения R_f - проявленных пятен исследуемого вещества и свидетеля. Или же, отношения R_f исследуемого вещества и свидетеля должны находиться в пределах 0,99-1,01.

Однако совпадение значений исследуемого вещества и свидетеля в однократном определении недостаточно для окончательного заключения. Необходимо подтверждение этого результата другими хроматографическими методиками, в которых были использованы материалы с контрастными свойствами, или с помощью других методов. Совершенно недопустимо судить об идентичности веществ по совпадению значений R_f исследуемого вещества с литературными данными, т.к. воспроизводимость значений R_f возможен только при строгом повторении условий выполнения опыта.

2.8. Применение метода в количественном анализе токсических соединений

Определение количественного содержания веществ, разделенных методом хроматографии в тонком слое сорбента, можно проводить визуально (непосредственно на хроматограмме - полуколичественный анализ), а также с помощью планиметрического метода (ошибка от ± 5 до 30%) или в элюатах при помощи ряда физико-химических методов.

При визуальном определении сравнивают площади или интенсивности окрасок полученных пятен исследуемых веществ и веществ, находящихся в стандартном растворе. Недостатком этого метода является то, что зависимость площади или интенсивности окраски пятен от нанесенного количества вещества наблюдается только в узких областях концентраций.

Содержание вещества в пятнах на хроматограмме также определяют при помощи планиметра или денситометра. При использовании визуальных и денситометрических методов определения веществ непосредственно в пятнах на хроматограммах необходимо, чтобы объемы исследуемого и стандартного растворов были одинаковыми.

В аналитических лабораториях чаще всего применяют методики, согласно которым после хроматографирования с определенного участка на пластинке (в области локализации пятна исследуемого вещества) снимают сорбент, из которого исследуемое вещество элюируют соответствующим растворителем. В полученном элюате определяют количественное содержание вещества спектрофотометрическим, фотокolorиметрическим или другими методами.

При снятии обнаруженной зоны с пластинки возможны потери, во избежание, которых нужно снять адсорбент вокруг обнаруженной зоны, и, смочив исследуемое пятно водой, выморозить пластинки в холодильнике в течение 15-20 мин. Замороженная пластинка подогревается с обратной стороны. При этом исследуемая зона легко отделяется от поверхности пластинки как одно целое. Во всех случаях для получения удовлетворительных результатов анализа необходимо решить ряд вопросов:

полное отделение исследуемого вещества от возможных примесей;

введение поправок на потери исследуемого вещества;

обнаружение зоны с помощью реактивов или методов, не мешающих последующему анализу

В других случаях проводят прямые количественные методы. Для этого, измерения производят непосредственно на хроматографических пластинках. Метод характеризуется рядом преимуществ: меньшими потерями вещества и затратами времени, а также возможностью определения меньших количеств яда. Например, если при облучении светом заданной длины волны вещество на пластинке флуоресцирует, то по характеру свечения можно предполагать конкретное искомое вещество, а по интенсивности излученного света можно оценить количество определяемого компонента. Поскольку луч не проходит через адсорбенты стеклянной подложки, обусловленные потери значительно меньше, чем при прямой денситометрии. Этот метод называют хроматофлуориметрией.

3. Инструментальный анализ токсических веществ. Газожидкостная хроматография

Газожидкостная хроматография является одним из эффективных методов при проведении скрининга. Основным условием использования этого метода является летучесть соединений при температуре испарителя. Во многих методиках рекомендуется переводить исследуемые вещества в легколетучие соединения путем их дериватизации. В таких случаях метод ГЖХ является универсальным способом для проведения скрининга.

Газожидкостная хроматография - это один из видов распределительной хроматографии. Разделение веществ происходит в специальных колонках, заполненных твердым носителем, представляющим собой пористый материал природного или синтетического происхождения (пемза, кизельгур, полисорб, целит и др.). Зернистый носитель набивается в колонку - трубку малого диаметра длиной от нескольких сантиметров до нескольких метров. Колонки изготавливают из нержавеющей стали, меди, алюминия, стекла и других материалов. Твердый носитель имеет тонкий слой неподвижной фазы.

Неподвижная жидкая фаза может быть неполярной - апиезоны (L, M, N, SE-30, OV-1, OV-101). Это углеводороды и полимеры, в основном, диметил- и триметилсилана.

Неподвижная фаза может быть полярной и чаще всего представлена полиэтиленгликолем с массой 20 000 - карбовакс-20М, фенилметилсианом OV-17, цианоэтилсианом ХЕ-60 и др. Подвижной фазой является инертный газ, чаще всего азот или гелий. Принцип устройства газожидкостного хроматографа приведен на рисунке 2.

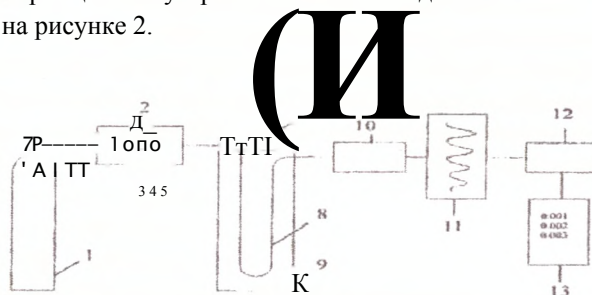


Рис. 2. Блок газового хроматографа
(пояснение в тексте)

Исследуемый объект вносят в дозатор (6) в количестве нескольких микролитров с помощью микрошприца. Вещества переносятся газом-носителем (1) регулируемый газораспределительным блоком (2) с помощью редукторов (3-5) в колонку (8) помещенная в термостат (9). На колонке происходит разделение компонентов смеси. Разделение смеси зависит от величины коэффициентов распределения веществ между подвижной и неподвижной фазами и от эффективности колонки. Эффективность колонки выражается числом теоретических тарелок. Под «теоретическими тарелками» понимают количество теоретических ступеней, на которых устанавливается равновесие между подвижной и неподвижной фазами. Чем больше таких ступеней на единицу длины колонки, тем лучше происходит разделение веществ.

Из колонки разделенные вещества поступают в детектор (10). Детектор - часть прибора, которая регистрирует интенсивность определенных свойств бинарных смесей (компонент + газ-носитель). Изменение интенсивности сигнала детектора свидетельствует об изменении состава газовой смеси. Детекторы могут быть настроены на измерение интенсивности различных физико-химических свойств системы (плотности, теплопроводности, теплоты сгорания, ионизации и т.д.), которые преобразуются в электрический сигнал детектора, регистрируемый самописцем (11), обрабатываемый интегратором (12) и цифроаналоговым преобразователем (13). Например, катарометр - детектор теплопроводности. Катарометром измеряют разность теплопроводностей чистого газа-носителя и смеси газа-носителя с анализируемым веществом. Чувствительность определения токсических веществ с помощью катарометра находится в пределах 10^3 — 10^5 г.

Пламенно-ионизационный детектор (ПИД). Принцип действия основан на измерении тока, возникающего при ионизации молекул органических веществ в пламени водорода. При горении чистого водорода ионы почти не образуются, поэтому электропроводность водородного пламени очень низка. Органические вещества, сгорающие в пламени водорода, образуют ионы или радикалы. Появление заряженных частиц обуславливает электропроводность пламени. Увеличение электропроводности повышает силу ионного тока, которая отображается на хроматограмме в виде пика. Чувствительность ПИД $КГ^9$ - 10^{12} г. Хроматограмму двух растворенных веществ можно представить следующим образом (рис 3.).

На кривой разделения каждому пику свойственны следующие параметры. Высота пика (2) - это расстояние от вершины пика до его основания (3). Площадь пика (4) — площадь, заключенная между контуром пика и его основанием. Основание пика (3) - отрезок нулевой линии (1) между крайними точками пика.

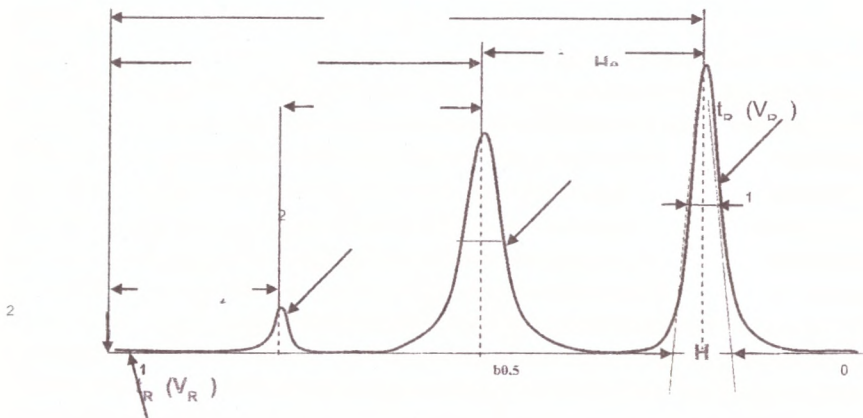


Рис. 3. Основные компоненты хроматограммы

Качественной характеристикой в газожидкостной хроматографии считаются:

Время удерживания вещества (t_R). Это время от момента введения смеси веществ в дозатор до момента вычерчивания максимума пика самописцем. При постоянных условиях анализа характерно для данного вещества.

Относительное время удерживания (t_{omH}). Это отношение времени удерживания исследуемого вещества к времени удерживания стандарта.

Объем удерживания (V_p). Эту величину получают путем умножения времени удерживания на объемную скорость газаносителя. Это общий объем подвижной фазы, необходимый для удаления данного вещества из колонки.

Относительный объем удерживания. Его определяют в присутствии стандартного вещества путем деления найденного времени удерживания компонентов на время удерживания стандартного вещества после вычитания времени удерживания инертного газа-носителя из обоих значений времени удерживания.

Удельный удерживаемый объем. Это объем удерживания на 1 г неподвижной жидкой фазы. Эта величина является константой, подобной точке кипения, и более надежна для идентификации.

Индекс удерживания (I). Индекс удерживания предложен Ковачем в 1958 г. Он основан на логарифмической шкале, в которой нормальные парафины имеют значения индексов удерживания, в 100 раз превышающие число атомов углерода в их молекуле. Например, 200, 300, 400 для этана, пропана, н-бутана соответственно. Поэтому величины 1/100 рассматривают как число атомов углерода в н-парафине, который определялся бы с интересующим нас веществом. Индекс удерживания - более воспроизводимая характеристика для вещества, чем относительный объем удерживания. Он пропорционален логарифму удельного объема удерживания.

В основе идентификации веществ с помощью ГЖХ лежит - сравнение индекса удерживания неизвестного вещества с индексом удерживания известного соединения.

3.1. ГЖХ-скрининг в анализе лекарственных и наркотических веществ в извлечениях из мочи

Исследуемые вещества выделяют из мочи путем экстракции или сорбции. Для ГЖХ-скрининга достаточно использовать часть извлечения из объекта, которая соответствует по объему 10 мл мочи (представлено по методикам, описанным С.К.Ереминым).

Условия хроматографического анализа: прибор ЛТХМ-80, детектор термоаэрозольный (ТАД), термоионный или беспламенный азотно-фосфорный (NPD), колонка стеклянная, силанизированная, длиной 1 м, внутренний диаметр - 2-3 мм, сорбент - 3% SE-30 на хромосорбе **W (HP)** - 80-100 меш., скорость газа-носителя (азота) для ТАД 45 мл/мин и для **NPD** - 40 мл/мин (гелия), эффективность колонки 1200 т.т. (ТАД) и 1300 (**NPD**), температура детектора - 300°C, температура испарителя 250°C, температура испарителя по линейной программе от 130 до 290°C, объем пробы - 2,5 мкл.

Для идентификации хроматографических пиков определяют индекс удерживания. С этой целью используют в качестве стандартов смесь н-алканов C_nH_{2n+2} с числом атомов углерода от **10** до 32, которым присвоены значения индексов, равные **100 n** (n - число атомов углерода в алкане). Расчет проводят по формуле:

$$J_x = 100n + (j_{n+1} - j_n) \times \lg t_x / \lg t_{n+1} - \lg t_n$$

где J_x - индекс удерживания анализируемого вещества; t_x , t_n , $m+1$, - исправленное время удерживания неизвестного вещества и ближайших к нему реперных n -алканов с числом атомов углерода n и $n+1$ а также соответствующие им индексы удерживания (j_n , j_{n+1}).

Вместо исправленного времени удерживания иногда используют в расчетах истинные удерживаемые объемы.

Таблица 1. Смесь анализируемых азотсодержащих веществ для расчета индексов удерживания

Вещество	Индекс удерживания по n -алканам
Амитриптилин	2193
Барбитал	1490
Кодеин	2382
Метиламфетамин	1220
Новокаин	2022
Папаверин	2848
Промедол	1838
Стрихин	3110

При работе с другими детекторами вместо n -алканов используют в качестве стандартов смесь азотсодержащих веществ, индексы удерживания которых также предварительно определены по n -алканам при тех же условиях (см. табл. 1). Стандартное отклонение измеренных индексов удерживания находится в пределах 15-20 единиц. При скрининге «поисковое окно» должно находиться в пределах ± 50 -60 единиц J , если сравнивается J неизвестного соединения с J известных веществ.

Индексы удерживания зависят от концентрации исследуемого соединения в растворе. Многие лекарственные вещества, которые не относятся к списку наркотических и одурманивающих, имеют индексы удерживания, близкие к анализируемым соединениям, и могут влиять на результаты идентификации. Поэтому ГЖХ-скрининг используют для отсева отрицательных проб и предварительного обнаружения веществ различных фармакологических групп. Все пробы, давшие положительный результат, подтверждаются другими надежными методами.

3.2. ГЖХ-скрининг в анализе «летучих» ядов

Методика газожидкостной хроматографии «летучих» ядов основана на исследовании не самой биологической жидкости (крови, мочи), а газовой фазы, находящейся над ней. Этот способ назван парофазным анализом (ПФА) или анализом равновесного пара. В его основе - один из законов Д.П.Коновалова, выражающий зависимость состава пара от состава раствора: «повышение относительного содержания компонента в жидкой фазе всегда вызывает увеличение относительного содержания его и в парах». ПФА основан на технике и принципе газовой экстракции. Простейший вариант ПФА: в герметично закрывающийся флакон объемом V помещают исследуемый объект объемом V_b содержащий определенный «летучий» яд с концентрацией C_l . Объем газовой фазы над объектом V_g равен $V - V_b$. Систему выдерживают при постоянной температуре до установления термодинамического равновесия (равновесного распределения «летучего» яда между жидкостью и газом). Газовую фазу вводят в хроматограф. Измеряют абсолютное значение равновесной концентрации яда C_g . Поскольку в процессе установления фазового равновесия некоторая часть «летучего» яда переходит в газовую фазу, его концентрация в конденсируемой фазе будет меньше исходной C_l . Количество вещества, перешедшего в газовую фазу из раствора, зависит от соотношения объемов фаз $R = V_g/V_b$ и коэффициента распределения $K = C_l/C_g$. Если пренебречь изменением объема жидкости за счет испарения раствора в процессе установления равновесия, концентрацию вещества в исходном растворе можно вычислить по его содержанию в равновесной газовой фазе по уравнению $C_l = C_g(K+R)$. Эта формула лежит в основе парофазного анализа.

Метод применяют для определения летучих органических веществ в питьевой воде, природных и сточных водах, пищевых продуктах, крови, моче, фармацевтических и косметических препаратах, а также в криминалистике, микробиологии, медицинской диагностике и др. В настоящее время имеются специальные автоматические анализаторы и приставки к газовым хроматографам, позволяющие проводить парофазный анализ.

В анализе летучих соединений Международный совет по систематическому химико-токсикологическому анализу рекомендует следующие условия проведения ГЖХ-скрининга.

Материалы колонки: хромосорб W, фр. (80 - 100 меш.); покрытие (неподвижная фаза) -15% карбовакс 1500, температура: изотермический режим (60 - 100°C); тестовая смесь (1 г/л): метанол, ацетон, этанол, изопропанол, используемые с целью проверки качества колонки, чувствительности детектора и эффективности разделения; детектор: пламенно-ионизационный (ПИД).

Методика исследования биологических объектов с помощью парофазного анализа при проведении ненаправленного анализа сводится к следующему.

Внутренние органы и ткани. Навеску измельченного объекта массой 5 г помещают в соответствующую емкость объемом 15 мл, добавляют 0,5 мл 0,5% раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты. Емкость плотно закрывают резиновой пробкой, обкатывают алюминиевым колпачком и нагревают на кипящей водяной бане не менее 15 мин.

Кровь, моча. Исследуемый объект объемом 0,5 мл помещают в емкость объемом 15 мл, закрывают резиновой пробкой, обкатывают алюминиевым колпачком и оставляют при комнатной температуре на 5-10 мин. В системе устанавливается термодинамическое равновесие между жидкой и паровой фазами.

Затем в емкостях с указанными объектами прокалывают иглой медицинского шприца резиновую пробку, отбирают 2 мл парогазовой фазы и вводят в испаритель газового хроматографа.

Для обнаружения этанола и других летучих спиртов применяется утвержденный экспрессный этилнитритный метод, который позволяет обнаружить и определить алифатические спирты C1-C5 в виде алкилнитритов (см. рис. 4).

Остальные «летучие» яды в связи с плохим разделением определяют, используя две параллельные колонки с селективными неподвижными фазами различной полярности. Селективность метода повышается модификацией твердого носителя слоем металлического серебра.

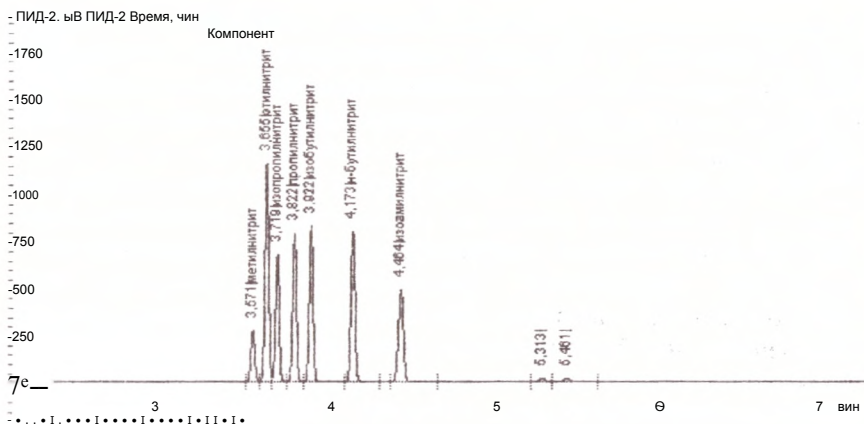


Рис. 4. Хроматограмма смеси спиртов С1-С5.

Условия анализа: прибор ЛХМ - 80 или «Цвет», детектор ПИД, скорость потока водорода 27 - 30 мл/мин, воздуха - 200 - 360 мл/мин, газ-носитель - гелий (24 мл/мин) или азот (30 мл/мин), колонки металлические (L = 1 - 2 м, ф = 0,3 см), температура колонки - 80-85°C, испарителя - 100-110°C, твердый носитель - целит С-22 (фракция 60-80 меш.), модифицированный слоем металлического серебра, или хроматон АW DMCS (0,20-0,25 мм), неподвижные жидкие фазы: 1,2,3-трис(2-цианоэтоксипропан или карбовакс 15% 20 М (1-я колонка) и тритон X-100 или 10% дионилфталат (2-я колонка).

Методика. В два пенициллиновых флакона емкостью 10 мл вносят по 1 мл 10% раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты и по 1 мл исследуемой пробы. Содержимое флаконов перемешивают и вносят в каждый флакон по 2,5 г безводного сульфата натрия. Флаконы закрывают резиновыми пробками и обкатывают алюминиевыми колпачками. Один флакон помещают на 5 мин в кипящую водяную баню, взбалтывая сразу и затем через 3 минуты из этого флакона медицинским шприцем отбирают 0,5 мл парогазовой фазы и вводят ее в 1-ю колонку. Через 5 мин второй флакон помещают в водяную баню и 0,5 мл парогазовой фазы вводят во 2-ю колонку.

По полученным пикам на первой колонке рассчитывают индексы удерживания или их сравнивают с табличными данными.

Выбирают вещества, у которых индексы удерживания совпадают или отличаются в пределах «поискового окна». Отобранные вещества включают в круг предполагаемых соединений. Остальные вещества исключаются из дальнейших исследований, что сужает круг поиска.

На второй колонке происходит разделение отобранных веществ. Порядок их выхода из колонки также изменяется. Далее рассчитывают индексы удерживания ($D_{0тн}$) и сравнивают их с индексами удерживания стандартных веществ из числа предполагаемых ядовитых соединений. Анализируя данные, полученные на 2 колонках с неподвижными фазами разной полярности, делают вывод о присутствии тех или иных «летучих» ядов, в исследуемом объекте.

Результаты подтверждаются химическим методом. Если при проведении газохро-матографического скрининга получен отрицательный результат, т.е. на хроматограммах не обнаружено пиков, характеризующих присутствие какого-либо ядовитого вещества, делают вывод о ненахождении группы «летучих» ядов в объекте.

3.3. Хроматомасс-спектрометрия

Масс-спектропия, масс-спектральный анализ - метод анализа веществ путем определения массы (чаще отношения массы к заряду m/z) и относительного количества ионов, получаемых при ионизации исследуемых веществ или уже присутствующих в изучаемой смеси. Совокупность значений m/z и относительных величин токов этих ионов представляет собой график, который называют масс-спектром вещества.

С помощью масс-спектрометрии можно измерить точную молекулярную массу органического соединения, рассчитать элементный состав, установить химическое и пространственное строение, изотопный состав, провести качественный и количественный анализ сложной смеси.

При ионизации органической молекулы образуется ион, в котором далее происходят процессы гегеро - и гомологического разрыва связей с образованием осколочных ионов, которые также подвергаются дальнейшему распаду. Направление распада - важная

характеристика каждого класса соединений. Совокупность всех направлений распада составляет характерную для каждого органического соединения схему фрагментации. Если масс-спектр прост, схема фрагментации сводится к одному пути распада. Например, при распаде иона CH_3OH^+ последовательно образуются ионы CH_2OH^+ и CH_3O^+ .

Полученный масс-спектр сравнивают со спектром из каталога. Это быстрый, простой способ структурного анализа и идентификации веществ. Он используется для определения загрязнений окружающей среды, контроля продуктов питания, при изучении процессов метаболизма, в криминалистике, а также при анализе биологических объектов, на неизвестное ядовитое соединение.

В настоящее время используется сочетание хроматографического и масс-спектрометрического методов. Этот метод получил название хроматомасс-спектрометрии. С помощью хроматографии происходит разделение смеси на отдельные компоненты. С помощью масс-спектрометрии проводят обнаружение и количественное определение разделенных веществ смеси.

Хроматомасс-спектрометры выпускаются в двух вариантах - в комбинации с газовым или газо-жидкостным хроматографом (соответственно ГХ или ГЖХ) для анализа веществ, находящихся в газовой (газе или в комбинации с высокоэффективным жидкостным хроматографом для анализа труднолетучих, полярных и термолabileльных веществ).



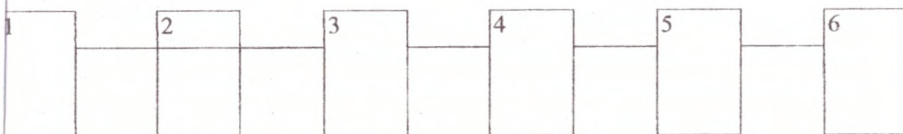


Рис. 5. Схема устройства хроматомасс-спектрометра: 1 - ГЖХ или ВЭЖХ; 2 - ионный источник для ионизации введенных веществ; 3 - масс анализатор для деления анализируемых веществ по массам; 4 - система регистрации силы тока; 5 - откачное устройство для предотвращения рассеивания образующихся ионов (высокий вакуум); 6 - электронная аппаратура для усиления и измерения ионных токов и записи хроматограмм.

Хроматомасс-спектрометр представляет собой сложный прибор, включающий ионо-оптическую, высоковакуумную системы, электронную аппаратуру для усиления и измерения ионных токов, а также хроматографический узел для разделения смеси. Блок-схема хроматомасс-спектрометра показана на рисунке 5.

Исследуемую пробу вводят в хроматограф, где происходит разделение смеси веществ. Поток разделенных веществ с газом-носителем проходит через специальный сепаратор, который отделяет газ-носитель от вещества. Затем исследуемое соединение попадает в ионизационную камеру масс-спектрометра. В этой камере частицы веществ ионизируются и поступают в масс-анализатор, где они делятся по массам. Относительные значения сил токов, возникающих за счет ионов с разной массой, измеряются системой регистрации. Масс-спектр смеси веществ представляет собой ряд последовательно расположенных пиков веществ. Деление веществ по массам в анализаторе осуществляется под действием магнитного поля (чаще однородного). При прохождении пучка ионов через магнитное поле ионный пучок фокусируется на щель приемника. В процессе фокусировки пучок ионов с массой m отделяется от ионов с массой $m + \Delta m$. Этот процесс происходит в плоскости щели приемника на расстояние, которое определяется величиной дисперсии (или разделяющей способности) прибора.

Таким образом, разрешающая сила хроматомасс-спектрометра - это мера его способности разделять два иона с определенной разницей их масс.

Детектор (регистрирующее устройство) в приборе осуществляет регистрацию электрических сигналов в определенной последовательности. В современных приборах цифровая регистрация и обработка информации проводится с помощью ЭВМ. Прибор записывает полный спектр и проводит обработку нескольких десятков, а иногда и сотен масс-спектров с сотней пиков в каждом из них с одновременной расшифровкой самого спектра. Непрерывная запись полного ионного тока в течение всего времени хроматографического разделения представляет собой хроматограмму смеси. В момент появления максимумов на хроматограмме масс-спектрометр быстро записывает полный масс-спектр каждого компонента с интервалом в 1-2 с. Масс-спектр является качественной характеристикой разделяемой смеси и позволяет идентифицировать ее компонент (предел обнаружения веществ 10-12 г/мл).

Идентификация веществ, выделенных из биологического объекта, проводится по времени удерживания и соответствующему каждому пику на хроматограмме масс-спектру с определенной величиной отношения массы иона к его заряду. Например, в процессе анализа гашиша при определении каннабиноидов из масс-спектра были выделены характерные отношения масса/заряд 231, 314 и 299. В результате обнаружены 2 вещества, имеющие время удерживания 7,55 и 8,31 мин. Эти вещества были идентифицированы по атласу известных масс-спектров как каннабидиол и тетрагидроканнабинол соответственно (Еремин С.К.).

Хроматомасс-спектрометрия является универсальным методом, позволяющим работать с весьма сложными смесями, содержащими всего 10^{10} - 10^{14} г/мл определяемого компонента, что в миллиарды раз меньше требуемых количеств вещества для обычных масс-спектрометров. Это особенно ценно для определения следовых количеств ядовитых веществ в биологических жидкостях, волосах и в трупном материале.

3.4. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Высокоэффективная жидкостная хроматография является вариантом колоночной хроматографии. Ее отличие от классической колоночной хроматографии заключается в использовании сорбентов с размером зерен 10-30 мкм, поверхностно- и объемно-пористых сорбентов с размером зерен 5-10 мкм, нагнетательных насосов и высокочувствительных детекторов. Быстрый массоперенос при высокой эффективности разделения позволяет использовать ВЭЖХ для разделения и определения веществ в молекулярном или ионном виде. В ВЭЖХ сорбент в колонке пропитан неподвижной фазой (НФ). Подвижной фазой (ПФ) является элюент, который подается в колонку насосом. Элюент движется под давлением 200 и более атмосфер. На рисунке 6 представлен общая рабочая схема хроматографа «Милихром-4».

Разделение основано (как в ГХ) на различной скорости распределения веществ между неподвижной и подвижной фазами. Подвижная фаза подбирается так, чтобы обеспечить хорошее разделение веществ при сравнительно небольшом времени удерживания.

Если состав подвижной фазы в процессе анализа не меняется, этот режим называют изократическим, если соотношение компонентов меняется - градиентным.

В химико-токсикологическом анализе чаще всего используют вариант обращения-фазовой хроматографии, когда подвижная фаза более полярна, чем неподвижная фаза. Применяются колонки с привитыми фазами. В качестве подвижных фаз рекомендуются смеси вода - метанол, вода - ацетонитрил или буферные растворы, кислоты, основания. В качестве неподвижной фазы чаще всего применяют гидрофобные вещества, привитые на силикагель (например, «Сепарон-18»),

Колонку в приборе ВЭЖХ изготавливают из стали или стекла диаметром 0,3-0,8 см, длиной 6-25 см. Она помещается в термостат, в котором поддерживается определенная температура.

Детектор в ВЭЖХ обычно спектрофотометрический. Он регистрирует оптическую плотность раствора исследуемого вещества при заданной длине волны. Возможно детектирование при нескольких длинах волн.

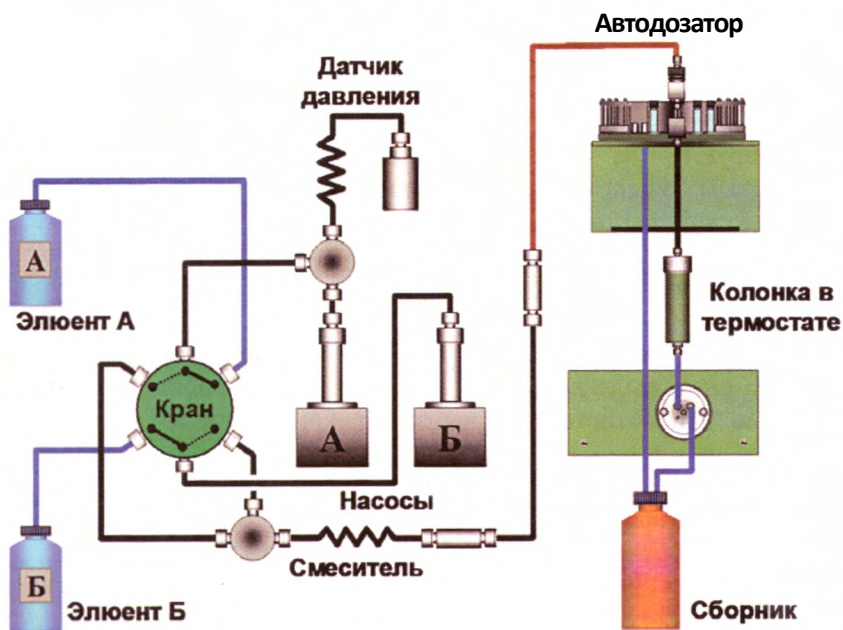


Рис. 6. Общая рабочая схема хроматографа «Милихром-4».

Идентификация веществ в извлечениях из биологических проб проводится следующим образом:

сопоставляют время (объем) удерживания определяемого вещества и образца сравнения;

сравнивают и сопоставляют светопоглощение определяемого компонента и образца сравнения при двух или нескольких длинах волн и оценивают их спектральные отношения;

оценивают совпадение значений времени удерживания определяемого компонента и образца сравнения при добавлении его к экстракту из объекта.

Метод ВЭЖХ нашел широкое применение в настоящее время в практике химико-токсикологического, клинического анализа при определении и обнаружении в биологических объектах токсических веществ кислотного и основного характера.

Метод ВЭЖХ для общего скрининга не применяется. Это связано с тем, что для каждой группы веществ необходимы специфические условия разделения. Этот метод является

оптимальным при частном скрининге, когда круг предполагаемых веществ ограничен (например, при экспертизе наркотического, токсикоманического опьянения).

Исследуемые вещества (барбитураты, алкалоиды опия и др.) экстрагируют из подготовленного объекта хлороформом, диэтиловым эфиром или смесью хлороформа и н-бутанола. Органический растворитель испаряют в токе теплого воздуха и растворяют в 100 мкл подвижной фазы, а затем анализируют в приборе, используя условия, рекомендуемые для данной группы соединений.

Например, для разделения опийных алкалоидов (по методике С.К.Еремина), выделенных из мочи после ее пробоподготовки с помощью кислотного гидролиза, рекомендуются следующие условия:

жидкостный хроматограф «Милихром-2, - 4 или -5»;
хроматографическая колонка (64x2 мм), заполненная
обращенно-фазовым сорбентом марки Сепарон-С18, 5 мкм;

подвижная фаза (элюент) - смесь 0,01 М водного раствора ацетата аммония (ЧДА, ГОСТ 3117-78) и ацетонитрила (для жидкостной хроматографии) 65:35.

скорость потока элюента - 100 мкл/мин;

детектирование проводится при длине волны 230 нм.

4. Методы экстракции

В современном химико-токсикологическом анализе метод экстракции широко используется для изолирования токсических веществ из объектов биологического происхождения, для очистки вытяжек из биологического материала от примесей, для выделения токсических веществ из предварительно очищенных вытяжек. Этот метод применяется при обнаружении ядовитых веществ химической реакцией, продукт реакции которого экстрагирует в другую фазу и для количественного определения этих веществ экстракционно-фотометрическим методом, для концентрирования исследуемых веществ, находящихся в сильно разбавленных растворах и для ряда других целей.

Экстракция - процесс извлечения растворителями соответствующих веществ из различных объектов. Объекты, из

которых извлекают соответствующие соединения, могут быть твердыми веществами и жидкостями. Поэтому процессы извлечения подразделяют на экстракцию в системе твердое тело - жидкость и на экстракцию в системе жидкость - жидкость (жидкостную экстракцию).

Для экстракции веществ в системе твердое тело - жидкость в качестве экстрагентов применяют органические растворители. Извлечения соответствующих веществ из твердых тел водой называется выщелачиванием.

В химико-токсикологическом анализе метод экстракции в системе твердое тело - жидкость и метод выщелачивания применяются для изолирования исследуемых веществ из органов трупов, растений, почвы и других объектов.

Процесс экстракции (выщелачивания) искомых ядовитых веществ из биологического материала является многостадийным. Основными стадиями этого процесса являются: проникновение экстрагента в клетки и ткани трупного материала и в другие объекты, в которых находится исследуемое вещество; растворение ядовитого вещества в экстрагенте или взаимодействие яда с экстрагентом в клетках и тканях биологического материала; перенос растворенного ядовитого вещества через оболочки клеток в межклеточное пространство и смешивание извлеченных из клеток веществ с основной массой экстрагента.

Степень изолирования исследуемых веществ из биологического материала зависит от следующих факторов:

- растворимости исследуемых ядовитых веществ в экстрагенте;
- структуры (пористости) биологического материала;
- проникающей способности экстрагентов в клетки и ткани биологического материала;
- степени измельчения биологического материала;
- интенсивности перемешивания смеси измельченного биологического материала и экстрагента;
- кратности настаивания биологического материала с экстрагентом;
- температуры, pH среды и ряда других факторов.

Влияние отдельных, перечисленных выше факторов на изолирование токсических веществ из биологического материала приводится ниже.

Жидкость-жидкостная экстракция — процесс распределения растворенного вещества между двумя несмешивающимися жидкими фазами, одной из которых в большинстве случаев является вода, а второй - не смешивающийся с водой органический растворитель.

Извлечение вещества из фазы органического растворителя в водную фазу называется рекстракцией.

На практике чаще всего встречаются следующие органические фазы, не смешивающиеся с водой: хлороформ, дихлорэтан, бензол, толуол, эфир и другие. Например, при экстрагировании водной вытяжки из биологического материала петролейным или диэтиловым эфиром, происходит отделение жиров и липидов из водной фазы, а при экстракции водной фазы хлороформом при рН 1,0...2,0 или 9,0...10,0 происходит разделение барбитуратов от алкалоидов и наоборот.

Если коэффициент распределения K_r между органической фазой и водой для какого-либо вещества известен, а также известны объемы этих двух растворителей, то легко вычислить, сколько изначально взятого вещества останется в водном растворе после каждой операции экстрагирования.

Иногда для экстрагирования могут применяться смеси органических растворителей. Например, смесь хлороформа и изопропанола в соотношении 3:2 используется для извлечения кокаина из водной вытяжки.

В современном химико-токсикологическом анализе экстракция является одним из основных методов выделения алкалоидов и других токсических веществ (кислоты, щелочи, пестициды) из вытяжек биологических жидкостей (моча, кровь, промывных вод желудка) и ряда других объектов.

Для каждого алкалоида, пестицида (и других ядов) имеется область значений рН, при которой они экстрагируются несмешивающимися с водой органическими растворителями в максимальных количествах. Область максимума экстракции отдельных алкалоидов зависит от природы органических растворителей. Известны алкалоиды (колхицин, кофеин, наркотин, теобромин и др.), максимум экстракции которых находится в кислой среде или на границе кислой и щелочной сред. Однако в определенных количествах эти алкалоиды экстрагируются и из щелочной среды. Алкалоиды, максимум экстракции которых

находится в щелочной среде, частично экстрагируются и из кислой среды. Ряд представителей пестицидов экстрагируются из биологического материала без подкисления или подщелачивания.

Некоторыми преимуществами метода экстракции объясняется широкое применение его не только в токсикологической химии, но и в химической технологии, фармации, биохимии и тд. При использовании методов экстракции не происходит химическое превращение разделяемых веществ, и не образуются побочные продукты. Вещества, выделенные с помощью метода экстракции, как правило, не содержат примесей, связанных с процессами адсорбции и окклюзии. Этот метод оправдывает себя при разделении термолабильных веществ. Использование метода экстракции для концентрирования позволяет переводить вещества из сильно разбавленных растворов в небольшой объем органического растворителя.

Переход экстрагируемого вещества из одного растворителя в другой происходит на основе законов диффузии.

Органические растворители, которые применяются для экстракции органических соединений оказались непригодными для экстракции большого числа неорганических соединений. Однако некоторые неорганические соединения и ионы способны взаимодействовать с карбоновыми и сульфоновыми кислотами, отдельными фосфорорганическими соединениями, высокомолекулярными аминами и хелатирующими агентами (купферон, 8-оксихинолин, дитизон, дитиокарбаматы и др.), и приобретают свойства экстрагироваться с органическими экстрагентами.

Составная часть экстрагента, химически взаимодействующая с извлекаемым веществом, называется реагентом.

Экстракция с помощью экстрагентов, взаимодействующих с экстрагируемыми веществами, является более сложным процессом, чем экстракция, основанная на физическом распределении. При использовании экстрагентов, взаимодействующих с экстрагируемыми веществами, процессы экстракции могут осложняться побочными реакциями. В ряде случаев одновременно может происходить экстракция нескольких различных соединений.

Перечень растворителей, применяемых в качестве экстрагентов, приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Свойства некоторых органических растворителей, применяемых для экстракции (по И. М. Коренману)

Растворимость	Плотность, г/см ³	Температура Кипения, ОС	Диэлектрическая проницаемость, Ф/м	Дипольный момент, Кл*м	Растворимость при 200°С	
					В воде, % (мае)	Воды в экстрагенте, Ю0г/мл
Н - Амилацетат	0,875	149,2	4,75	1,91	0,799	0,18
Н - Пентанол	0,814	138,5	13,9	1,80	0,05420,5	2,7
Бензол	0,874	80,1	2,28	0,00	0,072	0,082
Н - Буганол	0,813	117,1	17,1	1,68	0,015	7,9
Н - Гексан	0,659	68,7	1,89	0,00	0,15	0,014
Н - Гептан	0,684	98,5	1,92	0,00	1,47	0,005
1,2 - дихлорэтан	1,257	83,5	10,36	2,06		0,87
Диэтиловый эфир					1,79	
Изо - пентанол	0,719	34,5	4,34	1,15	16,9	6,5
Изо - бутанол	0,813	132,0	14,7	1,82	0,005	2,67
Сероуглерод	0,817	107,9	17,7	1,79	0,072	9,5
Хлороформ	1,262	46,3	2,64	0,00	0,01	0,22
4-х хлор.углерод	1,489	61,2	4,80	1,15	3,3	0,8
Этилацетат	1,595	76,7	2,24	0,00		0,08
	0,901	77,2	6,02	1,81		8,6

4.1. Основные количественные характеристики процессов экстракции

На основе методов экстракции лежит закон распределения который в 1891 г. сформировал В. Нернст.

Согласно закону распределения, вещество, растворенное в двух несмешивающихся или ограниченно смешивающихся жидкостях, распределяется между ними в постоянном отношении. Это отношение для идеальных систем зависит только от температуры, природы вещества и не зависит от концентрации.

Из этого закона следует, что при одновременном растворении нескольких веществ, каждое из них распределяется между обеими жидкими фазами таким образом, как будто в системе нет никаких других веществ, подлежащих распределению. Закон распределения справедлив лишь в том случае, если распределяемое вещество в обеих фазах находится в одной и той же форме.

Числовое значение распределения вещества является постоянной величиной, которое выражает отношение концентрации распределяемого вещества находящегося в обеих фазах (после наступления равновесия) в одной и той же форме и называется оно константой распределения:

$$P_0 = \frac{[A]_o}{[A]_в}, \quad (1)$$

где P_0 - константа распределения; $[A]_o$ — концентрация вещества в фазе органического растворителя, моль/л; $[A]_в$ — концентрация вещества водной фазы, моль/л.

На практике химико-токсикологического анализа полезным является знание степени экстракции извлекаемого вещества.

Степень экстракции. Степень экстракции (процент экстракции) - это отношение является количества экстрагированного вещества к общему (начальному) количеству этого вещества в водном растворе:

$$R = \frac{(A \times 100)}{N} \quad (2)$$

где R - степень экстракции вещества, %; A - количество вещества, которое экстрагировалось органическим растворителем, N - общее (начальное) количество вещества в водном растворе.

Количество вещества A , которое экстрагируется органическим растворителем, можно определить экспериментальным путем; применив соответствующий метод количественного определения. Степень экстракции вещества можно определить не только экспериментальным путем, но и путем соответствующих расчетов, зная константу или коэффициент распределения вещества, а также отношение объёмов водной фазы и фазы органического растворителя. Степень экстракции с указанными величинами связана следующим соотношением:

$$R = \frac{P_0 \times 100}{(P_0 + V_в/V_o)} \quad \begin{matrix} / \text{ЭЛ} \\ \text{У} \end{matrix}$$

где R - степень экстракции; P_0 - константа распределения; $V_в$ - объём водной фазы, мл; V_o - объём фазы органического растворителя, мл.

В формуле (3) отношение объема водной фазы к объему фазы органического растворителя заменяют величиной g :

$$g = \frac{V_B}{\square\square} \quad (4)$$

Объем органического растворителя, необходимого для экстракции, % рассчитывают по формуле:

$$V_0 = -y \cdot V_R \quad (5)$$

После соответствующего преобразования формулы (3) степень экстракции рассчитывают по уравнению

$$R^{\%} = \frac{(P \cdot x 100)}{(P + g)} \quad (6)$$

На основании числовых значений константы распределения и степени экстракции можно рассчитать ряд других количественных характеристик процессов экстракции.

Механизм процесса экстракции. При взбалтывании водного раствора вещества с органическим растворителем, который не смешивается с водой, гидратная оболочка молекул растворенного вещества разрушается. Молекулы воды в гидратной оболочке замещаются молекулами органического растворителя в результате чего образуются сольваты молекул растворенного вещества, которые легко переходят в органический растворитель. Хорошо экстрагируются молекулы тех веществ, сольваты которых в фазе органического растворителя являются более прочными, чем гидраты этих молекул в воде.

Более сложными являются процессы экстракции электролитов, которые в водных растворах частично или полностью распадаются на ионы. Ионы, несущие определенный заряд, хорошо гидратируются диполями воды. Связь ионов с диполями воды относительно прочная. Поэтому ионы, имеющие прочные гидратные оболочки, остаются в водной фазе и не экстрагируются органическими растворителями.

Экстракция органических кислот. Недиссоциированные молекулы органических кислот в водных растворах электронейтральны и слабо гидратируются молекулами воды. При контакте водных

растворов с органическими растворителями электронейтральные молекулы кислоты легко сольватируются, и поэтому переходят в слой органического растворителя.

Ионы, образующиеся в водных растворах при диссоциации слабых кислот, имеют соответствующие заряды, и поэтому легко гидратируются диполями воды. Связь молекул воды с ионами кислоты относительно прочная. Поэтому такие ионы слабо сольватируются молекулами органических растворителей и не экстрагируются органическими растворителями из водных растворов.

С повышением рН (т.е. с уменьшением концентрации водородных ионов в водном растворе) увеличивается диссоциация кислоты в растворе, что приводит к уменьшению ее недиссоциированных молекул. В результате этого понижается экстрагируемость слабой кислоты органическими растворителями из таких растворов.

При повышении концентрации водородных ионов (т.е. с понижением рН) в водном растворе увеличивается число молекул недиссоциированной кислоты, следовательно, возрастает его экстрагируемость органическими растворителями. При значительном повышении концентрации водородных ионов в одном растворе слабую кислоту практически полностью можно перевести в недиссоциированное состояние и этим повысить его экстрагируемость.

Экстракция оснований. Многие органические основания, к числу которых относятся алкалоиды и их многочисленные синтетические аналоги, являются фармацевтическими препаратами. Эти основания в нейтральной среде находятся в недиссоциированном состоянии. Недиссоциированные молекулы органических оснований слабо гидратируются молекулами воды, но хорошо сольватируются молекулами органических растворителей. Поэтому недиссоциированные молекулы органических оснований хорошо экстрагируются из водных растворов органическими растворителями.

При действии кислот на органические основания образуются их соли, которые в водных растворах диссоциируют на ионы. Ионы, образующиеся при диссоциации солей органических оснований, хорошо гидратируются молекулами воды и слабо сольватируются молекулами органических растворителей. Поэтому соли орга-

нических оснований (за небольшим исключением) не экстрагируются органическими растворителями.

Органические основания являются слабыми электролитами. Степень диссоциации их зависит от pH среды. От прибавления кислот к органическим основаниям они переходят в соли. При этом увеличивается количество ионов и уменьшается количество недиссоциированных молекул, следовательно, уменьшается степень экстракции этих веществ органическими растворителями. От прибавления щелочей к солям органических оснований уменьшается количество ионов и увеличивается количество недиссоциированных молекул этих оснований. В результате этого в щелочной среде увеличивается степень экстракции органических оснований.

Экстракция амфотерных соединений. К числу амфотерных соединений, имеющих токсикологическое значение, относятся вещества, в молекулах которых содержатся аминный азот и фенольные группы (морфин, сальсолин и др.), а также соединения, содержащие аминный азот и карбоксильную группу (аминокислоты и др.). Эти соединения в зависимости от pH среды диссоциируют как основания (в кислой среде) и как кислоты (в щелочной среде). Экстракция амфотерных соединений зависит от pH среды, так как при изменении pH изменяется количество ионов и недиссоциированных молекул амфотерных соединений. Амфотерные соединения, находящиеся в молекулярном состоянии, экстрагируются органическими растворителями. Ионы амфотерных соединений хорошо гидратируются молекулами воды и почти не экстрагируются органическими растворителями.

Наибольшее количество амфотерных соединений экстрагируется при pH, соответствующем изоэлектрической точке этих веществ. Это объясняется тем, что в изоэлектрической точке молекулы амфотерных соединений не имеют электрического заряда.

4.2. Влияние различных факторов на экстракцию.

На экстракцию веществ органическими растворителями оказывают влияние различные факторы (природа экстрагируемого вещества, природа экстрагента, температура, pH среды, присутствием электролитов в водных растворах, скорость взбалтывания и др.).

Влияние температуры на экстракцию. Изменение температуры влияет на константу распределения экстрагируемого вещества. Это объясняется тем, что при изменении температуры изменяется растворимость экстрагируемых веществ в каждой фазе, а также изменяется взаимная растворимость органической и водной фаз. Причем с изменением температуры растворимость вещества в каждой фазе изменяется неодинаково. Это является одной из причин изменения константы распределения вещества при изменении температуры.

Влияние pH среды на экстракцию. Количество экстрагируемого вещества зависит от диссоциации его в водной фазе, которая в свою очередь зависит от значения pH среды. При экстракции недиссоциированные молекулы переходят в органическую фазу, а ионы, которые хорошо гидратированы молекулами воды, остаются в водной фазе. Поэтому сильные электролиты, хорошо диссоциирующие в воде на ионы, не экстрагируются органическими растворителями.

Влияние электролитов на экстракцию. Прибавление хорошо растворимых солей (натрия сульфат, натрия хлорид и др.) к водному раствору другого вещества может понижать или повышать его растворимость в воде. Понижение растворимости веществ в водных растворах под влиянием электролитов называется высаливанием, а повышение растворимости - всаливанием.

Высаливание является фактором, понижающим растворимость веществ в воде и повышающим их экстрагируемость органическими растворителями из водных растворов.

Установлено, что высаливающим действием обладают некоторые хорошо растворимые, в воде неэлектролиты. Так, например, этиловый спирт хорошо высаливает уксусную кислоту из ее водных растворов при экстракции этой кислоты этилацетатом и т.д.

Вещества, проявляющие свойства всаливателей, применяются для повышения растворимости слаборастворимых веществ в воде. Механизм всаливания объясняется химическим взаимодействием всаливателей и всаливаемых веществ в экстракционных системах. В результате этого могут образовываться соединения или комплексы, хорошо растворимые в воде, которые не экстрагируются органическими растворителями.

Требования, предъявляемые к органическим растворителям для экстракции. К органическим растворителям, применяемым для экстракции, предъявляется ряд требований.

Органический растворитель должен хорошо извлекать исследуемое вещество из водной фазы.

Желательно, чтобы применяемый растворитель был избирательным или селективным. Он должен извлекать из растворов только одно вещество или группу родственных соединений.

Растворитель должен иметь незначительную растворимость в воде, а вода не должна заметно растворяться в этом растворителе. В таких случаях, органический растворитель насыщают водой, а воду - органическим растворителем. Только после этого производят экстракцию.

Органический растворитель по возможности не должен быть низкокипящим. Температура кипения растворителя должна быть выше 50°C. Низкокипящие органические растворители даже при комнатной температуре быстро улетучиваются. Однако низкая температура кипения органического растворителя является положительным фактором с точки зрения удаления и регенерации их после экстракции.

Плотность органических растворителей по возможности должна отличаться от плотности воды и водных растворов. Если иметь большую разность плотностей указанных жидкостей, то разделение фаз происходит быстро.

Растворители не должны быть огнеопасными и ядовитыми.

Есть и другие требования, предъявляемые к растворителям.

5. Методы УФ - и ИК - спектроскопии

Теоретические основы спектрометрии хорошо изложены в курсе аналитической химии. Эти методы основаны на поглощении электромагнитного излучения определяемым веществом. Область спектра характеризуется определенным участком длин волн электромагнитного излучения (см. табл. 3). Для обнаружения ядовитых веществ в токсикологической химии используют спектрометрию в ближней ультрафиолетовой области от 200 до 380 нм, в видимой области от 380 до 750 нм, и средней инфракрасной области спектра от 2500 до 25000 нм. Ультрафиолетовая область до

200 нм требует специальных (вакуумных) устройств. Аппаратура для дальней инфракрасной области используется в научных целях и в широкой практике не применяется.

Таблица 3.
Спектральные области и поглощения

Область спектра	Уф-область	Видимая область	ИК-область		
			ближняя	средняя	дальняя
Длина волны, нм	185-380	380-750	750 - 2500	2500 - 25000	-
Волновое число, см-1	-	-	13300-4000	4000 - 400	400- 10
Тип поглощения	Электронное		Вращательное, колебательное, деформационное		Молекулярное вращение

5.1. Спектрофотометрия в УФ- и видимой области спектра (Общая часть)

Спектрофотометрический анализ в УФ- и видимой области спектра относится к инструментальным методам анализа, и выполняют его с помощью специальных приборов спектрофотометров, например, марки СФ-26, СФ-46, Спекорд, Хитачи и др.

С помощью данного метода проводят идентификацию, определение чистоты и количественное определение веществ в исследуемых пробах. Идентификация веществ выполняется путем сравнения его спектральных свойств (величин $A_{\text{макс.}}$, $A_{\text{мин}}$, точки перегиба, ϵ , $E/\langle D \rangle$ отношений оптических плотностей при определенных длинах волн и т.п.) с аналогичными свойствами стандартного образца. Эта задача качественного спектрофотометрического анализа решается всегда без осложнений, когда речь идет об анализе однородной пробы. Поэтому необходимо убедиться в однокомпонентности пробы, предварительно с помощью других, чаще хроматографических методов. Эту задачу также можно решить с помощью спектрофотометрического анализа, если известен спектр чистого компонента.

Оптическая плотность однокомпонентной системы описывается уравнением $D = \epsilon CL$, где ϵ -зависящий от длины волны молярный показатель поглощения единственного компонента, а C - его концентрация.

Количественный анализ выполняют, используя следующую I последовательность операций.

1. Снимают полный спектр поглощения раствора анализируемого вещества и выбирают аналитическую длину волны $\lambda_{\text{нал}}$. Она должна удовлетворять нескольким условиям, направленным на достижение максимальной воспроизводимости и чувствительности анализа. Основным из этих условий является, возможно, большая величина молярного показателя поглощения ϵ , а следовательно, и наклона градуированного графика. Чем выше значение ϵ , тем большие изменения оптической плотности будут соответствовать изменениям концентрации AC . Кроме того, при большем значении ϵ меньше влияние присутствующих в растворе поглощающих сvez примесей. Поэтому в большинстве случаев канал выбирают на максимуме поглощения определяемого вещества.

Выбор канал на пологом максимуме поглощения уменьшает влияние ширины щели и погрешностей в установке длины волны. При наличии у определяемого вещества нескольких максимумов поглощения надо отдавать предпочтение максимумам при больших длинах волн.

Неблагоприятными для анализа спектральными областями являются области переключения источников излучения. Во многих случаях не удастся подобрать канал, удовлетворяющую одновременно всем указанным требованиям. Поэтому при выборе аналитической длины волны следует добиваться разумного компромисса, обеспечивающего оптимальные условия анализа.

После выбора k^{\wedge} рассчитывают ориентировочное значение ϵ , а с его помощью по уравнению $CL = D/\epsilon$ определяют концентрации стандартных растворов анализируемого вещества и толщину кювет, в которых может быть измерена оптическая плотность этих растворов.

Готовят 5 -7 стандартных растворов с известными концентрациями, удовлетворяющими указанным условиям и измеряют их оптическую плотность при $\lambda_{\text{англ}}$, по возможности на том же спектрофотометре на котором предполагается проводить анализ.

Строят график $D = f(C)$ (при $L = \text{const}$) или $D = f(CL)$.

Если анализируемое вещество подчиняется закону Бугера, то построенная зависимость будет линейна и будет проходить через начало координат. Определение концентрации анализируемых растворов проводят по градуировочной зависимости или в простейшем случае по формуле: $C = D / \epsilon L$

Результаты спектрофотометрических измерений в большинстве случаев интересуют исследователя не сами по себе, а в сравнении с аналогичными результатами, полученными в другое время, для другого объекта, часто на другом приборе.

Правильность спектрофотометрических данных можно оценить по результатам исследования стандартных образцов, свойства которых считаются известными.

Спектрофотометрическое исследование дает два вида результатов, одни из которых выражены в единицах длины волны, а другие - оптической плотности пропускания. В соответствии с этим, в спектрофотометрии используют стандарты для проверки шкалы длин волн и шкалы оптических плотностей или пропускания.

Проверку шкалы длин волн спектрофотометра лучше всего производить по спектру излучения ртутной лампы. В этом спектре в области 220-1150 нм имеется ряд весьма узких пиков, положение которых известно с точностью до 0,01 нм. Как правило, методика проверки шкалы длин волн с помощью ртутных ламп описывается в инструкциях по эксплуатации прибора. Для текущего контроля шкалы длин волн могут использоваться растворы или стеклянные фильтры, имеющие весьма узкие полосы поглощения.

На практике может быть полезным определение состояния «своего» прибора по рекомендуемому зарубежными специалистами эталонному раствору калия дихромата в растворе серной кислоты. Для этого готовят 0,006 % раствор калия дихромата в 0,005 М растворе серной кислоты и измеряют спектр поглощения от 200 до 400 нм. Если значения максимумов и минимумов спектра окажутся при длинах волн 236, 257, 313 и 350 нм, а значения оптической плотности $0,7483 \pm 0,004$ для 235 нм, $0,8645 \pm 0,002$ для 257 нм, $0,2916 \pm 0,002$ для 313 нм и $0,6403 \pm 0,002$ для 350 нм, то такой прибор имеет хорошее рабочее состояние. А отклонение спектральных данных от стандартных, приведенных выше свидетельствует о необходимости калибровки прибора.

Однако надо помнить, что измерения, выполненные даже на тщательно выверенном по эталонам приборе, будут содержать систематические погрешности как в значениях $k_{\text{Max}j}$ так и в величине e . Эти погрешности связаны с полихроматичностью используемого излучения, и полностью избежать их при применении источников излучения с непрерывным спектром невозможно. Чем уже полоса поглощения, чем меньше ее симметрия и чем в более коротковолновой области она расположена, тем сильнее (при прочих равных условиях) искажения в k^{\wedge} и γ из-за полихроматичности излучения. В связи с этим, желательно для каждого прибора определить сходимость и воспроизводимость измерений и учитывать их в работе постоянно.

Сходимость, близость друг к другу результатов параллельных измерений одного и того же объекта, выполненных в одинаковых условиях на одном и том же приборе в течение короткого промежутка времени характеризуется среднеквадратичным отклонением и зависит от:

- а) погрешности настройки прибора на 0 и 100 % пропускания;
- б) погрешности отчета по измерительному прибору;
- в) нестабильности электронной схемы прибора в процессе измерения и другими причинами.

Воспроизводимость характеризует сходимость результатов измерений, выполненных в различных условиях, в разное время, на разных приборах, различными методами и количественно также оценивается среднеквадратичным отклонением или дисперсией.

Очевидно, что сходимость определяется лишь случайными погрешностями эксперимента, а в оценку воспроизводимости могут входить и систематические погрешности, связанные с особенностями разных приборов, методов, временным дрейфом и т.п.

К основным факторам, влияющим на воспроизводимость результатов спектрофотометрического измерения можно отнести:

Химические и фотохимические факторы.

Кюветную погрешность.

Погрешность холостого опыта, складывающегося из погрешностей пунктов 1 и 2.

Для исключения погрешностей необходимо:

исключить погрешности в приготовлении анализируемого раствора, влияние мутности раствора и флуоресценции анализируемого вещества или содержащихся в растворе примесей.

использовать в работе одни и те же кюветы,
измерения оптической плотности используемого раствора
производить относительно холостого.

предварительно установить аналитическую длину волны анализируемого вещества на данном приборе.

Установлено, что оптимальное по воспроизводимости значение оптической плотности D опыта лежит обычно в интервале 0,2-0,8 предела поглощения. Среднеквадратичные ошибки сходимости и воспроизводимости в этом диапазоне почти постоянны и равны 0,001 и 0,009 соответственно. Относительная погрешность резко возрастает при $D < 0,2$ и лишь медленно увеличивается при $D > 1,5$.

Для большинства приборов рабочий интервал оптических плотностей равен 0,2-1,7, а для СФ-46 от 0,2 до 5,0.

Растворители, применяемые в спектрофотометрии, могут иметь собственные поглощения и, в связи с этим, необходимо руководствоваться данными, приводимыми в таблице 4,5.

Таблица 4.
Некоторые растворители, используемые в спектрофотометрии

Растворитель	Нижний предел пропускания ультрафиолетовой области, нм
Ацетон	330
Лцетонирил	212
Бензол	280
Бутанол	220
Вода	210
Гексан	210
Гептан	210
П-Диоксан	220
Дихлорэтан - 1,2	235
Диэтиловый эфир	220
Изопропиловый спирт	210
Метанол	210
Метилциклогексан	210
Серная кислота (96%)	210
Хлороформ	240
Циклогексан	210
Четыреххлористый углерод	260
Этилацетат	260
Этиловый спирт	210

Использование УФ-спектрофотометрии в химико-токсикологическом анализе осложняется присутствием в извлечении примесей эндогенных соединений, что особенно проявляется при анализе трупного материала, подвергшегося гнилостным изменениям. Эндогенные соединения создают так называемое «фоновое поглощение», искажают характер спектра поглощения исследуемого соединения.

Для устранения влияния фонового поглощения в различных методиках используют индивидуальные способы очистки, как на первом этапе изолирования (при настаивании объекта с полярным растворителем), так и на втором этапе (после экстракции токсических веществ органическим растворителем из водной фазы). Если фоновое поглощение остается достаточно высоким, то по характеру спектра не всегда удастся идентифицировать вещество. Несмотря на все сложности метод спектрофотометрии используется при ХТА на производные барбитуровой кислоты, на отдельные алкалоиды и другие классы токсичных соединений, описываемые в соответствующих разделах настоящего издания.

5.2. Инфракрасная спектроскопия

Спектр поглощения в инфракрасной области представляет собой сложную кривую с большим числом максимумов и минимумов. Спектральные характеристики (положение максимумов полос, их полуширина, интенсивность) индивидуальной молекулы зависят от масс составляющих ее атомов, геометрического строения, особенностей межатомных сил, распределения заряда и др. Поэтому ИК-спектры строго индивидуальны, что особенно ценно для идентификации вещества. В фармацевтическом и химико-токсикологическом анализе используется область электромагнитного спектра, которая охватывает интервал 4000 - 250 см⁻¹. Совокупность всех полос поглощения, образующая ИК-спектр данного соединения, однозначно определяет его индивидуальность, используется для определения подлинности лекарственного (токсического) вещества и подтверждает его нахождение в извлечениях из объектов химико-токсикологического анализа.

Методика обнаружения веществ кислотного и основного характера сводится к следующему: сухой остаток после испарения органического растворителя (экстракта из биологического объекта) растирают с сухим мелко-измельченным бромидом калия в соотношении 1:200 или 1:300 (зависит от марки прибора). Часть смеси переносят в специальную матрицу и прессуют. Полученный прозрачный диск помещают в прибор ИК-спектрофотометр и проводят измерения.

Параллельно анализируют стандартный образец. Совпадение полос поглощения в обоих спектрах свидетельствует об идентичности веществ.

Если отсутствует стандартный образец, то пользуются сборниками спектров с расшифровкой полос поглощения соответствующему отдельным токсическим веществам и функциональным группам или типам связи (табл. 5).

Таблица 5.

Полосы поглощения некоторых функциональных групп

Функциональная группа	Частота, см ⁻¹ , интенсивность
O-H	3650-3200(переменная)
N-H	3500-2900 (средняя)
C-H	3300-2700 (сильная)
C-C	2700-2500 (слабая)
C=N	2500-2200 (средняя)
C=O	1850-1650 (сильная)
C=C	-1650 (средняя)
CO	1300-1000 (сильная)

К настоящему времени изучены и сведены в соответствующие таблицы и атласы инфракрасные спектры более 20 000 различных соединений, что значительно облегчает практическое использование этого метода.

Метод отличается универсальностью, избирательностью и весьма характерен. В иностранной литературе его часто называют *finger print*, т.е. отпечатки пальцев, что означает неповторимость инфракрасного спектра каждого соединения.

Надежная идентификация токсических веществ с помощью этого метода может быть проведена только после тщательной очистки извлечений из объекта.

5.3. Люминесцентный метод анализа

Этот метод основан на явлении люминесценции. Наибольшее распространение получил анализ, основанный на люминесценции, возбуждаемой УФ-излучением. Для этой цели применяют ртутно-кварцевую лампу типа ПРК и светофильтры УФС-3 и УФС-4, которые почти полностью поглощают видимый свет, но пропускают ультрафиолетовый.

По характеру люминесцентного свечения различают фосфоресценцию - свечение, продолжающееся более или менее длительное время после отключения источника возбуждения свечения и флуоресценцию - свечение, прекращающееся сразу после удаления источника возбуждения.

Интенсивность флуоресценции зависит от присутствия в растворе посторонних веществ. Некоторые вещества способны гасить ее, и в их присутствии интенсивность флуоресценции падает. Например, присутствие ионов хлора значительно ослабляет флуоресценцию хинина, а присутствие серной кислоты усиливает флуоресценцию хинина. Способность некоторых ядовитых веществ флуоресцировать используется в химико-токсикологическом анализе с целью их обнаружения. Эта реакция отличается высокой чувствительностью. Если органическое соединение обладает кислотными или основными свойствами, его люминесценция меняется в зависимости от рН среды. Например, в кислой среде в присутствии серной кислоты хинин имеет голубую флуоресценцию, в щелочной среде (рН=9) хинин флуоресцирует фиолетовым

цветом. Продукты окисления хинина имеют желто-зеленую флуоресценцию.

Флуоресценция используется для обнаружения пахикарпина. Продукты его окисления флуоресцируют красно-оранжевым цветом. Для секуринина характерна желто-коричневая флуоресценция.

Способность ядовитых веществ флуоресцировать или поглощать УФ-лучи используется при определении в биологических объектах лекарственных и наркотических веществ с помощью хроматографии в тонком слое сорбента. При облучении пластинки УФ-излучателем возможно обнаружение некоторых ядовитых веществ. Флуоресцировать могут и трупные яды, выделяемые из объекта вместе с веществами кислотного и основного характера. Например, при облучении УФ-лучами норгарман дает темно-синюю флуоресценцию, гриптамин - желто-зеленую. Поэтому использование люминесцентного анализа в химико-токсикологической экспертизе сочетается с применением других подтверждающих способов и реакций обнаружения.

Люминесцентный метод широко используется также в иммунохимическом анализе для обнаружения и определения многих лекарственных и наркотических веществ.

6. Отдельные виды химического анализа, применяемые в токсикологической химии

6.1. Аналитический скрининг с помощью химических реакций

На первой стадии анализа необходимо выбрать реакции, позволяющие установить или исключить наличие отдельных групп химических соединений или индивидуальных веществ. Поэтому этот анализ носит также характер скрининга. На этой стадии химико-токсикологического анализа используют наиболее чувствительные реакции. Как правило, эти реакции неспецифичны для отдельных веществ. При отсутствии аналитического эффекта вся группа или конкретное вещество исключается из анализа.

Примеры:

При исследовании извлечений из объекта на вещества основного характера рекомендуется использовать осадительные (общее алкалоидные) реактивы. В анализе применяют не менее 4—5 реактивов, отличающихся наибольшей чувствительностью по отношению к большинству алкалоидов и органических оснований:

фосфорно-вольфрамовая кислота - $H_3PO_4-12W0_3-2H_2O$;

фосфорно-молибденовая кислота - $H_3PO_4-12Mo0_3-2H_2O$;

реактив Драгендорфа - раствор йодида висмута в растворе йодида калия;

реактив Бушарда - раствор йода в растворе йодида калия;

реактив Майера - раствор йодида ртути в растворе йодида калия.

Для проведения реакций определенную часть хлороформного экстракта испаряют, добавляют хлороводородную кислоту для перевода токсических веществ в соли и прибавляют 1-2 капли соответствующего реактива.

Если ни с одним из реактивов ни мути, ни осадка не образуется, делают заключение о необнаружении алкалоидов и веществ основного характера. Если хотя бы с одним из реактивов образуется муть или осадок - проводят дальнейшее исследование с использованием подтверждающих методов и реакций.

При анализе извлечений из биологических объектов на группу опийных алкалоидов рекомендованы реакции со специальными реактивами. Для предварительной идентификации опийных алкалоидов и промедола чаще всего используют:

реактив Марки - раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте;

реактив Фреде - раствор молибдата аммония в концентрированной серной кислоте;

реактив Эрдмана - смесь концентрированных серной и азотной кислот;

реактив Манделина - раствор ванадата аммония в концентрированной серной кислоте.

Для проведения реакций на фарфоровых чашках испаряют извлечение из объекта (хлороформный экстракт, полученный из раствора с $pH = 8 - 10$) и на сухие остатки наносят соответствующие реактивы. При отсутствии окрашивания делают заключение о необнаружении алкалоидов опия и промедола.

Исследование эфирных экстрактов из объектов на производные барбитуровой кислоты проводят, используя реакцию с аммиачным раствором ацетата кобальта. При отсутствии окрашивания дают заключение о не обнаружении в исследуемом объекте барбитуратов.

При анализе дистиллята на ядовитые алкилгалогениды используют предварительные реакции отщепления органически связанного хлора и образования изонитрила. При получении отрицательного результата обеих реакций дают заключение о не обнаружении в исследуемом объекте хлороформа, хлоралгидрата и четыреххлористого углерода.

Анализ дистиллята на присутствие фенола проводят по реакции с бромной водой, и при отсутствии осадка дается заключение о не обнаружении в объекте фенола и крезолов.

Определение этилового спирта проводят по реакции образования йодоформа. При отсутствии запаха йодоформа и осадка с характерной формой кристаллов дают заключение о не обнаружении в объекте этилового спирта

При проведении холинэстеразной пробы в извлечении из объекта на фосфорсодержащие ядохимикаты и получении отрицательного результата дают заключение о не обнаружении всей группы фосфорорганических соединений в объекте исследования и т.д.

Скрининговые методы и аналитические реакции предварительного анализа позволяют значительно сократить время, затрачиваемое на исследование биологического объекта на различные группы ядовитых веществ.

6.2. ТСХ-скрининг веществ кислотного характера

Эфирный экстракт из кислого раствора, при изолировании «лекарственных ядов» из биологического материала выпаривают досуха под током воздуха при температуре 40-50°C. Остаток с помощью хлороформа количественно наносят в виде полосы на стартовую линию пластинки с тонким слоем силикагеля КСК. Для хроматографирования используют силикагель марки КСК с размером частиц не более 0,12 мм. Пластинки готовят с помощью аппликатора или вручную из расчета 3,0 силикагеля, 0,2 г гипса и 7,5 мл 0,025 М раствора воды на одну пластинку размером 9 x 12 см. Активируют пластинки в течение 30 минут при 120°C. По краям стартовой линии наносят хлороформный раствор смеси кислотных форм дифенина и тиопентала и хроматографируют в системе ацетон - н-гексан -

диэтиламин (10 : 10 : 1). После высыхания пластинку обрабатывают раствором сульфата ртути до увлажнения. Вещества кислотного характера проявляются в виде полос (метчики в виде пятен) белого цвета на белом фоне (за исключением этосукцимида и мепробамата). Устанавливают, какой хроматографической зоне относятся искомые вещества. Визуально можно обнаружить 3 хроматографические зоны (рис. 7);

вещества первой хроматографической группы (пятна расположены между линией старта и линией миграции пятен дифенина). К данной группе относятся: ацетилсалициловая, бензойная и салициловая кислоты, бутатион, бензонал, фенобарбитал.

вещества второй хроматографической группы (пятна расположены между линией миграции дифенина и тиопентала). К ним относятся: дифенин, барбитал, барбамил, этаминал.

вещества третьей хроматографической группы (пятна расположены между линией миграции тиопентала и фронта растворителей). К ним относятся: тиопентал, пуфемид, этосукцимид, ноксирон, мепробамат.

Участок силикагеля из соответствующей зоны, содержащий исследуемое вещество, количественно переносят во флакон вместимостью 20 мл, добавляют 1 мл насыщенного раствора хлорида натрия, 10 мл хлороформа, встряхивают и центрифугируют. Хлороформную фазу фильтруют через сухой бумажный фильтр и выпаривают при 50-60°C на водяной бане. Операцию элюирования повторяют еще один раз, используя 5 мл хлороформа. Дальнейшее исследование объединенного хлороформного извлечения проводится на основе полученного результата ТСХ скрининга.

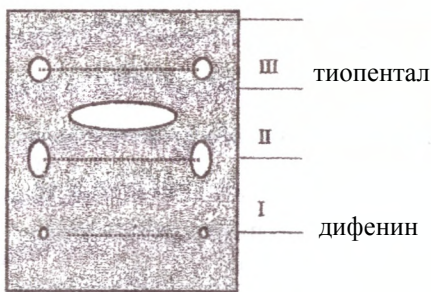


Рис. 7. Хроматограмма при исследовании веществ кислотного характера (ТСХ-скрининг).

6.3. ТСХ-скрининг веществ основного характера

К эфирным экстрактам из щелочного раствора прибавляют 2 капли спиртового раствора хлороводородной кислоты, перемешивают и выпаривают под током воздуха на водяной бане при $T=40-50^{\circ}\text{C}$. Сухой остаток растворяют в небольшом объеме хлороформа, насыщенного 25 % раствором аммония гидроксида, и количественно наносят на стартовую линию хроматографической пластинки в виде полосы длиной 5 см. Для хроматографирования используют силикагель марки КСК с размером частиц не более 0,12 мм. Пластинки готовят с помощью аппликатора или вручную как описано выше (при использовании силикагеля марки Ls его забуферивают 0,05 М раствором калия гидроксида). Активируют пластинки в течение 30 минут при 120°C . На пластинку справа и слева от них в две точки - хлороформный раствор смеси пятен стандартных веществ, в качестве которых использует кодеин, дикаин, новокаин, амидопирин, седуксен (хлороформные растворы оснований стандартных веществ в концентрации 1 мг/мл смешивают в равных количествах и полученный раствор используют для анализа). Хроматографирование проводят в системе ацетон в течение 40-45 минут до продвижения фронта растворителя на 10 см в камерах без предварительного насыщения парами ацетона, соблюдая определенное соотношение между объемом растворителя и объемом камеры (6-7 мл ацетона на 1 л камеры)

После высушивания хроматографическую пластинку рассматривают в УФ-свете (светофильтры с максимумами пропускания 254 и 360 нм), отмечают зоны флюоресценции и обрабатывают реактивом Драгендорфа. Разделившиеся метчики в виде пятен желто-оранжевого цвета образуют на хроматограмме 6 зон (рис.8). Определяют в какую зону попадает анализируемое вещество (проявляется в виде горизонтальной полосы), и в зависимости от этого относят его к одной из 6 хроматографических групп, используя данные табл. 7.

Если ни в одной из хроматографических групп не обнаруживаются полосы оранжевого цвета, дают заключение о необнаружении веществ основного характера.

МЕТЧИКИ

ГРУППЫ

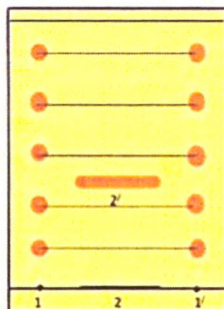
седуксен

амидопирин

новокаин

дикаин

кодеин



VI

V

IV

III

II

I

Рис. 8. Хроматограмма веществ основного характера

Таблица 7.

Распределение веществ основного характера по хроматографическим группам (сокращенный список)

1 группа	2 группа	3 группа
Метеразин	Аминазин	Дикаин
Морфин	Амитриптилин	Хлорпротиксен
Атропин	Промедол	Неулептил
Пахикарпин	Пропазин	Хлорацизин
Г гидрокодон	Димедрол	Скополамин
Стрихнин	Гиоридазин	Физосигмин
Тропацин	Дипразин	Совкаин
Хинин	Грифтазин	
Мажептил	Кодеин	
Этаперазин	Этилморфин	
4 группа	5 группа	6 группа
Аконитин	Амидопирин	Мидокалм
Мебикар	Папаверин	Фепранон
Антипирин	Дибазол	Резерпин
Новокаин	Феназепам	Эфедрин
Тизерцин	Мезапам	Седуксен
Г алоперидол	Этионамид	
Дротаверин (но-шпа)	Нитразепам	
Кокаин	Этмозин	
Элениум	Оксазепам	

В случае обнаружения на хроматограмме вещества основного характера окрашенную зону отмечают, участок силикагеля, содержащий исследуемое вещество, снимают с пластинки и количественно переносят в пенициллиновый флакон вместимостью 20 мл, добавляют 5 мл 1 М раствора гидроксида натрия и экстрагируют два раза порциями эфира по 10 мл. Эфирную фазу отделяют, фильтруют через небольшой бумажный фильтр, который затем промывают эфиром, и выпаривают органический растворитель на водяной бане при температуре 400°С под током воздуха досуха, предварительно добавив 2 капли 10% спиртового раствора хлороводородной кислоты.

Параллельно проводят хроматографирование контрольной пластинки, на линии старта которой наносят только смесь метчиков (Рис.9). Обнаружение нанесенных на пластинку свидетелей в соответствующих зонах свидетельствует о достоверности полученных результатов хроматографирования.

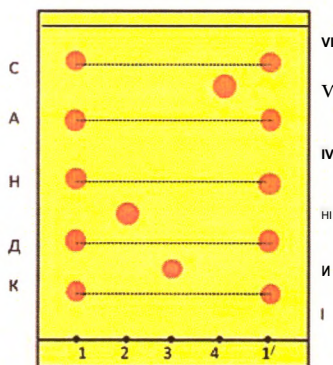


Рис. 9. Контрольная хроматограмма веществ основного характера

6.4. Микрористаллоскопический анализ

Микрористаллоскопический анализ основан на обнаружении веществ по форме, величине и окраске их кристаллов. В большинстве случаев для идентификации химических соединений с помощью микрористаллоскопического метода определяют форму

или окраску не самих исследуемых веществ, а кристаллических продуктов, которые образуются при взаимодействии этих соединений с соответствующими реагентами. Форму и окраску кристаллов определяют с помощью микроскопа.

Микрориссталлоскопический метод анализа имеет ряд достоинств. Для анализа с помощью этого метода требуются малые количества исследуемых веществ. Указанный метод может быть использован для обнаружения взрывчатых и ядовитых веществ, работа с большими количествами которых небезопасна. При обнаружении химических соединений с помощью этого метода в большинстве случаев исключаются такие громоздкие операции, как фильтрование, выпаривание, прокаливание и т.д.

Микрориссталлоскопические реакции выполняют на предметных стеклах, на которые наносят растворы исследуемых веществ, добавляют к ним растворы соответствующих реагентов, а затем под микроскопом наблюдают форму и окраску образовавшихся кристаллов.

Кристаллы, которые образуются при взаимодействии исследуемых веществ с реагентами, должны иметь необходимую величину и форму, свойственную продукту взаимодействия этого соединения с реагентами.

Образующиеся кристаллы должны быть относительно крупными (20-50 мк). Форма грани этих кристаллов должны быть видны под микроскопом при малом увеличении (60-100 раз). Более мелкие кристаллы (2-20 мк) можно видеть под микроскопом только при увеличении в 150- 250 раз. При определении формы кристаллов под микроскопом обыкновенно пользуются увеличением в 30-80 раз (общее увеличение микроскопа равно произведению увеличений объектива и окуляра).

Применение микрориссталлического метода в анализе. Несмотря на некоторые достоинства микрориссталлоскопического метода, он имеет и ряд недостатков. Основной из них заключается в том, что при выполнении микрориссталлоскопических реакций в ряде случаев довольно трудно получить кристаллы строго определенной формы, которые зависят от многих факторов (концентрации исследуемого: вещества, объема к концентрации реагента, наличия примесей, природы растворителя, условий кристаллизации, скорости образования кристаллов, испарения

жидкостей на предметном стекле, рН среды, температуры, положения кристаллов во время роста, полиморфизма и др.).

Ограниченное число форм кристаллов, образующихся при микрокристаллоскопических реакциях, и большое число веществ, которое можно определять с помощью этих реакций, приводят к тому, что одну и ту же форму могут иметь кристаллы нескольких веществ. Это обстоятельство является причиной понижения специфичности микрокристаллоскопических реакций.

Отсутствие научно-обоснованной номенклатуры форм кристаллов, образующихся при микрокристаллоскопических реакциях, препятствует широкому применению этого метода в химико-токсикологическом анализе. Так, например, в микрокристаллоскопическом анализе для указанной цели иногда, употребляются термины: сростки кристаллов в виде летящих птиц, кристаллы, напоминающие дубовые листья, кристаллы рисообразной формы, чечевицеобразные кристаллы, густые сростки и т.д., имеющие мало общего с терминами, принятыми в кристаллографии. Учитывая отмеченные выше недостатки микрокристаллоскопического метода, выполнение микрокристаллоскопических реакций должны проводить лица, имеющие соответствующую подготовку и определенный опыт в этой области анализа.

Как подсказывает опыт практической работы, микрокристаллоскопические реакции следует выполнять после того, как наличие исследуемого вещества в пробе, уже установлено другими реакциями, методами и хорошо очищены от примесей.

Выполнение контрольных опытов до некоторой степени исключает возможность ошибки при оценке результатов микрокристаллоскопических реакций. С этой целью на одно предметное стекло наносят кашно исследуемого раствора, на другое каплю раствора чистого препарата. Затем на каждое стекло наносят соответствующий реактив, и сравнивают форму кристаллов, образовавшихся на обоих предметных стеклах.

По образованию осадков и кристаллов характерной формы подтверждают обнаружение многих токсикологически важных соединений. Например:

- производные барбитуровой кислоты идентифицируют и различают между собой по образованию характерных кристаллов с помощью следующих реакций:

- выделение кислотной формы барбитурата;
- с хлорцинкйодом;
- с меднопиридиновым реактивом (реакция Цвиккера);
- с железойодидной комплексной солью;
- с меднойодидной комплексной солью;
- с реактивом Г.Ф. Лозовой, содержащим растворы йодида калия, этиловый спирт и серную кислоту и др.;
- некоторые алкалоиды и вещества основного характера образуют характерные кристаллические осадки с реактивами:
 - Драгендорфа;
 - с солью Рейнеке $\text{NH}_4 [\text{Cr} (\text{NH}_3)_2 (\text{SCN})_4]$;
 - с пикриновой кислотой;
 - с реактивом Бушарда;
 - с хлоридом ртути(II);
 - ализариновым красным;
 - роданидом кобальта и др.;
 - некоторые «металлические» яды образуют характерной формы кристаллы при проведении подтверждающих реакций:
 - перекристаллизации из серной кислоты;
 - образования тройной соли гексанитрита калия, свинца и меди;
 - с солями цезия и йодида калия;
 - с хлоридами золота и рубидия;
 - с бруцином и бромидом калия;
 - с тетрароданомеркуратом аммония;
 - образование оксида мышьяка и др.

6.5. Метод микродиффузии

Метод микродиффузии широко используется в биохимических и некоторых токсикологических лабораториях для обнаружения химических соединений, имеющих большую упругость паров. Этот метод применяется в судебно-химических лабораториях в зарубежных странах. В химико-токсикологических лабораториях РК этот метод не нашел широкого применения. В нашей стране рекомендован к применению только агар диффузионный метод обнаружения фосфорорганических пестицидов в трупном

материале, являющийся одной из модификаций метода микродиффузии.

Внедрение метода микродиффузии в практику химико-токсикологических лабораторий может облегчить выполнение ряда экспертиз, связанных с отравлениями, некоторыми ядами.

Метод микродиффузии имеет ряд достоинств. Он позволяет обнаружить летучие вещества, содержащиеся в небольших количествах исследуемых объектов. На скорость перехода отдельных летучих веществ из исследуемых объектов в пространство прибора для микродиффузии влияют некоторые электролиты. Так, например, прибавление насыщенного раствора карбоната калия к крови, моче и гомогенатам тканей, содержащих этиловый спирт, ускоряет переход этого спирта в пространство прибора. Для ускорения перехода других соединений из исследуемых объектов в пространство прибора прибавляют кислоты, щелочи и. др.

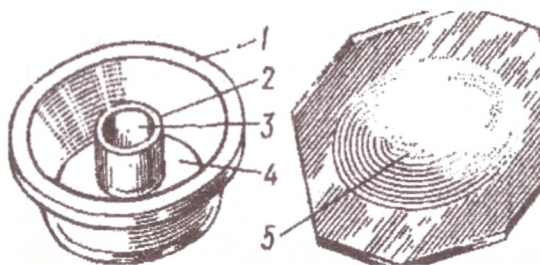


Рис. 10. Прибор для микродиффузии

Прибор для микродиффузии (см. рис. 10) представляет собой небольшой круглый толстостенный сосуд, из стекла или пластмассы (наружный диаметр 60-70 мм, высота 10 мм). Внутри этого сосуда расположен второй круглый сосуд 2 меньшего размера (диаметр 30- 35 мм, высота 5 мм). Таким образом, в приборе микродиффузии имеет внутренняя круговая 3 и наружная кольцевая 4 камеры. Верхний край наружной камеры должен шлифоваться так, чтобы к нему плотно прилежала крышка 5.

Исследуемые объекты вносят в наружную кольцевую камеру, а поглотительную жидкость - во внутреннюю камеру. К исследуемым объектам, находящимся в наружной камере прибора, на расстоянии

2- 3 см помещают раствор вещества, способствующего переходу исследуемого соединения из объекта в пространство прибора. Затем прибор плотно закрывают крышкой и слегка наклоняют его для смешивания исследуемого объекта и раствора, способствующего переходу исследуемого вещества в пространство прибора. После этого прибор оставляют на определенное время, необходимое для диффузии. После окончания диффузии определяют исследуемое вещество в жидкости, находящейся во внутренней камере.

6.6. Фармакологические (физиологические) пробы

Такие испытания проводятся на некоторые ядовитые вещества, которые при воздействии на организм животных вызывают характерные физиологические реакции. Если в ходе химикотоксикологического анализа в исследуемых объектах обнаружены такие алкалоиды, как атропин, кокаин, вератрин, никотин, стрихнин, то в качестве подтверждающего способа используют фармакологические пробы. С этой целью выделенные из объекта алкалоиды хорошо очищают с помощью соответствующих методов и испытывают на животных.

Атропин, кокаин при введении в глаз кошки вызывают расширение зрачка.

При нанесении очищенного экстракта из объекта, содержащего никотин, вератрин, на спинку лягушки она принимает характерную позу, так называемую позу «пианиста».

При нанесении на спинку лягушки экстракта из объекта, содержащего стрихнин, появляются тетанические судороги сначала от прикосновения к лапкам, затем при сотрясении или ударе. Наконец лягушка вытягивается и погибает в характерной позе - «гимнаста».

Фармакологические испытания чаще всего поручаются соответствующему специалисту — фармакологу. При совпадении результатов фармакологического испытания и химикотоксикологического анализа заключение об обнаружении в объекте атропина, кокаина, никотина, вератрина или стрихнина становится более достоверным.

6.7. Фармакогностический анализ

В случае обнаружения в содержимом желудка, рвотных массах частей растений, грибов, семян, кусочков индийской конопли проводится фармакогностический анализ. После химического анализа биологического объекта или параллельно с ним проводится исследование инородных включений растительного происхождения с использованием приемов и методов фармакогностического анализа. В этом случае химик консультируется со специалистом (фармакогностом) или передает ему изъятые части растений для проведения микроскопического анализа. По характерным признакам (волоскам, железкам, друзам, пыльнкам, особым клеткам и др.) делается заключение о принадлежности изъятых из объекта включений к определенным видам растений. В сочетании с данными химического анализа делается заключение, явились ли инородные включения причиной отравления или нет. Фармакогностический анализ особенно важен при определении принадлежности частей растений и кустарно изготовленных из них психотропных и сильнодействующих средств к наркосодержащим (рис. 11).

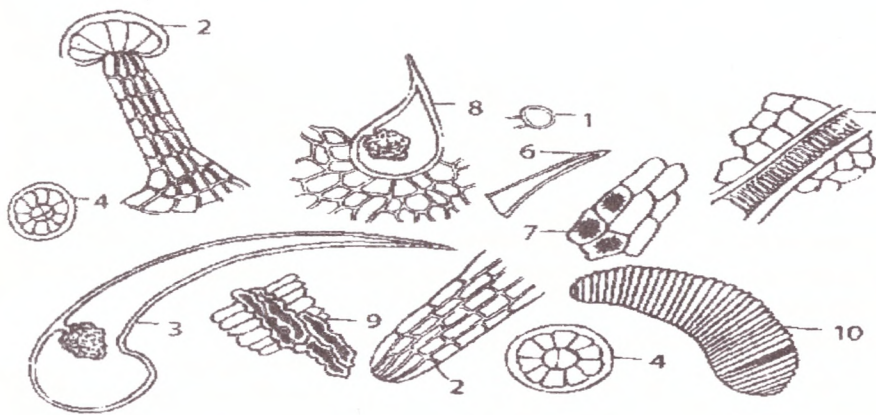


Рис. 11. Элементы порошка опия (по А.А. Долговой, Е.Я. Ладыгиной):
1 - сгустки млечного сока; 2 - кристаллы молочного сахара; 3 - обрывки эпидермиса плода; 4 - фрагмент плода в поперечном сечении; 5 - обрывок млечного сосуда; 6 - обрывки сосудов ксилемы.

7. Методы очистки вытяжек

7.1. Фильтрация и центрифугирование

Для очистки вытяжек от механических загрязнений (мелких частиц биологического материала) применяют фильтрацию. Однако через поры фильтра могут проходить более мелкие частицы твердых веществ, размер которых меньше диаметра пор фильтра. Кроме того, материал фильтров может адсорбировать некоторое количество ядовитых веществ, которые выделяют из биологического материала. Учитывая указанные недостатки фильтрации, как метода очистки вытяжек от примесей, чаще для этой цели применяют метод центрифугирования.

В отдельных случаях на практике дополнительно применяют горячую фильтрацию и фильтрацию под давлением или под вакуумом

7.2. Осаждение примесей

Те примеси, которые переходят из биологического материала в вытяжки при фильтрации, либо при центрифугировании можно осадить соответствующими реагентами. К числу таких реагентов относятся кислоты (трихлоруксусная кислота, вольфрамовая, метафосфорная), некоторые гетерополикарбонаты (фосфорно-вольфрамовая, фосфорно-молибденовая) и другие вещества. Например, в методе Валоу, для осаждения примесей применяют натрия вольфрамат. Причем фосфорно-вольфрамовая и фосфорно-молибденовая кислоты осаждают белки и пептиды, а трихлоруксусная кислота осаждает белки, но не осаждает пептиды. Осаждению белковых веществ способствуют повышение температуры, прибавление этилового, метилового спиртов и других органических растворителей, смешиваемых водой, в результате чего происходит их денатурация, понижение растворимости и выпадение в осадок. Так осаждают белки из водных, водно-спиртовых вытяжек, при изолировании из биологического материала психотропных соединений фенотиазинового ряда (Е.М.Соломатин, 1988 г.) и по методу Стаса — Отто.

Одним из эффективных методов освобождения вытяжек из биологического материала от белковых веществ и других примесей является высаливание.

Эффективность высаливания зависит от концентрации и природы электролитов прибавляемых к вытяжкам из биологического материала. Часто для этой цели применяют безводный NaCl , Na_2SO_4 .

При низких концентрациях нейтральные электролиты повышают растворимость многих белковых веществ. Этот эффект не зависит от природы применяемой соли, но зависит от ее концентрации и заряда ионов, входящих в состав соли. С повышением концентрации солей, прибавляемых к вытяжкам, происходит понижение растворимости белков и их выпадение в осадок. По данным литературы, высаливание является одним из наиболее эффективных методов осаждения примесей из вытяжек, полученных при настаивании гнилостного биологического материала с подкисленной водой.

Высаливание используется не только для повышения или понижения растворимости белковых веществ, но и для повышения экстракции многих ядов из водных растворов.

Осаждение белковых веществ из вытяжек, можно проводить путем изменения **pH** среды. При создании **pH**, соответствующей изоэлектрической точке белка, происходит слипание молекул белка и выпадение его в осадок.

Необходимо отметить, что методы очистки вытяжек, основанные на осаждении примесей, имеют и некоторые недостатки. Некоторые реактивы, осаждающие белки, одновременно осаждают алкалоиды, что может быть одной из причин потери исследуемых веществ в ходе химико-токсикологического анализа.

7.3. Хроматография в адсорбционной колонке

Все чаще в химико-токсикологическом анализе для очистки вытяжек из биологических материалов от примесей применяются физико-химические методы: ионообменная хроматография, гельхроматография. молекулярная, адсорбционная хроматография на колонках и др. Методы хроматографии на бумаге, в тонких слоях

сорбентов, а также методы электрофореза в основном используются для обнаружения токсических веществ, находящихся в вытяжках из биологического материала, без предварительной очистки их от примесей. При проведении очистки и разделении от сопутствующих веществ в вытяжках на хроматографической колонке также достигается необходимый эффект. В основном это зависит от правильно выбранных сорбентов и растворителей.

В качестве сорбента используются различные марки окиси алюминия, силикагеля, активированного угля и бентонитов. В последнее время эффективно используются гели сефадексов, которые избирательно пропускают вещества через хроматографическую колонку в зависимости от их молекулярных масс.

Техника очистки вытяжек из биологического материала этим методом не сложна и сводится к следующему:

в стеклянную колонку высотой 20-25 см и диаметром 2-3 см помещают подготовленный сорбент высотой 10—12 см, сверху наносят часть вытяжки или хлороформного экстракта и через колонку пропускают соответствующий растворитель. Собирают фракции объемом 5-10 мл, затем проводят исследование каждой фракции и отбирают для исследования только те фракции, которые жались без сопутствующих веществ. При анализе биологических объектов, богатых жирами, метод колоночной хроматографии не всегда позволяет отделить жиры. В таких случаях часть хлороформного экстракта упаривают досуха и растворяют в горячем ацетоне.

Ацетоновый раствор охлаждают, при этом жиры загустевают и (сплывают). Твердые кусочки жиров удаляют и операцию повторяют еще 2-3 раза.

Ацетоновые растворы объединяют, упаривают до небольшого объема, при необходимости проводят очистку указанным выше способом и проводят исследования по обнаружению и определению искомого яда.

Если трубка изготовлена из прозрачного материала, а компоненты смеси окрашены, движение хроматографических зон или полос можно наблюдать непосредственно вдоль колонки. Зону шхождения флуоресцирующих веществ можно обнаруживать после облучения УФ-светом.

В современной колоночной хроматографии вытекающий из колонки раствор (элюат) пропускают через соответствующий детектор, а затем, с помощью автоматического коллектора или вручную, раствор собирают в виде отдельных фракций и исследуют.

ГЛОССАРИЙ

<p>Алынған нәтижелерді тәржімалау - химия-токсикологиялық сараптамада алынған нәтижені бағалау</p>	<p>Интерпретация результатов - оценивание полученных результатов химико-токсикологической экспертизы.</p>
<p>Антидот- агзаға удың эсерін тоқтататын немесе төмендететін дәрілік зат</p>	<p>Антидот (от лат.-греч. букв. — - даваемое против) — <u>лекарственное средство</u>, прекращающее или ослабляющее действие <u>яда</u> на организм.</p>
<p>Аутолиз (autolysis; грек, autos — өзім, өздігінен; lysis—еру) — мэйіт тіндерінің немесе жасушаларының ферменттер жүйесі эсерлерінен өзін-өзі жоюуы</p>	<p>Аутолиз (autolysis; греч, autos — сам, самоотоятельно; lysis - растворение, разрушение) - процесс саморазрушения ткани, клетки или части клетки под действием системы ферментов.</p>
<p>Бағытталған химия-токсикологиялық талдау (ХТТ) - зерттеу нысандарында белгілі бір уытты заттың немес топтың бар екенін растауға бағытталған химико-токсикологиялық талдау</p>	<p>Направленный ХТА - это химико-токсикологический анализ, направленный на подтверждение наличия определенного или группы токсических веществ в объектах исследования.</p>
<p>Бағытталмаған ХТТ- нысан құрамында қандай улы заттар болуы белгісіз болған жағдайда жүргізілетін химия-токсикологиялық зерттеу (зерттеуді жеңілдету мақсатында нормативті-құқықтық құжатта келтірілген тізім бойынша ХТТ жүргізу. Мысалы, ССРО ДСМ 25.12.1973 жылғы № 1021 бұйрығы)</p>	<p>Ненаправленный ХТА - химико-токсикологический анализ на неизвестный яд (для облегчения производства анализа может быть использован сокращенный перечень ядовитых соединений, приведенный в нормативно-правовом документе (напр. Приказ 1021 от 25.12.1973 г МЗ СССР).</p>
<p>Биотрансформация (метаболизм)- улы заттардың адам ағзасындағы биохимиялық өзгерістерге ұшырап, нәтижесінде улы заттың уытсыздануы (детоксикациясы) немесе оның уыттылығының бастапқы дәрежесінен артуы</p>	<p>Биотрансформация (метаболизм) - биохимическое превращение поступивших в организм ядов, в результате чего образуются менее токсичные вещества (обезвреживание или детоксикация), либо соединения более токсичные, чем исходное вещество.</p>

<p>Детоксикация- (лат. приставка de — ығыстыру, токтату + -грек, to^ivtj — у) физикалық, химиялық, және биологиялық жолдармен ағзаға түскен ор түрлі уытты заттарды зиянсыздандыру</p>	<p>Детоксикация (лат. приставка de — означающая устранение, прекращение + др.-греч. τοξίον — яд) — разрушение и обезвреживание различных токсических веществ, поступивших в организм химическими, физическими или биологическими методами.</p>
<p>Диализ - коллоидты ерітінділерді және жоғары молекулалы субстанцияларды олардың құрамындағы төменгі молскулалы қосылыстардан жартылай өткізгіш перде арқылы тазарту; дәрігерлік тәжірибеде адамның қанын арнайы аппарат арқылы уытты заттардан тазарту:</p>	<p>Диализ — очистка <u>коллоидных растворов</u> и субстанций высокомолекулярных веществ от растворённых в них низкомолекулярных соединений при помощи <u>полупроницаемой мембраны</u>; в медицинской практике очистка крови от токсичных соединений с помощью специальных аппаратов.</p>
<p>Диффузия (лат. diffusio — таралу, жайылу, шашырау т.б.) - бір заттың молекуласының немесе атомдарының шекаралас орналасқан екінші заттың құрамына олардың концентрациясы тснескншс оту құбылысы.</p>	<p>Диффузия (лат. diffusio — распространение, растекание, рассеивание, взаимодействие) — процесс взаимного проникновения молекул или атомов одного вещества между молекулами или атомами другого, приводящий к самопроизвольному выравниванию их концентраций по всему занимаемому объёму.</p>
<p>Допинг - сараптама- спортшылардың жаттығу немесе жарыс барысында ағза қуатын жасанды күшейту үшін қолдануға тыйым салынған дәрілік заттарды қолданғанын немесе қолданбағанын анықтайтын сараптама</p>	<p>Допинг-анализ - анализ, направленный на выявление факта применения спортсменом допинга (запрещенных лекарственных средств) во время тренировок или соревнований.</p>
<p>Есірткі заттар (есірткілер) - (грек. Narkotikos-естен айырылу) - орталық жүйке жүйесіне арнайы осер етегін (ынталандырғыш, қоздырғыш, еңсені көтертпейтін, галлюциногенді)</p>	<p>Наркотические средства(наркотики) (от греч. narkotikos - приводящий в оцепенение) - определенные вещества растительного или</p>

<p>қасиеттері бар өсімдіктерден немесе синтетикалық жолмен алынатын белгілі заттар</p>	<p>синтетического происхождения, которые оказывают специфическое (стимулирующее, возбуждающее, угнетающее, галлюциногенное) воздействие на центральную нервную систему.</p>
<p>Жалған теріс жауап (нәтиже) - химия-токсикологиялық зерттеуге алынған нысанның құрамында сезікті заттың болуына карамастан, зерттеу нәтижесінің оң нәтиже бермеуі</p>	<p>Ложноотрицательный ответ (результат) - это отрицательный ответ на присутствие подозреваемого вещества, полученный при исследовании объекта, содержащего это вещество.</p>
<p>Жалған оң жауап (нәтиже) - химия-токсикологиялық зерттеуге алынған нысанның құрамында сезікті заттың болмауына карамастан, зерттеу нәтижесінің оң нәтиже беруі</p>	<p>Ложноположительный ответ (результат) - это положительный ответ на присутствие подозреваемого вещества, полученный при анализе объекта, не соержжащего это вещество в токсической дозе.</p>
<p>Сарапшының т.ужрммы- химия-токсикологиялық талдау нәтижесінің жазба рәсімі. Ол кіріспеден, негізгі бөлімнен (сыртқы керіністерін сипаттау және химиялық зерттеу) және сараптаманың тұжырымдарынан құралады.</p>	<p>Заключение эксперта - письменное оформление результата ХТА. Состоит из вводной части, основной части (наружный осмотр и химическое исследование) и выводы экспертизы.</p>
<p>Тұздықтау- ерітіндіге минералды тұздар қосу арқылы жоғары молекулалы қосылыстарды (ақуыздарды) тұнбаға түсіру.</p>	<p>Высаливание — осаждение <u>высокомолекулярных соединений</u> из растворов при добавлении солей.</p>
<p>Оқшаулау, айыру-токсикантты биоматериалдан (және басқада нысандардан) бөліп шығару және оны эндогенді және басқа қоспалардан тазарту,сынамада токсиканттың мөлшерін байыту үрдісі.</p>	<p>Изолирование- процесс выделения токсиканта из биоматериала (и из других объектов), его очистку от эндогенных и других веществ и концентрирование токсиканта в анализируемой пробе.</p>

<p>Клиникалық токсикология - жедел улану кезінде көмек көрсету, уытты заттын әсерінен туындаған дерттенуді анықтау және емдеу істерімен шұғылданатын тожірибелік медицина аймағы</p>	<p>Клиническая токсикология - область практической медицины, связанная с оказанием помощи при острых токсических поражениях, выявлением и лечением патологии, обусловленной действием ядовитого вещества</p>
<p>Ксенобиотик - адам ағзасында биологиялық үрдістердің бұзылуына, ауруға шавдығуына және тіршілігін тоқтатуына себепкер болатын кезкелген ағзаға бөгде зат</p>	<p>Ксенобиотик - это любое чужеродное вещество для организма, которое способно вызывать нарушения биологических процессов, а также заболевание и гибель живого организма.</p>
<p>LD₁₀₀ - тәжірибеге катыскан топтағы зертхана жануарларының барлығын өлімге әкелетін заттың ең төменгі мөлшері</p>	<p>LD₁₀₀ - минимальная доза вещества, вызывающая гибель всех членов испытываемой группы лабораторных животных.</p>
<p>LD₅₀ - тәжірибеге катыскан топтағы зертхана жануарларының жартысын өлімге әкелетін заттың ең төменгі мөлшері</p>	<p>LD₅₀ - средняя доза вещества вызывающая гибель половины членов испытываемой группы лабораторных животных</p>
<p>Өлімге әкелетін синтез - метаболизм үрдісі салдарынан уытты емс және уыттылығы төмен заттардан жоғары уытты қурылымдардың туындауы.</p>	<p>Летальный синтез — образование в процессе метаболизма высокотоксичных соединений из нетоксичных и малотоксичных веществ.</p>
<p>Метоболиттер - ағзаға түскен уытты заттардың химиялық түрленуі</p>	<p>Метаболиты - продукты химических превращений токсичных соединений в организме</p>
<p>Минерал изациялау — биологиялық нысандарда ионды емс қосылыстарды ионды қосылыстарға айландыру әдісі</p>	<p>Минерализация — процесс перевода неионогенно связанного вещества в ионогенное состояние</p>
<p>Сот медицина эксперті (СМЭ) жолдамасы - зерттеу нысандарына (биологиялық материал) химия-токсикологиялық зерттеуді жүргізу</p>	<p>Направление СМЭ документ, составляемый судебно-медицинским экспертом, который сопровождает объект исследования (биологический</p>

<p>үшін СМЭ тапсырыстары көрсетілген және нысандармен бірге жіберілетін құжат</p>	<p>материал) для проведения химико-токсикологического исследование</p>
<p>Топтық реакциялар - ортақ қасиеттері бар күрделі қоспалардың ішінен бір-біріне химиялық ұқсас қасиеттері бар азғана топты бөліп алуға, анықтауға қолданылатын реакциялар. Ортақ және топтық реакцияларды күрделі қоспалардан бір-біріне жақын қасиеттері бар белгілі заттар тобын бөліп алуға және ажыратуға қолданады.</p>	<p>Групповые реакции — это частный случай общих реакций, используемых в конкретных условиях для выделения определенной малой группы соединений, обладающих близкими свойствами. Общие и групповые реакции применяют для выделения и разделения определенных групп веществ, близкими свойствами из сложной смеси</p>
<p>Улы заттын табылуы-эртүрлі химиялық, физикалық және физико-химиялық әдістерді пайдалану арқылы белгілі нысандардан улағыш заттардың табылуы.</p>	<p>Обнаружение токсиканта- процесс нахождения токсических веществ в соответствующих объектах, используя различные химические, физические и физико-химические методы.</p>
<p>Улы заттарды анықтау үшін қолданылатын ортақ реакциялар - бір химиялық немесе фармакологиялық топқа кіретін уытты заттардың бар екенін растайтын реакциялар</p>	<p>Общие реакции обнаружения токсиканта - реакции направленные на установление присутствия в исследуемых пробах токсических веществ, входящие в одну химическую или фармакологическую группу.</p>
<p>Жедел улану - уытты заттың ағзаға бір мезгілде түсуінен кейін туындайтын улану</p>	<p>Острые отравления - отравления, наступающие в результате единовременного действия на организм дозы ядовитого вещества.</p>
<p>Улану-ағзаға түскен удыц, улағыш заттың немесе басқа бір әсердің салдарынан адам ағзасының тіршілігінің бұзулуы немесе ауруға шалдығуы.</p>	<p>Огравление — <u>заболевание</u> или иное расстройство <u>жизнедеятельности организма</u>, возникшее вследствие попадания в организм <u>яда</u> или <u>токсина</u>, а также действие, вызвавшее такое заболевание</p>

<p>Тергеушінің қаулысы- сараптаманы орындау кезінде шешілуге тиесілі тапсырыстар көрсетілген тергеушінің процессуалдық құжаты</p>	<p>Постановление следователя - процессуальный документ, оформляющий решение следователя по вопросам назначения экспертизы</p>
<p>Улаі ыш заттың аш.іқталыну шегі – колданылатын эдіс бойынша, шектеулі қателікпен анықталатын уытты зағгың ен аз мөлшері</p>	<p>Предел обнаружения токсиканта – минимальная концентрация или минимальное количество вещества, которое может быть обнаружено данным методом с какой-то допустимой погрешностью.</p>
<p>Прекурсорлар- Қазақстан республикасының заңнамасына сәйкес бақылауға жататын наркотикалық, психотроптық және пркурсорлар Тізбесіне енгізілген наркотикті және психотропты заттарды , ендіру, дайындау және өндеу үшін колданылатын заттар,</p>	<p>Прекурсоры - вещества, используемые при производстве, изготовлении, переработке наркотических средств и психотропных веществ, включенные в Список наркотических средств, психотропных веществ и прекурсоров, подлежащих контролю в соответствии с законодательством Республики Казахстан.</p>
<p>Химико-токсиколо! иялық дәлелді мағынасм бар реакциялар - сот мекемелеріне уытты затты анықтайтын реакцияның өнімін айғақ зат ретінде жіберуге болатын реакциялар</p>	<p>Реакции имеющие химико-токсикологическое доказательное значение — реакции, продукты которых, можно предоставить как доказательство обнаружения конкретного токсического вещества для предоставления судебным органам</p>
<p>Жалған химико-токсикологиялық мағынасы бар реакциялар- химия-токсикологиялық талдау кезінде алынған теріс нәтиже бойынша кейбір уытты заттар тоғттарын ары қарай здестіру тізімінен алып тастауға негіз болатын реакциялар</p>	<p>Реакции, имеющие отрицательное х и м и ко-1 о кси кол о 1 и чее кое значение - реакции при отрицательном результате которых, можно исключить определенные группы токсических соединений по ходу ХТЛ.</p>
<p>Резорбци я - қан немесе лимфа арналарына сыртқы ортадан улағгыш з&tтың сіңу үрдісіі</p>	<p>Резорбция - это процесс всасывание токсического вещества из внешней среды в кровяное иди лимфатическое русло организма.</p>

<p>Созылмалы улану- өткір улануға әкелмейтін, бірақ ағзаға улы заттардың қайта аз мөлшерде түсігі шоғырлануынан туындайтын улану.</p>	<p>Хронические отравления - отравления наступающие в результате повторного поступления (в течении длительного времени) малых доз кумулирующихся в организме ядовитых веществ, не вызывающих острых отравлений.</p>
<p>Соітың сараптамасы - Соттың, судьяның, тергеу мекемелерінің және басқа тергеу жүргізушілердің жеке іс бойынша зерттеуді және тұжырым беруді қамтамасыз етуге, дәлелденуге тиесілі жағдайларды анықтау үшін ғылымның, техниканың, өнердің немесе кәсіптік арнаулы білімдерді қолдануды қажет ететін процессуалды шара.</p>	<p>Судебная экспертиза — процессуальное действие, состоящее из проведения исследований и дачи заключения экспертом по вопросам, разрешение которых требует специальных знаний в области науки, техники, искусства или ремесла, и которые поставлены перед экспертом судом, судьей, органом дознания, лицом, производящим дознание, следователем, в целях установления обстоятельств, подлежащих доказыванию по конкретному делу.</p>
<p>Сот-медициналық сарптама — нақты тергеуінің алдын алатын салдарының, соттың талғының жүргізу барысында туындайтын және белгілі медициналық, медико-биологиялық сұрақтарды шешетін резтеу заңымен қаралыстырылған нақты нысанның ғылыми практикалық зерттеуі.</p>	<p>Судебно-медицинская экспертиза - это предусмотренное и регламентированное законом, проводимое специалистом научно-практическое исследование конкретных объектов, предпринимаемое для решения конкретных медицинских и медико-биологических вопросов, возникающих при проведении конкретного дознания, предварительного следствия и судебного разбирательства.</p>
<p>Сот-медициналық сарптама қорытындысы - эксперттің сот-медициналық сараптамаға жүргізу кезіндегі іс-қимылдарын, қойылған тапсырыстардың шешімі қорытындыланып толтырылған құжат</p>	<p>Заключение судебно-медицинской экспертизы-документ, составляемый при судебно-медицинской экспертизе, содержащий описание действий эксперта и его заключение по поставленным вопросам.</p>

<p>I Снешіфикалы реакциялар және реагенттер - ұйтты заттарды анықтау кезінде басқа заттар болғанымен тек белгілі заттың өзіне тән нәтиже беретін реакциялар мен реагенттер</p>	<p>Специфические реакции и реагенты - реакции и реагенты , которые позволяют обнаружить токсическое вещество в присутствии других веществ</p>
<p>Токсикан гтар- тірі ағзаларға улы эсер ететін заттар немесе құрылымдар.</p>	<p>Токсиканты - вещества или соединения, способные оказывать ядовитое действие на живые организмы.</p>
<p>Токсикодинамика - улану үрдісінің улағыш механизмін, улану үрдісінің даму және коріністерінің заңдылықтарын зерттейтін және қарастырағын токсикология ғылымының бөлімі</p>	<p>Токсикодинамика - раздел токсикологии, в рамках которого изучается и рассматривается механизм токсического действия, закономерности развития и проявления различных форм токсического процесса.</p>
<p>Токси кинетика- (токсико... және грек, kinetikos тілінде — қозғалысқа келтір, қозғаушы) улы заттың ағзаға эсерінің жылдамдығын, механизмін, токсикалық эсердің дамуының уақытка, ағзадағы таралуына (ағзаға түсу, белгілі орынға жинақалу, таралу, метаболу және ағзадан шығу) байланысын зерттейтін токсикологияның бөлімі</p>	<p>Токсико кинетика (от токсико... и греч. kinetikos — приводящий в движение, движущий), раздел токсикологии, изучающий скорость и механизмы действия ядов, закономерности протекания токсических эффектов во времени, миграции яда в организме (поступление, места накопления, распределение, метаболизм и выделение).</p>
<p>Токсикологиялық химия - улы заттарды және олардың метаболиттерін әртүрлі нысандардан (биологиялық материалдар, қоршаған орта, тамақ, дәрілік заттар, пестицидтер т.б.) оқшаулау (бөліп шығару) және оларды анықтау және сандық елшерін анықтау әдістерін зерттейтін ғылым.</p>	<p>Токсикологическая химия — наука, изучающая методы выделения токсических веществ из различных объектов, а также методы обнаружения и количественного определения содержание этих веществ, а также их метаболитов.</p>

<p>Токсикомандық заттар- ОЖЖ өзіндік әсер беретін, бірақ есірткі болып табылмайтын, химиялық заттар. Оларға психотропты заттар: транквилизаторлар, антидепрессанттар, ұйықтататын(барбитураттар), психостимуляторлар, паркинсон кеселіне қарсы қолданылатын заттар, лизергил қышқылдарының туындылары (ЛСД- 25) жатады. У құмарлықты шақыратын заттар: арақ, агониялық еріткіштер, тұрмыстық химиялық заттар, инсектицидтер.</p>	<p>Токсикоманические вещества — химические вещества, оказывающие специфические воздействия на ЦНС, но не являющиеся наркотиками. Психотропные вещества: транквилизаторы, антидепрессанты, психостимуляторы, снотворные (барбитураты), противопаркинсонические средства, производные лизергиновой кислоты (ЛСД-25). Токсикоманию вызывают: алкоголь, агонические растворители, веществ бытовой химии, инсектициды.</p>
<p>Токсикомания- эртүрлі химиялық, биологиялық және емдік наркотик тізіміне енбеген препараттарды, заттарды теріс пайдалану.</p>	<p>Токсикомания - это злоупотребление различными химическими, биологическими и лечебными препаратами, не входящими в перечень наркотических средств.</p>
<p>Улағыштық-(грек тілінде toxikon- у) заттың ағзаның физиологиялық қызметін бұзатын, нәтижесінде денеде уыттылық белгілерінің туындауы және кейбір жағдайда олімге әкелуі.</p>	<p>Токсичность (от греч. toxikon-яд), способность вещества вызывать нарушения физиологических функций организма, в результате чего возникают симптомы интоксикаций (заболевания), а при тяжелых поражениях-его гибель.</p>
<p>Химия-токсиколоі ^{ия.лық} талдау (ХТТ) - бұл, тәжірибеде кездесетін улы және жоғары әсерлі заттарды, олардың метаболитгерін тірі адамдардың, мейіттердің биологиялық сынамаларында, айғақты заттарда анықтау (нақтылау) және сандық мөлшерін анықтауға қолданылатын ғылыми негізделген әдіс.</p>	<p>Химико-токсиколоі ический анализ (ХТА) - это совокупность научно обоснованных методов, применяемых на практике для обнаружения и количественного определения ядовитых и сильнодействующих веществ, их метаболитов в биопробах живых лиц, в трупном материале и в вещественных доказательствах отравления.</p>
<p>Хроматография-(хромо ескі грек тілі - түс) - заттардың екі фазада — қозғалмайтын (қатты фаза немесе инертті төсеніштегі сұйық) және</p>	<p>Хроматография (хромо от др.- гоеч. — цвет) — динамический сорбционный метод разделения и анализа смесей веществ. Основан на</p>

<p>козғағгыш (газ немесе сұйық, элюент) сорбционды таралу нәтижесінде қоспаларды құрамдарына айыруға және талдауға қолданылатын сорбционды динамикалы әдіс.</p>	<p>распределении веществ между двумя базами — неподвижной (твердая фаза или жидкость, связанная на инертном носителе) и подвижной (газовая или жидкая база, элюент).</p>
<p>Экотоксикология (экологиялық токсикология) - токсикалық заттардың экожүйелерге әсерін, биосферадағы айналымын зерттейтін токсикология ғылымының тарауы</p>	<p>Экотоксикология (экологическая токсикология) - раздел токсикологии, изучающий эффекты воздействия токсичных веществ на экосистемы, и их круговорот в биосфере и др.</p>
<p>Экстрагент-(латын тілінен <i>extraho</i> - шығару немесе бөліп алу) - сұйық немесе құрғақ қоспалардан жеке компоненттерді шығаратын немесе бөліп алатын еріткіш..</p>	<p>Экстрагент (от лат. <i>extraho</i> — извлекаю) — избирательный растворитель для извлечения отдельных компонентов из жидких или сухих смесей.</p>
<p>Экстракция- -(латын тілінен <i>extraho</i> - іні ару немесе бөліп алу) - затты ерітіндіден немесе құрғақ қоспадан арнаулы еріткіш арқышы шығаратын немесе бөліп алу әдісі.</p>	<p>Экстракция (от лат. <i>extraho</i> — извлекаю) — метод извлечения вещества из раствора или сухой смеси с помощью подходящего растворителя (экстрагента).</p>
<p>Элиминация - ағзадағы улы заттарды әртүрлі жолдармен шығару.</p>	<p>Элиминация - выведение токических веществ из организма разными путями.</p>
<p>У- дене салмагымен салыстырғанда ағзаға аз мөлшерде түскенімен ағзаның қалыпты тіршілігін бұзатын, улануға немесе ауруға және кейбір жағдайда әлімге әкелетін заттар.</p>	<p>Яд — <u>вещество, приводящее в дозах, даже небольших относительно массы тела, к нарушению жизнедеятельности организма: к отравлению, интоксикации, заболеваниям и патологическим состояниям и к смертельным исходам.</u></p>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альберт А. Избирательная токсичность: Пер. с англ. - М.: Медицина. - 1989. -400 с.
2. Беликов В.Г. фармацевтическая химия: учебное пособие. — М.: МЕДпресс-информ, 2007. — 624 с.
3. Белова А. В., Волкова И. М. Химико-токсикологический анализ биологических жидкостей на наличие барбитуратов. - В кн.: Судебно-медицинская экспертиза и криминалистика на службе следствия. Вып. 6. - Ставрополь. 1971, с 195-199.
4. Белова А В. Волкова И. М. Определение барбитуратов в крови и моче живых лиц. - «Суд-мед. эксперт», 1971, № 3. с. 29-34.
5. Белова А.В. Руководство к практическим занятиям по токсикологической химии. - М.: Медицина, 1976.
6. Белова М.В., Лисовик Ж.А., Клюев А.Е. Лабораторная диагностика острых химических отравлений. - М.: Миклош, 1999. - 45 с.
7. Вергейчик Т.Х.Токсикологическая химия : учебник / Т.Х.Вергейчик ; иод ред. ироф. Е.Н.Вергейчика. - М.: МЕДпресс-информ, 2009. - 400 с.
8. Бок Р. Методы разложения в аналитической химии. М.: Химия, 1984.-439 с.
9. Волкова И. В Условия экстрагирования диазепама. - В кн.: Биофармацевтические аспекты получения и назначения лекарств. Материалы конференции. - М., 1971, с. 95-96
10. Волкова И.В. Определение хлордиазепоксида (либрия) в моче. В. кн : Первый всесоюзный съезд судебных медиков (тезисы докладов)21-24 сентября 1976 г. - Киев, 1976, с. 534-535.
11. Вредные вещества в промышленности в 3 кн. Кн.3. неорганические и элементарорганические соединения: справочник для химиков,инженеров и врачей, /под ред. Н.В. Лазарева. - Л. Химия.- 1977. - 608 с.
12. Карташов В. А. , Чернова Л.В. Практикум по токсикологической химии. - Майкоп: Изд-во ООО «Аякс», 2004. - 182 с.
13. Карташов, В.А. Химико-токсикологический анализ: в 2 ч. / В.А.Карташов, Л.В. Чернова.-Майкоп: ООО «Качество», 2008 -

Часть 1 Выделение токсических веществ из биологических объектов 2008. - 188 с.

14. Карташов, В.А. Химико-токсикологический анализ: в 2 ч. / В.А. Карташов, Л.В. Чернова.-Майкоп: ООО «Качество», 2008 - Часть 2: Методы исследования. Тонкослойная хроматография.-2011.-93 с.

15. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. Липр. с англ. Под ред. В. Г. Березкина. - М.: Мир. 1981. том I.

16. Клисенко М.А., Лебедова Т.А., Юркова З.Ф. Химический анализ микроколичеств ядохимикатов. 1972. - 312 с.

17. Кокшарова Н. В. Спектрофотометрическое определение барбитуратов после хроматографической очистки - В кн. : Вопросы судебно-медицинской экспертизы. Вып. 4. - М : Медицина 1968, с 211-213.

18. Коренман И. М. Фотометрический анализ. - М.: Химия, 1975.-360 с.

19. Коренман И. М. Экстракция в анализе органических веществ. - М.: Химия, 1977. — 200 с.

20. Крамаренко В. Ф, Попова В. П., Акопян С. А. и др. Применение гель-хроматографии при исследовании барбитуратов и алкалоидов в токсикологическом анализе. - В кн.: Материалы Второго Всесоюзного съезда фармацевтов. Рига, 7-20 сентября Рига 1974, с. 167.

21. Крамаренко В. Ф. Туркевич. Анализ ядохимикатов. - М.: Химия, 1978. — 264 с.

22. Крамаренко В. Ф. Химико-токсикологический анализ. - К : Вища шк. Головное изд-во. 1982. - 272 с.

23. Крамаренко В Ф Токсикологическая химия - К.: Вища шк., 1989.447с.

24. Крешков А. П. Основы аналитической химии. В 3 т. - М.: Химия, 1976. Т.1.-472 с.

25. Крылова А.Н. исследование биологического материала на «металлические яды» дробным методом,— М. : Медицина, 1975.— 100 с.

26. Лакин К. М., Крылов Ю. Ф. Биотрансформация лекарственных веществ,—М.: Медицина, 1981.— 344 с:

27. Лужников Е. А. Клиническая токсикология.— М.: Медицина. 1999.— 413 с.

28. Методические рекомендации по производству химико-токсикологической экспертизы РГКП «Центра судебной медицины» МЗ РК., составитель: Жуматаева Г.С.).
29. Методические указания об определении барбитуратов в биологически материале. - М 1977.
30. Метью ДЖ. Элленхорн. Медицинская токсикология: Т. 1 -2 - М.: Медицина, 2003
31. Муравьева д А Фармакогнозия - М.: Медицина, 1991.
32. Наркотики. / Веселовская Н.В. , А.Е. Коваленко. - М. «Триада-Х», 2000, - 205 с.
33. Основы аналитической токсикологии (Сост. Р.Дж. Фланаган, Р.А. Брейтуэйт, С.С. Браун и др.) - Женева; М.: ВОЗ, 1997.-363 с.
34. Основы аналитической химии в 2 кн. Кн.1. методы химического анализа: учебник для вузов/под ред. Ю.А. Золотова. - М.: высшая школа, 200. - 494 с.
35. Парк д Биохимия чужеродных соединений.— М.: Медицина, 1973.— 288 с.
36. Полюдек-Фабини Р., Бейрих Т. Органический анализ. - Л.: Химия, 1981.-624 с.
37. Пособие к разработке судебно-химического исследования при отравлении синтетическими пиретроидами (Сост. Н.А. Горбачева, А.М. Орлова). - М. МЗРФ, 2001. - 99 с.
38. Постановление Правительства РК «Об утверждении Правил осуществления гос.контроля над оборотом наркотических средств психотропных веществ и прекурсоров в РК», № 1693 от 10.11. 2000 г.
39. Правила организации и контроля судебно-медицинской экспертизы в РК. -2010.
40. Профилактика наркомании, токсикомании, алкоголизма и табакокурения: Нормативные правовые акты (Сост. В.Л. Белова. - М.: Нарконет), 2002. - 288 с.
41. Руденко Б.А., Руденко Г.И. Высокоэффективные хроматографические процессы. Т. 2: Процессы сконденсированными подвижными фазами- М.: Наука, 2003.
42. Руденко Б.А., Руденко Г.И. Высокоэффективные хроматографические процессы. Т. 1: Газовая хроматография, - М.: Наука, 2003.

43. Руководство по судебно-медицинской экспертизе отравлений / Под ред. Р. В. Бережного и др.— М.: Медицина, 1980,—416 с.
44. Сборник нормативных правовых актов по вопросам борьбы с наркоманией и наркобизнесом и отдельные комментарии к ним /под ред. Председателя Комитета по борьбе с наркобизнесом и контролю за оборотом наркотиков МВД РК Выборова А.Н./ - Астана, 2004. - 496 с.
45. Симонов Е.А. Наркотики: методы анализа на коже, в ее придатках и выделения. / Е.А Симонов, Б.Н. Изотов. — М.: «Анахарсис». 2000 - 130. с.
46. Соломатин Е.М. Методические рекомендации по химико-токсикологическому определению психотропных соединений фенотиазинового ряда. - Казань. 1988.
47. Токсикологическая химия: Учебник для вузов. Под ред. Т.В. Плетеновой. - 2 - е изд. М.: ГЭОТАР -Медиа, 2005. - 512 с.
48. Файгель Ф., Ангер В. Капельный анализ неорганических веществ: В 2 т. - М. : Мир, 1976. — Т. 1, - 392 с., Т. 2. — 320 с.
49. Фармацевтическая химия: учеб. пособие / под ред А.П. Арзамасцева. - М.:ГЭОТАР-МЕД, 2004. - 640 с.
50. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия в 2 кн. —Кн. 1. Общие теоретические основы. Качественный анализ: учебник для вузов. - М.: Высшая школа, 2001.-615 с.
51. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия в 2 кн. — Кн. 2. Количественный анализ: учебник для вузов. — М.: Высшая школа, 2001.-559 с.
52. Химико-токсикологический анализ веществ, вызывающих одурманивание. Метод, указание /под. ред. Б.Н. Изотова. — М. 1989. - 104 с.
53. Хирц Ж. Аналитические методы исследования метаболизма «лекарственных веществ.» - М: Медицина, 1975. - 272 с.
54. Черных В.П., Зименковский Б.С., Гриценко И.О. Органическая химия. — Харьков. 1995 — 892 с.
55. Шаршунова М., Шварц Б., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии: В 2 ч. - М., Мир, 1980.-624 с.
56. Швайкова М. Д. Токсикологическая химия.— М.: Медицина, 1975.— 376 с.

57. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. - М.: Мир, 1965. - 508 с.

58. Suzuki R., Miyashita K., Kashiwa T. Separation of pesticides by-column chromatography with Aluminium oxide //Chem. Abstr. V. 74, 13895a.

59. Suzuki R., Miyashita K., Kashiwa T. Separation and identification of pesticides by column chromatography with Aluminium oxide //Bull. Agric. Chem. Insp. Stn. .V. 10, 1, p 24-34.

60. Walker R.C., Beroza M. Separation and identification of pesticides //Anal. Assoc, of Agr. Chem. V 46, p. 250.

Третий изданий I. Т.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Учебник

1 часть

Бумага офсетная Формат 60x100 1/16
Плотность 80гр/м². Белизна 95%. Печать РИЗО.
Усл.печ.стр. 15. Объем 240 стр.



Э В Е Р О

Подготовлено к изданию и отпечатано
в издательстве «Эверо»
РК, Алматы, ул. Байтурсынова, 22
тел.: 8 (727) 233 83 89, 233 83 43,
233 80 45, 233 80 42
e-mail: evero08@mail.ru