

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра токсикологічної та неорганічної хімії

ТОКСИКОЛОГІЧНА ХІМІЯ

НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНИЙ ПОСІБНИК

*для студентів фармацевтичного факультету
заочної форми навчання*

Запоріжжя

2015

Методичний посібник підготовлено співробітниками кафедри токсикологічної та неорганічної хімії і кафедри фізколоїдної хімії Запорізького державного медичного університету:

- д. фарм. н., проф. Панасенком О.І.;
- д. фарм. н., доц. Каплаушенком А.Г.
- д. фарм. н., проф. Буряком В.П.;
- д. фарм. н., доц. Парченком В.В.;
- к. фарм. н., доц. Кремзером О.А.;
- к. фарм. н., доц. Мельником І.В.;
- к.фарм. н., ст. викладачем Сафоновим А.А.;
- к.фарм. н., ст. викладачем Щербиною Р.О.
- к. фарм. н., ст. викладачем Гоцулею А.С.;
- к. фарм. н., ст. викладачем Постол Н.А.,
- к.фарм. н., ст. викладачем Кулішом С.Н.,
- ас.Саліоновим В.О.

Токсикологічна хімія : навч.-метод. посіб. для студентів фармац. ф-ту заочної форми навчання / уклад. О. І. Панасенко [та ін.]. –Запоріжжя : ЗДМУ, 2015. – 235 с.

Затверджено на засіданні Центральної методичної Ради Запорізького державного медичного університету (протокол № 2 від 26 листопада 2015 року).

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	7
ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ	9
ПОРЯДОК ВИВЧЕННЯ ПРЕДМЕТУ	11
ГЛАВА I. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ КУРСУ ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ ТА ПИТАННЯ ДО КОНТРОЛЬНИХ РОБІТ	27
Розділ 1. ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ПОВОДЖЕННЯ ОТРУТ В ОРГАНІЗМІ	27
1.1. Шляхи надходження отрут до організму, всмоктування, розподіл і шляхи їх виведення	27
1.2. Методи детоксикації отрут в організмі	31
1.3. Метаболізм токсичних речовин	33
1.4. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі	46
Розділ 2. ГРУПА РЕЧОВИН, ЯКІ ІЗОЛЮЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ МЕТОДОМ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ	50
2.1. Основні положення дробного методу аналізу. Прийоми «маскування» заважаючих іонів	50
2.2. Реактиви, які найчастіше використовуються в дробному методі аналізу	52
2.3. Схема аналізу мінералізату на «металічні» отрути за О. М. Криловою. Виявлення ртуті у деструктаті	54
2.4. Кількісне визначення «металічних» отрут	61
2.5. Атомна-абсорбційна спектрометрія при дослідженні «металічних» отрут	61

2.6. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі	62
---	----

Розділ 3. ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ІЗОЛЮЮТЬСЯ ДИСТИЛЯЦІЄЮ З ВОДЯНОЮ ПАРОЮ	67
---	-----------

3.1. Загальна характеристика «летких» отрут	67
3.2. Методи ізолювання «легких» отрут із біологічного матеріалу	68
3.3. Загальна схема аналізу дистилятів хімічним методом	71
3.4. Кількісний аналіз «летких» отрут	94
3.5. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі	95

Розділ 4. ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ІЗОЛЮЮТЬСЯ ЕКСТРАКЦІЄЮ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ (ПЕСТИЦИДИ)	100
--	------------

4.1. Загальні відомості про пестициди. Народногосподарське значення пестицидів. Негативні чинники впливу пестицидів на людину і довкілля	100
4.2. Класифікація пестицидів	101
4.3. Фізико-хімічні властивості, основні закономірності поведінки в організмі, токсична дія груп хос і фос на організм	102
4.4. Методи хіміко-токсикологічного аналізу об'єктів біологічного походження на хлорорганічні і фосфорорганічні сполуки	108
4.5. Методи виявлення пестицидів групи ХОС і ФОС	110
4.6. Методи хіміко-токсикологічного аналізу об'єктів біологічного походження на пестициди - похідні карбамінової кислоти	115
4.7. Хіміко-токсикологічне дослідження біологічних об'єктів на групу аліциклічних карбонових кислот (похідні циклопропан-карбонової кислоти - піретроїди)	118
4.8. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі	120

**Розділ 5. ГРУПА РЕЧОВИН, ЯКІ ІЗОЛЮЮТЬСЯ ПОЛЯРНИМИ
РОЗЧИННИКАМИ (ПІДКИСЛЕНИМ СПИРТОМ АБО ПІДКИСЛЕНОЮ ВОДОЮ)124**

5.1. Загальна характеристика групи. Фізичні та хімічні властивості речовин	124
5.2. Сучасні загальні та окремі методи ізолювання речовин з біологічного матеріалу. Поділ «лікарських» отрут на підгрупи	126
5.3. Методи очистки витяжок від домішок і концентрування виділених речовин	135
5.4. Ідентифікація і кількісне визначення речовин, що ізолюються екстракцією полярними розчинниками	140
5.5. Застосування, токсикологічна характеристика, методи виділення з біологічного матеріалу і методи аналізу похідних фенотіазину	156
5.6. Застосування, токсикологічна характеристика, методи виділення із біологічного матеріалу і методи аналізу похідних 1,4-бензодиазепіну	164
5.7. Застосування, токсикологічна характеристика, методи виділення із біологічного матеріалу і методи аналізу похідних n-амінобензойної кислоти (ПАБК)	172
5.8. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі	178

**Розділ 6. ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ІЗОЛЮЮТЬСЯ ЕКСТРАКЦІЄЮ ВОДОЮ
ІЗОЛЮВАННЯ, ВІЯВЛЕННЯ І ВИЗНАЧЕННЯ РЕЧОВИН ПІСЛЯ ЇХ ЕКСТРАКЦІЇ
ІЗ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДІАЛІЗОМ (ЕКСТРАКЦІЄЮ ВОДОЮ) 191**

6.1. Ізолювання кислот, лугів, солей отруйних кислот	192
6.2. Дослідження діалізату	192
6.3. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі	198

Розділ 7. ГРУПА РЕЧОВИН, ЯКІ ПОТРЕБУЮТЬ ОСОБЛИВИХ МЕТОДІВ	
ІЗОЛЮВАННЯ	200
7.1. Фтористі солі (фториди)	200
7.2. Отруйні газоподібні речовини	203
7.3. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі	210
ТЕМИ КУРСУ ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ ДЛЯ САМОСТІЙНОГО	
ЗАСВОЄННЯ СТУДЕНТАМИ	212
ПРИКЛАДИ РОЗВ'ЯЗУВАННЯ СИТУАЦІЙНИХ ЗАДАЧ	213
ГЛАВА II. ПРАКТИЧНА РОБОТА СТУДЕНТІВ	219
Розділ 1. ВИМОГИ ДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ.	
ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ В УЧБОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ	219
1.1. Орієнтовні дії при підготовці до виконання лабораторних робіт	223
1.2. Оформлення лабораторного журналу	223
1.3. Складання акту хіміко-токсикологічної експертизи	224
1.4. Практична робота студентів	225
ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ НАВЧАЛЬНОЇ ТА НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	232

ПЕРЕДМОВА

Токсикологічна хімія є однією із спеціальних фармацевтичних дисциплін, яка вивчає методи виділення токсичних речовин з об'єктів біологічного походження, якісне та кількісне визначення цих речовин, а також їх хімічне перетворення в організмі.

Токсикологічна хімія базується на ряді фундаментальних (хімія, фізика та біологія) та прикладних (фармацевтична та біологічна хімії, фармакогнозія, фармакологія) дисциплін, які входять до навчального плану підготовки провізорів. Основними розділами курсу токсикологічної хімії є судова хімія, яка обслуговує судово-медичну експертизу, хіміко-токсикологічний аналіз у клініці гострих інтоксикацій.

Оволодіння практичними та теоретичними основами токсикологічної хімії необхідно провізору для послідувочої спеціалізації в області судово-хімічної експертизи, клінічної токсикології, наркології, криміналістики, клінічної фармації, екології та санітарної хімії.

Характерною особливістю токсикологічної хімії є значне розширення арсеналу отруйних для людини і тварини хімічних сполук, збільшення об'єму інформації, у якій приведено їх властивості, механізм взаємодії з біосистемами та методів їх аналітичного аналізу. В зв'язку з цим особливо важливим у викладенні курсу токсикологічної хімії необхідно виділити основні загальнотеоретичні положення і закономірності біохімічної та аналітичної токсикології. При цьому залишаються деталі, особливо прикладного характеру на послідувочу післядипломну підготовку. Такий підхід дозволить майбутньому провізору знаходити і критично оцінювати нову інформацію в межах токсикологічної хімії, а також використовувати одержану інформацію для вирішення практичних питань.

Специфіка токсикологічної хімії дозволяє в будь-якій послідовності викладення матеріалу, в залежності від методів ізолювання токсичних речовин.

Сучасний розвиток токсикологічної хімії показує, що розуміння механізму токсичної дії речовин на організм не можливий без системного аналізу. Організм є складною системою – «біосистемою», сукупністю взаємодіючих частин. Все, що відбувається в одній частині організму, в тій чи іншій мірі відображається в інших його частинах. Тому аналіз токсичності нерозривно пов'язаний з кінетикою всмоктування, виділення, механізмом метаболічних реакцій.

При викладенні теоретичного курсу токсикологічної хімії особлива увага приділяється системному підходу до вивчення токсикологічної хімії: отруйних речовин, з урахуванням фізико-хімічних властивостей отрути, шляхів проникнення в організм, токсикокінетики, вибіркової дії, особливостей організму, додаткових факторів (температура і вологість оточуючого повітря, тиск та ін.), а також методів прижиттєвої і посмертної лабораторії діагностики. На основі одержаних даних можна зробити об'єктивний внесок результатів аналізів і профілактики отруєнь.

Студенти повинні оволодіти практичними навичками мікро токсикологічного аналізу токсичних речовин, враховуючи їх особливість і складність. Аналіз повинен виконуватись поетапно, для чого на лабораторних заняттях ті чи інші прийоми та навички виконуються демократично, а потім їх відпрацьовують студенти під контролем викладача.

Враховуючи, що коло токсичних речовин та методів їх дослідження постійно розширюється, на лабораторній роботі кожної групи отруйних речовин, які мають токсикологічне значення, відібрана і обмежена кількість, що дозволяє не перевантажувати учбовий процес, досягти поставлених цілей. Важливе значення при цьому надається вирішенню експериментальних задач, при вирішенні яких студенти вчаться складати план дослідження по виділенню, виявленню і визначенню отрут, аналізувати одержані результати, складати експертне заключення або акт судово-медичного дослідження.

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Умови токсикологічної напруженості, зумовленої екологічними і технологічними катастрофами, професійними вадами, нещасними випадками у побуті, а також різними захворюваннями хімічної етіології, які виникають з суїцидальних та кримінальних причин, мають щоденний вплив на стан здоров'я сучасної людини.

Таким чином, необхідність своєчасного виявлення отруйних та небезпечних для здоров'я людини речовин, номенклатура яких постійно зростає та попередження захворювання чи смерті людини від них є актуальною проблемою.

Метою викладання курсу токсикологічної хімії є підготовка фахівців, які володіють знаннями та практичними навичками, що дозволяють їм організувати та проводити роботу з хіміко-токсикологічних досліджень отруйних речовин в бюро судово-медичної експертизи, лабораторіях промислово-санітарного аналізу фармацевтичних підприємств, наркологічних центрах; клінічних лабораторіях по визначенню лікарських речовин та їх метаболітів у біологічних рідинах, санітарно-епідеміологічних станціях.

Фахівці повинні знати:

- основи відповідних загальнотеоретичних дисциплін в об'ємі, що необхідний для рішення професійних задач;
- структуру судово-медичної експертизи, наркологічної і санітарної служб України;
- головні діючі накази і інші нормативні документи МОЗ України, які регламентують діяльність судово-медичної експертизи, санітарно-епідеміологічної станції, наркологічної служби;
- закономірності взаємозв'язку хімічної структури отрут з їх фізичними, хімічними та токсикологічними властивостями;

- особливості токсикокінетики і токсикодинаміки отрут;
- хімічні, фізико-хімічні і біологічні методи якісного і кількісного аналізу отруйних речовин і їх метаболітів в біологічному матеріалі, а також різних об'єктах навколишнього середовища;
- сучасний стан і пріоритетний напрямок розвитку хіміко-токсикологічного аналізу.

Фахівці повинні вміти:

- визначати токсичні речовини в біологічному матеріалі, лікарських препаратах, об'єктах навколишнього середовища, використовуючи усі методи, необхідні для аналізу;
- оцінювати результати хіміко-токсикологічних досліджень, документувати їх проведення, складати акти експертизи;
- складати і використовувати експертні схеми скринінга отрут;
- застосовувати комп'ютерну техніку для рішення практичних задач;
- володіти навичками науково-дослідницької роботи в області розробки нових методів аналізу отруйних речовин в різних об'єктах.

Представлені методичні рекомендації з курсу токсикологічної хімії допоможуть студентам самостійно вивчити теоретичний матеріал, а також підготуватися до лабораторних занять та виконати контрольні завдання.

Токсикологічна хімія – наука, яка вивчає виділення, якісне та кількісне визначення отруйних речовин з біологічного матеріалу і деяких інших об'єктів. Основними об'єктами хіміко-токсикологічного аналізу на присутність отруйних речовин є органи і тканини трупів, біологічні рідини (кров, сеча), вода різних типів водоймищ, повітря, харчові продукти, лікарські та інші речовини.

Результати хіміко-токсикологічного аналізу мають велике значення для вирішення питань при отруєнні людей, тварин різними отруйними речовинами.

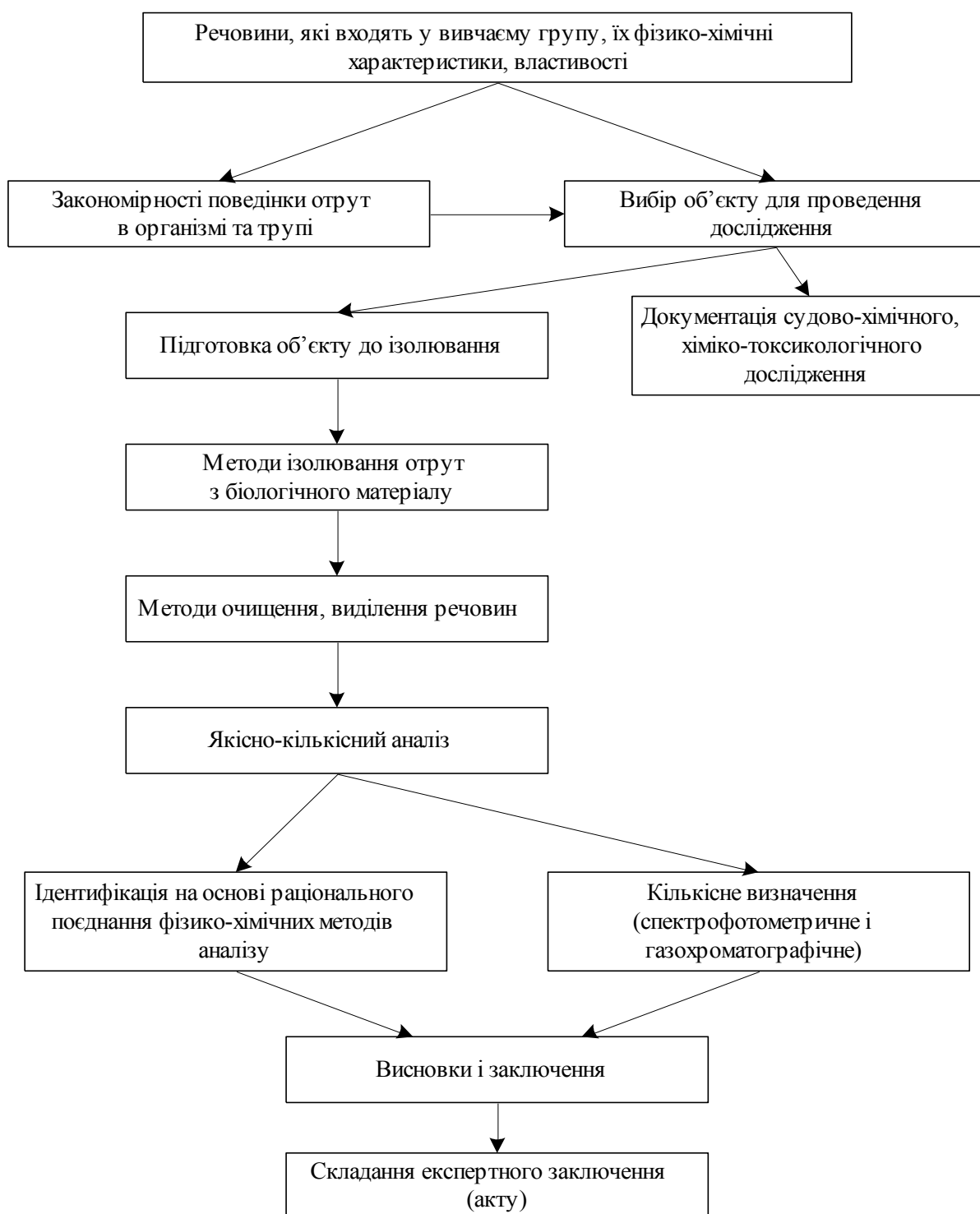
Токсикологічна хімія являється однією з профільюючих фармацевтичних наук, яка вивчається в Запорізькому державному медичному університеті.

ПОРЯДОК ВИВЧЕННЯ ПРЕДМЕТУ

1. Самостійне вивчення теоретичного курсу токсикологічної хімії.
2. Виконання контрольної роботи.
3. Відвідування оглядових лекцій.
4. Виконання лабораторних робіт та складання акту судово-хімічного дослідження під час очної лабораторно-екзаменаційної сесії.
5. Складання іспиту з токсикологічної хімії.

Виконання учбового плану повинно відповідати індивідуальному графіку, встановленому деканатом заочного відділення.

Логічна схема вивчення основних тем курсу



ПРОГРАМА З ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

Основний курс

Вступ

Токсикологічна хімія вивчає властивості отруйних і сильнодіючих речовин, методи ізолювання з біологічних об'єктів та аналізу.

Місце токсикологічної хімії серед фармацевтичних, ряду медичних та медико - біологічних дисциплін (судової медицини, токсикології, біохімії та ін.). Вчення про форми руху матерії як методологічної основи класифікації наук і пояснення діалектики їх взаємодії. Значення токсикологічної хімії в системі підготовки провізорів.

Основні етапи становлення і розвитку токсикологічної хімії. Роль російських, українських та закордонних вчених у створенні теорії і методів аналізу отруйних і сильнодіючих речовин органічної та неорганічної природи в об'єктах біологічного походження (М.В. Ломоносов, Д.І. Менделєєв, С. Стасс, М.А. Нелюбін, Г. Драгендорф, Ю.К. Трапп, А.П. Діанін, А.В. Степанов, М.Д. Швайкова, В.П. Крамаренко та ін.). Токсикологічна хімія в Україні, задачі та перспективи розвитку.

Основні розділи токсикологічної хімії (судово-хімічний, хіміко-токсикологічний аналіз в клініці гострих отруєнь).

Організація судово-хімічної та судово-медичної експертиз в Україні. Судово-хімічні відділення судово-медичних лабораторій, бюро судово-медичної експертизи органів охорони здоров'я. Правові та методологічні основи судово-хімічної експертизи. Основні документи, які регламентують роботу в області судово-хімічної експертизи. Організація спеціалізованої допомоги при гострих отруєннях. Хіміко-токсикологічна лабораторія центрів по лікуванню гострих отруєнь та її задачі.

Етика і деонтологія в токсикологічній хімії; світоглядіві, ідеологічні, політико-виховні аспекти в судово-хімічній експертизі і клініці гострих отруєнь.

Загальні питання

Поняття «отрута». Загальні принципи класифікації отрут. Види отруєнь, їх причини, структура і летальність. Лікарська залежність, наркоманія. Основні закономірності поведінки токсичних речовин в організмі людини і тварини. Шляхи проникнення органічних і неорганічних сполук в організм. Транспортні механізми. Залежність транспорту органічних отрут через мембрану від їх фізико-хімічних характеристик.

Всмоктування, розподілення і шляхи виведення токсичних речовин з організму людини і тварини. Фактори, які впливають на метаболізм. Основні токсикологічні константи. Залежність токсичного ефекту від дози і концентрації токсичних речовин в біологічних рідинах організму.

Загальна характеристика, класифікація речовин, які викликають отруєння (фармацевтичні препарати, засоби хімічного захисту рослин, промислові отрути, засоби побутової хімії, рослинні отрути та ін.).

Об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу (внутрішні органи, тканини, кров, сеча, лімфа, діалізати, промивні води та ін.) та їх характеристика. Гниття біологічного матеріалу і основні реакції повторного метаболізму (декарбоксилювання, ароматичне гідроксилювання та ін.). Способи консервування біологічних об'єктів.

Методи хіміко-токсикологічного аналізу, їх класифікація і загальна характеристика. Методи ізолювання отруйних та сильнодіючих речовин з біологічного матеріалу. Способи очищення і концентрування, їх вибір і оцінка.

Поєднання методів розділення і концентрування. Принципи і методи виявлення та кількісного визначення органічних та неорганічних сполук. Основні вимоги до методів хіміко-токсикологічного аналізу. Загальний і цілеспрямований хіміко-токсикологічний аналіз.

Правила відбору, направлення і прийому об'єктів на судово-хімічну експертизу. Особливості судово-хімічного аналізу біологічних об'єктів.

Загальні принципи інтерпретації результатів судово-хімічних досліджень. Особливості судово-хімічної експертизи трупа у випадку смерті після проведення реанімаційних заходів та інтенсивної терапії.

Окремі питання

Отрути органічної природи

Група речовин, які ізолюються дистиляцією («леткі» отрути)

Загальна характеристика групи речовин. Теоретичне обґрунтування ізолювання «летких» отрут. Дистиляція з водяною парою, проста і азеотропна перегонка, інші види дистиляції. Характеристика методів ізолювання «летких» отрут в залежності від виду об'єкта і властивостей речовини, що аналізується.

Хімічний метод дослідження дистилятів. Загальна схема аналізу. Типи використовуваних реакцій, їх чутливість і специфічність. Переваги і недоліки хімічного методу.

Газова хроматографія як сучасний високоефективний метод розділення, ідентифікації та кількісного визначення «летких» отрут. Способи групової та індивідуальної ідентифікації отруйних речовин з допомогою багатоклонкового газохроматографічного аналізу. Перспективи використання газової хроматографії в «скринінг»-аналізу «летких» отрут. Аналіз дистилятів на основі комбінування хімічного та газохроматографічного методів. Вплив продуктів метаболізму «летких» отрут і ендогенних сполук на результати аналізу.

Кислота ціанідна та її похідні

Основні хімічні та фізико-хімічні властивості. Використання. Токсична дія. Шляхи проникнення в організм, розподілення і метаболізм. Зберігання синильної кислоти та її похідних в трупному матеріалі. Ізолювання синильної кислоти з внутрішніх органів трупа та біологічних рідин (кров, лімфа). Основні реакції виявлення. Фотометричний метод відкриття ціанідів. Оцінка результатів судово-хімічного дослідження.

Аліфатичні спирти

Властивості та механізм дії на організм людини. Токсичність. Поведінка в організмі та трупі. Особливості ізолювання, виявлення та відкриття

спиртів при судово-хімічному аналізі біологічних об'єктів (кров, сеча, внутрішні органи трупа).

Сучасний стан і задачі судово-медичної та судово-хімічної експертизи алкогольних інтоксикацій. Динаміка зміни концентрації етанолу в трупі, вплив процесів гниття. Судово-медична оцінка результатів кількісного визначення етанолу.

Особливості хіміко-токсикологічного аналізу біологічних об'єктів на етиленгліколь.

Алкілгалогеніди

Фізичні та хімічні властивості органічних розчинників на прикладі хлороформу, чотирехлористого вуглецю та 1,2-дихлоретану. Хлоралгідрат. Токсичність. Особливості поведінки в організмі. Сучасні методи хіміко-токсикологічного аналізу алкілгалогенідів.

Альдегіди (формальдегід), кетони (ацетон), одноатомні феноли та їх похідні (фенол, крезол).

Властивості і використання. Токсичність. Розподілення в організмі і особливості метаболізму.

Хімічні методи виявлення і визначення формальдегіду, ацетону, фенолу та його похідних, а також їх метаболітів.

Карбонові кислоти (кислота ацетатна)

Властивості і токсичність оцтової кислоти. Об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу при інтоксикаціях оцтовою кислотою. Особливості ізолювання і судово-хімічного аналізу на оцтову кислоту. Судово-медична оцінка результатів кількісного визначення оцтової кислоти в біологічних об'єктах.

Група речовин, які ізолюються екстракцією полярними розчинниками (лікарські засоби)

Загальна характеристика групи. Вклад вітчизняних вчених (в тому числі співробітників кафедр і курсів токсикологічної хімії) в розробку мето-

дів ізолювання та аналізу речовин даної групи. Фізико-хімічні властивості, структура і реакційна здатність отруйних та сильнодіючих речовин органічної природи. Основні фізико-хімічні константи (рН, рКа, К-розподілу та ін.). Сучасні загальні та окремі методи ізолювання, їх характеристика та порівняльна оцінка. Фактори, які визначають ефективність екстракції досліджуваних сполук на різних етапах ізолювання (характер і підготовка об'єкту, природа розчинника, рН розчину, ступінь іонізації, природа кислоти та електроліту, способи осадження білків та ін.).

Способи концентрування сполук, що аналізуються з водних екстрактів: екстракція органічними розчинниками, адсорбція, випаровування, діаліз під тиском.

Методи очищення і відокремлення токсичних речовин від супутніх ендогенних сполук. Використання хроматографічних методів для очищення і розділення; вибір методів в залежності від виду, стану об'єкта та способу ізолювання речовини, що аналізується з біологічного матеріалу.

Методи відкриття і визначення. Принципова схема ідентифікації та кількісного визначення речовин, які ізолюються екстракцією полярними розчинниками.

Хімічні методи дослідження

Переваги та недоліки. Типи реакцій. Чутливість та специфічність реакцій відкриття. Кольорові та осадкові реакції. Дослідження кристалічних осадів під мікроскопом.

Фізико-хімічні методи

Тонкошарова хроматографія як простий та ефективний метод розділення, та попередньої ідентифікації речовин даної групи. ТШХ - «скринінг», його роль в аналізі, обмеження дослідження від ступеня гнилісного розкладу біологічного матеріалу. Сполучення тонкошарової хроматографії з хімічними та фізико-хімічними методами аналізу.

Перспективи використання газорідинної хроматографії в аналізі екстрактів з органів трупа.

Методи адсорбційної спектроскопії. Електронні спектри. Класифікація органічних сполук по електронним спектрам. Аналіз речовин даної групи по електронним спектрам поглинання та його значення в схемі дослідження.

Хромато – мас - спектрометрія, можливості та використання.

Фармакологічні випробування

Їх роль при ідентифікації деяких алкалоїдів.

Методи кількісного визначення

Диференціальна спектрофотометрія (на прикладі похідних барбітурової кислоти). Фотометричний та екстракційно-фотометричний метод аналізу (нітрогенвмісні луги). Чутливість та специфічність методів кількісного визначення. Значення даних про кількісний вміст речовини в органах трупа та біологічних рідин при оцінці результатів дослідження.

Роль і значення медичних підприємств при оцінці результатів судово-хімічної експертизи групи лікарських органічних «нелетких» сполук.

Властивості, окремі питання токсикології, поведінки та зберігання в організмі і трупі. Особливості хіміко-токсикологічного аналізу окремих груп сполук, які ізолюються екстракцією полярними розчинниками:

- похідні кислоти барбітурової (барбітал, фенobarбітал, бутobarбітал, барбаміл, натрій-етамінал);
- алкалоїди:
 - - похідні піридину та піперидину (пахікарпін, нікотин, анабазин, коніїн, ареколін);
 - - похідні тропану (атропін, скополамін, кокаїн);
 - - похідні хіноліну (хінін);
 - - похідні фенантренизохіноліну (морфін, кодеїн, діонін, героїн);
 - - похідні індолу (стрихнін);

- - похідні пурину (кофеїн, теобромін, теофілін);
- - ациклічні алкалоїди (ефедрин);
- похідні піразолону (амідопірин, антипірин, анальгін, бутадіон);
- похідні фенотіазину (аміназин, дипразин, тізерцин);
- похідні 1,4-бензодиазепіну (хлордiazепоксид, diaзепам, нітразепам, оксазепам);
- похідні кислоти пара-амінобензойної (новокаїн, новокаїнамід);
- похідні піперидину (промедол).

Група речовин, які ізолюються екстракцією органічним розчинником (пестициди)

Загальні уявлення про пестициди, їх значення для народного господарства та охорони здоров'я. Урядові постанови про хімізацію сільського господарства та заходи по боротьбі з забрудненням навколишнього середовища. Проблема залишків пестицидів. Вклад вітчизняних та зарубіжних вчених в розроблення методів хіміко-токсикологічного аналізу пестицидів.

Класифікація пестицидів (по направленості використання, формі використання, токсичності). Хімічна класифікація.

Похідні фосфорної (метафос), тіофосфорної (трихлорметафос), ди-тіофосфорної (карбофос), фосфонової (хлорофос) кислот

Будова та властивості. Токсичність. Всмоктування, розповсюдження та метаболізм у організмі. Об'єкти хіміко-токсикологічного дослідження на фосфорвмісні органічні сполуки (ФОС). Основні етапи судово-хімічного аналізу. Ензиматичний метод, його значення. Реакції забарвлення та їх комбінування з тонкошаровою хроматографією. Специфічність.

Використання газорідинної хроматографії з селективними детекторами для визначення ФОС при судово-хімічній експертизі трупного матеріалу. Кількісне визначення ФОС по фосфору.

Оцінка результатів судово-хімічного дослідження.

Пестициди з групи хлорорганічних похідних (гексахлорциклогексан, гептахлор) та похідних кислоти карбамінової (севін)

Загальна характеристика та властивості. Токсичність. Здібність до кумуляції. Об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу. Методи хіміко-токсикологічного дослідження гексахлорану, гептахлору та севіну.

Органічні сполуки ртуті

Класифікація. Алкілртутні солі, їх властивості та використання. Фунгіциди на основі етилмеркурійхлориду. Особливості поведінки алкілртутних солей в організмі людини і тварин. Судово-хімічна експертиза отруєнь фунгіцидними препаратами, які містять алкілртутні солі (на прикладі етилмеркурхлориду).

Отрути неорганічної природи

Група речовин, які ізолюються мінералізацією

Загальна характеристика групи речовин. Вклад вітчизняних та зарубіжних вчених у розроблення методів виділення та аналізу «металевих» отрут. Теоретичне обґрунтування необхідності мінералізації органічних речовин при дослідженні на «металеві» отрути. Характеристика сучасних загальних та окремих методів мінералізації. Вибір методу в залежності від характеру об'єкта та аналізуючої «металевої» отрути. Деякі питання теорії мінералізації. Денітрація мінералізата та підготовка його до дослідження.

Дробний метод дослідження. Теоретичні положення. Вибір об'єктів дослідження. Схема дробного методу аналізу (по А.Н.Криловій). Характеристика реагентів, які використовуються в дробному методі для маскуванню заважаючих іонів, виділення та аналізу «металевих» отрут.

Загальна характеристика методів кількісного визначення «металевих» отрут при дробному аналізі. Вибір методу в залежності від вмісту отрути. Можливі помилки при проведенні аналізу.

Судово-медична оцінка результатів хіміко-токсикологічного дослідження з урахуванням природного вмісту металів в організмі.

Токсикологія, поведінка в організмі та аналіз сполук барію, плюмбуму, мангану, хрому, арсену, купруму, стібію, цинку та меркурію. Перспективи використання атомно-абсорбційної спектроскопії та інших фізичних методів при визначенні «металевих» отрут в мінералізатах та біологічних рідинах.

Група речовин, які ізолюються настоюванням з водою

Загальна характеристика групи. Токсичність. Обґрунтування вибору об'єкту. Роль та способи визначення рН середовища об'єкту.

Мембранна фільтрація та діаліз. Фільтри з нітроцелюлози та мембранні фільтри. Технічні прийоми та способи мембранної фільтрації та діалізу. Застосування діалізу та перспективи використання мембранної фільтрації для ізолювання (виділення) речовин даної групи.

Особливості хіміко-токсикологічного аналізу кислот (сульфатної, нітратної, хлоридної), лугів (натрій, калій та амоній гідроксиди), нітритів та нітратів.

Збереження сполук, які входять в дану групу, в трупному матеріалі.

Група речовин, які потребують особливих методів ізолювання

Токсикологія та хіміко-токсикологічний аналіз сполук фтору.

СПЕЦІАЛЬНИЙ КУРС

(лабораторний експрес-аналіз гострих інтоксикацій)

1. Клінічна токсикологія, предмет, задачі та основні розділи.

Гострі отруєння – актуальна проблема сучасної медицини. Поширеність. Характер та причини отруєнь. Особливості отруєння у дитячому віці. Основні та додаткові фактори, які визначають розвиток отруєнь.

2. Основні методи детоксикації організму при гострих отруєннях.

2.1. Методи посилення природної детоксикації організму.

2.1.1. Очищення шлунково-кишкового тракту. Доцільність та ефективність. Способи багаторазових промивань шлунку (шлунковий ловаж) та його обґрунтованість.

2.1.2. Метод форсованого діурезу та його застосування.

Вплив ступеня іонізації органічних отрут кисло-лужного характеру на ефективність методу форсованого діурезу.

2.2. Методи штучної детоксикації організму.

2.2.1. Діаліз. Принцип, фізико-хімічна основа, застосування. Перитонеальний діаліз. Гемодіаліз.

2.2.2. Сорбція. Типи сорбентів, які використовуються для очищення крові, основні вимоги до них та їх ефективність. Гемосорбція.

2.2.3. Загальна уява про методи антидотної детоксикації.

3. Загальні принципи діагностики отруєнь. Основні діагностичні заходи.

4. Хіміко-токсикологічний аналіз у діагностиці гострих отруєнь.

Значення визначення токсичних речовин у організмі. Методи визначення токсичних речовин в біологічних рідинах (хроматографічні: газова та тонкошарова хроматографія, УФ-спектрофотометрія, спектрофлуориметрія; імунологічні: радіоімунний та імуноферментний). Порівняльна оцінка. Межі вивчення та визначення. Попередні проби та методи аналітичного «скринінгу» в діагностиці. Способи виділення токсичних речовин з біологічних рідин та їх особливості.

5. Хіміко-токсикологічний аналіз в діагностиці головних нозологічних форм отруєння.

5.1. Гостра алкогольна інтоксикація. Особливості комбінованих отруєнь. Сурогати алкоголю. Експрес-метод кількісного визначення етанолу в крові та сечі на основі газової хроматографії. Значення відносного коефіцієнту в сечі та крові в діагностиці алкогольної коми.

5.2. Отруєння лікарськими препаратами. Характеристика та структура медикаментних отруєнь. Загальні токсикологічні відомості.

Експрес-методи визначення. Кольорові, мікрокристалічні, ТШХ-тести на лікарські сполуки та їх використання стосовно біологічних рідин, головним чином сечі. Вплив ендогенних та продуктів метаболізму екзогенних сполук на результати аналітичних тестів. Типові метаболіти та їх поєднання як критерії підвищення ефективності ТШХ - тестів.

Загальний аналіз. Умови та схеми добування отрут з об'єктів. Загальний ТШХ - «скринінг». Оцінка ефективності ТШХ - «скринінгу» в діагностиці.

Кількісні методи визначення лікарських сполук у біологічних рідинах та їх роль в оцінці тяжкості стану, вибір та корекція методів лікування.

5.3. Отруєння фосфорвмісними органічними сполуками.

Поширеність, характеристика та стадії отруєння ФОС. Газохроматографічний метод визначення ФОС в крові, плазмі та ін. Його роль в діагностиці.

5.4. Гострі отруєння оксидом вуглецю.

Етіологічні фактори розвитку отруєнь оксидом вуглецю. Токсичність. Класифікація отруєнь оксидом вуглецю по ступеню важкості. Визначення карбоксигемоглобіну.

ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ КОНТРОЛЬНОЇ РОБОТИ

1. Кожна контрольна робота виконується в окремому зошиті, на обкладинці якого слід вказати:

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет
Кафедра токсикологічної та неорганічної хімії

Контрольна робота № _____
з токсикологічної хімії
студента(ки) _____ курсу _____ років навчання
_____ групи _____ факультету
заочного відділення ЗДМУ

(прізвище, ім'я, по-батькові)

Шифр № _____
Домашня адреса _____

Запоріжжя
20____

2. Контрольна робота виконується акуратно із полями для зауважень. В кінці роботи необхідно привести список використаної літератури, поставити дату та особистий підпис.

3. Текст питання (завдання) переписується із збереженням загальної нумерації. Відповіді на питання повинні бути короткі, але повні.

У відповідях не слід переписувати методику реакцій при виявленні та кількісному визначенні, необхідно пояснити суть даної реакції або методу, навести рівняння реакції із вказівкою на умови та надати хіміко-токсикологічну оцінку. При написанні якісних реакцій вказати зовнішній ефект, яким супроводжується дана реакція: осад та його колір, наявність забарвлення розчину, наявність запаху. При описуванні фізико-хімічних методів аналізу необхідно навести коротко принцип методу, його чутливість та специфічність, а також вказати умови його використання для ідентифікації та кількісного аналізу отрути.

ГЛАВА І. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ КУРСУ ТА ПИТАННЯ ДО КОНТРОЛЬНИХ РОБІТ

Розділ 1. ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ПОВОДЖЕННЯ ОТРУТ В ОРГАНІЗМІ

Наш організм – складна система, що переробляє різноманітні речовини, які надходять із зовні. Вони поділяються на властиві нашому організму і чужорідні (так звані ксенобіотики).

Речовини, властиві нашому організму, – це білки, жири, вуглеводи, вітаміни, які є джерелом енергії, дають матеріал для створення нових клітин і тканин, тобто вони нам життєво необхідні.

1.1. Шляхи надходження отрут до організму, всмоктування, розподіл і шляхи їх виведення

Основні шляхи надходження речовин до організму – через рот, легені, шкіру, слизові оболонки, плаценту.

При надходженні *через рот* всмоктування отрут починається вже в ротовій порожнині (фенол, нікотин, спирт). Проте більшість отрут у молекулярному стані всмоктуються в шлунку і кишечнику. У шлунку ($\text{pH} = 1$) у молекулярному стані знаходяться речовини кислого характеру (саліцилова кислота, барбітурати), у кишечнику ($\text{pH} = 7-8$) всмоктуються речовини основного характеру (алкалоїди, азотовмісні синтетичні речовини).

Через *легені* потрапляють леткі речовини (ацетон, хлороформ, чадний газ), сполуки ртуті (всмоктуються крізь мембрани альвеол шляхом дифузії).

Через *шкіру* потрапляють речовини, добре розчинні у ліпідах (нікотин, пестициди, солі ртуті).

Парентеральне введення речовин дає можливість уникнути впливу соків травлення.

Речовини всмоктуються і потрапляють до плазми й лімфи крові, циркулюють в організмі і проникають у клітини через систему мембран. Мембранні системи організму мають однакову будову, але відрізняються за функціональними властивостями. Вони являють собою рухливі структури, утворені білково-фосфоліпідними комплексами, мають обмежену проникність для різних сполук. Нині основною є гіпотеза тришарової мембрани Доусона – Данієллі. Між двома білковими шарами, з яких один повернений в бік цитоплазми, а другий – назовні клітини, міститься шар подвійного ліпиду. На ліпідних шарах із «плаваючими» в них білками знаходиться карбогідратна «шуба», що складається з різних олігосахаридів, полімерів, які включають десятки типів моносахаридів, у тому числі й глюкозу. Одна з важливих функцій цієї «шуби» – спроможність «відрізняти» клітини власного організму від чужих.

Молекули фосфоліпиду орієнтовані в бік білка, а гідрофобні поверхні прилягають. Товщина кожного шару 2-3 нм. Є припущення, що в клітинних мембранах існують ультрамікроскопічні пори (канали), утворені гідрофільною речовиною в ліпідних частинах, причому мембрани і пори мають певні електричні заряди. Механізм проходження речовин крізь мембрани досить складний, тому що на нього впливають не тільки функціональні особливості самих мембран, але й функції протоплазми та клітинних білків. З метою спрощення пояснення цього механізму виділяють чотири основних типи транспортування різноманітних речовин.

Тип 1 – характерний для нейтральних молекул. При цьому найшвидше дифундують молекули речовин, що мають високий коефіцієнт розподілу олія/вода, тобто ліпофільні властивості. Розчинні в ліпідах речовини (наприклад, наркотичні) можуть вільно, з мінімумом витрат енергії проходити крізь клітинні мембрани за законами *дифузії*.

Коефіцієнт дифузії отрути або лікарської речовини залежить від їх молекулярної маси, ступеня розчинності в ліпідах та іонізації, а також від просторової конфігурації молекули. Більші молекули, наприклад білки, проникають крізь ці мембрани через щілини або шляхом піноцитозу (везикулярного транспорту). При цьому мембрана утворює заглиблення, немовби цілком обволікає всю молекулу, що знаходиться всередині клітини у вигляді пухирця, який мігрує до інтерстиціальної рідини або, рідше, у судину.

Тип 2 трансмембранного транспорту пов'язаний із певними структурами, що забезпечують речовинам більш інтенсивну дифузію. Ці властивості мають деякі ділянки мембрани. Молекула, що транспортується зворотно, з'єднується з носієм у мембрані, який вільно рухається (осцилює) між внутрішньою і зовнішньою її поверхнями. Прикладом є транспорт глюкози в еритроцитах людини.

Тип 3 трансмембранного транспорту пов'язаний із споживанням енергії, що утворюється в результаті метаболізму аденозин-трифосфатної кислоти (АТФ) у самій мембрані. Припускають, що при цьому так званому *активному транспорті* молекула речовини з'єднується з носієм, який знає певних хімічних перетворень. Прикладами можуть служити процеси транспорту іонів калію в клітинах, всмоктування й виведення речовин в іонізованій формі нирковими каналцями та ін. Носіями звичайно служать ферменти, наприклад, калій- і натрійзалежна аденозинтрифосфатаза, що забезпечує активний транспорт цих іонів. В останні роки виявлено групу чужорідних речовин, названих іонофорами, що здатні змінювати бар'єрну функцію мембран і переносити крізь них тисячу іонів за секунду. Іонофори виробляються деякими мікроорганізмами (наприклад, антибіотиком валіноміцином), що використовуються в боротьбі за існування з іншими формами життя. Нині відкрито шлях до керованого хімічного синтезу нових, що не зустрічаються в природі, речовин цього виду, яким властива надзвичайна вибірковість щодо перенесення певних іонів.

Тип 4 трансмембранного транспорту стосується дифузії через пори, у стінках яких є позитивно заряджені частки, що пропускають тільки аніони. Проте існують канали, що пропускають неелектроліти. Про максимальну величину цих каналів можна судити за розмірами найбільшої молекули, яку вони спроможні пропустити. Мембрани ниркових клубочків людини в нормі можуть пропускати всі молекули, менші за молекули альбуміну (молекулярна маса 70000).

Отже, у мембранах цього типу транспорт речовин здійснюється за принципом *фільтрації*. Деякі природні отрути, наприклад, тетрадотоксин, батрахотоксин, що знаходяться в яєчниках риб родини голкочеревних, виявлено в маленькій колумбійській жаби. Вони своєю молекулою впливають на прохідність каналів. Перший з них може повністю, як пробкою, «закупорити» іонний канал для натрію, другий – ушкодити механізм закриття «воріт» цих каналів, і вони втратять здатність вибірково пропускати іони. Молекули деяких іонофорів, зокрема антибіотика граміцидину А, рухаючись у мембрані, часом «прошивають» її наскрізь і створюють подобу штучного насоса, здатного пропускати іони. Ці дані мають велике значення для пояснення механізму дії багатьох отрут, які вибірково впливають на провідність нервового імпульсу в синапсах.

Розподіл речовин залежить від впливу плазми й лімфи в органах і тканинах, від зв'язування з білками, від розчинності в жирах і воді, від складу та функцій органів і тканин. Так, пестициди добре розчинні в жирах і легко потрапляють у мозок, сальник, де спостерігається найбільший вміст жирів.

Важкі метали (ртуть, вісмут, миш'як та ін.) зв'язуються з функціональними групами білків. Має значення тривалість захворювання: якщо захворювання хронічне, то ртуть знаходиться в нервовій системі, миш'як – у волоссі; якщо аналіз здійснюють через 1-2 год. після надходження отрути, ртуть і миш'як переходять до печінки й нирок.

Головні шляхи виведення речовин та їх метаболітів – нирки, легені, слина, кишечник. Так, етанол виводиться із сечею, слиною, з повітрям – легеньми.

Нирки виводять речовини, розчинні у воді, переважно у вигляді іонів. Якщо сеча слабокисла, то більше виводиться органічних основ (алкалоїдів), якщо слаболужне середовище, то легше виводяться речовини кислого характеру (барбітурати).

Через кишечник виводяться речовини, які з жовчю виділяються з печінки.

Легені – органи виділення летких речовин (ефір, ацетон, бензол).

Через шкіру, тобто через потові залози, виводяться леткі речовини і солі важких металів.

1.2. Методи детоксикації отрут в організмі

Детоксикація – це процес знешкодження отрут і прискорення виділення їх з організму.

Звільнення організму від отрут відбувається внаслідок посилення відповідних природних фізіологічних процесів (викликання блювання, промивання шлунка, очищення кишок, форсований діурез, гіпервентиляція), штучної детоксикації (гемодіаліз, перитоніальний діаліз, гемосорбція, обмінне переливання крові) або методами антидотної терапії.

Викликання блювання. Зі шлунка частину отрути можна вивести з блювотними масами, тому при отруєнні деякими групами отрут необхідно викликати рефлексне блювання.

Промивання шлунка. Метод широко використовується при отруєнні отрутами різноманітної природи. Для цього за допомогою зонда в шлунок вводять близько 1 л води з додаванням невеликої кількості калію перманганату і викликають блювання.

Після промивання шлунка хворим призначають проносні засоби.

Форсований діурез – це один із методів прискореного виведення з організму токсичних речовин, які виділяються із сечею. При цьому хворому внутрішньовенне вводять 1,5-2 л ізотонічного розчину натрію хлориду, 5 %-вого розчину глюкози і для стимуляції діурезу – діуретичні засоби.

Швидкість виведення деяких отрут залежить від значення рН сечі. Цей метод малоефективний у випадках, коли вони зв'язані з білками міцними зв'язками, а також якщо отрути належать до жиророзчинних речовин.

Гіпервентиляція. До цього методу вдаються при отруєнні леткими отрутами, що повністю виділяються з організму легень з повітрям. Для гіпервентиляції застосовують апарат штучного дихання. Гіпервентиляція необхідна при отруєнні спиртами, ацетоном, хлороформом і вуглецю (II) оксидом.

Гемодіаліз. Метод прискореного виведення отруйних речовин, який базується на явищі діалізу. Гемодіаліз проводять за допомогою апарата «штучна нирка». Використовується при отруєнні речовинами невеликої молекулярної маси: барбітуратами, хлордіазепоксидом, етиленгліколем, метиловим спиртом, чотирехлористим вуглецем, оцтовою кислотою, похідними фенотіазину, розчинними солями ртуті, миш'яку, свинцю та ін.

Перитоніальний діаліз. Метод базується на введенні в черевну порожнину спеціального розчину, у який із крові шляхом діалізу переходять токсичні речовини. При цьому напівпроникною мембраною слугує діафрагма, яка має велику поверхню. Як діалізуючі рідини використовують суміші розчинів калію, натрію, кальцію, магнію хлоридів, глюкози у відповідних співвідношеннях.

Гемосорбція. Метод базується на поглинанні отруйних речовин, що знаходяться в крові, різноманітними сорбентами. Як сорбенти використовують переважно активоване вугілля або іонообмінні смоли.

Обмінне переливання крові. Цей метод базується на заміщенні крові хворого кров'ю донора.

Антидотна терапія. Використання антидотів – ефективний метод детоксикації організму тільки на ранніх стадіях отруєння. Як антидот часто використовують активоване вугілля, а також групу речовин, які хімічно взаємодіють з отрутами, внаслідок чого відбувається інактивація отруту і перетворення їх на нетоксичні речовини, що виділяються з організму із сечею і калом.

Крім наведених, існують і інші методи детоксикації організму, застосування яких залежить від природи отрути, що надійшла до організму.

1.3. Метаболізм токсичних речовин

1.3.1. Метаболізм чужорідних сполук і його роль в організмі. Фази метаболізму чужорідних сполук

Чужорідні хімічні речовини, що надходять у наш організм, можуть активно втручатися в хід нормальних і патологічних процесів, що обумовлює їх поведінку або як отруту, або як ліків.

В основі перетворень чужорідних хімічних речовин лежить вплив на них ферментів нашого організму, тобто метаболізм. Речовини, що утворюються в результаті метаболізму (метаболіти), характеризуються змінюваними хімічним складом і властивостями.

Метаболізуючи, речовини стають більш полярними, тобто мають більшу спорідненість із водою (гідрофільність). Відтак, метаболіти краще розчинні у водному середовищі і швидше виводяться з організму із сечею. Чим речовина ліпофільніша, тим більший термін її дії, тим складніше вона метаболізує і виводиться з організму.

Метаболіти легше іонізуються, ніж нативні речовини, тому й більший термін їх існування у вигляді водорозчинних солей, що також полегшує їх виділення з організму із сечею.

В основному метаболіти менш токсичні, ніж нативні речовини. Тому метаболізм вважається одним із шляхів детоксикації організму.

Вивчення метаболізму лікарських речовин зараз актуальне для різних спеціалістів. Лікарі бачать у метаболізмі не тільки чинник детоксикації організму, але й фактор, який впливає на терапевтичний рівень вмісту ліків, а також тривалість їх дії в організмі і тканинах.

Хіміки-токсикологи вивчають метаболізм речовин з ряду причин:

по-перше, деякі лікарські речовини й отрути з великою швидкістю метаболізують і можуть бути виявлені тільки у вигляді метаболітів;

по-друге, з огляду на те, що за фізичними і хімічними властивостями метаболіти відрізняються від нативних речовин, необхідно розробляти для них індивідуальні методи виділення з біологічного матеріалу, інакше метаболіти можуть бути втрачені;

по-третє, для повної оцінки дії отрути, що спричинила захворювання або загибель організму, необхідні ідентифікація й визначення дії як нативної отрути, так і її метаболітів.

Проте метаболізм багатьох лікарських речовин вивчений недостатньо або не вивчений зовсім. Це пов'язано зі значними *складностями в дослідженні метаболізму*:

- метаболіти містяться в біологічному матеріалі в дуже малих кількостях, що ускладнює їх виділення та ідентифікацію;
- якщо вдається виділити метаболіти, то їх кількості недостатньо для аналізу складу, дослідження фізичних і хімічних властивостей;
- для аналізу необхідні стандарти, тобто чисті вихідні речовини, ідентичні з метаболітами, а їх можна отримати в результаті дуже складного синтезу;
- сюди ж можна віднести і високу вартість апаратури для досліджень метаболітів.

Більшість лікарських речовин *метаболізують у печінці*, де є цілий набір ферментних систем, що характеризуються великою потужністю і високою специфічністю. Ці системи локалізовані в *мітохондріях, лізосомах клітин печінки*.

Метаболіти з печінки із жовчю надходять до кишечника і виводяться з калом або надходять у нирки й виводяться із сечею.

Метаболізм також частково відбувається в нирках, кишечнику, легенях та ін.

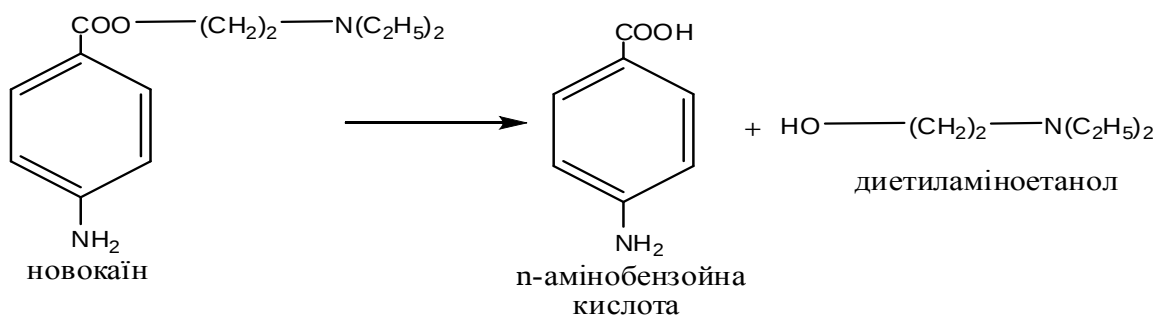
Крім власних ферментів, у нашому організмі можуть утворюватися нові ферменти під впливом різних чужорідних речовин. Отже, ці індуковані ферменти будуть специфічними до речовин, що спричинили їх виникнення.

Метаболізм лікарських речовин має такі класифікації:

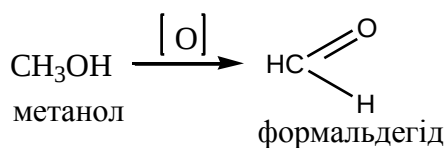
- за фармакологічними властивостями метаболітів;
- за спрямованістю і результатами метаболічних процесів;
- за типом хімічних процесів, що лежать в основі метаболізму речовин.

1.3.2. Класифікація речовин за фармакологічними властивостями метаболітів

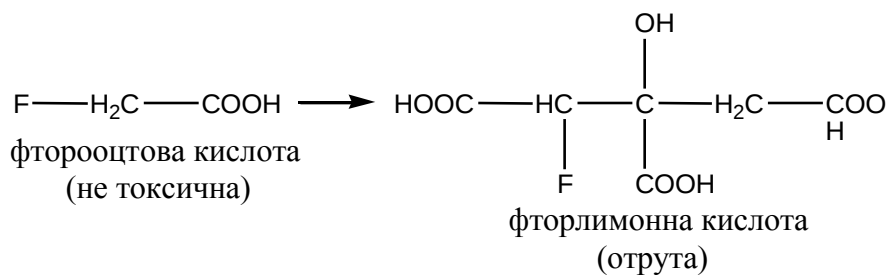
1. Утворення менш токсичних метаболітів, ніж нативні речовини:



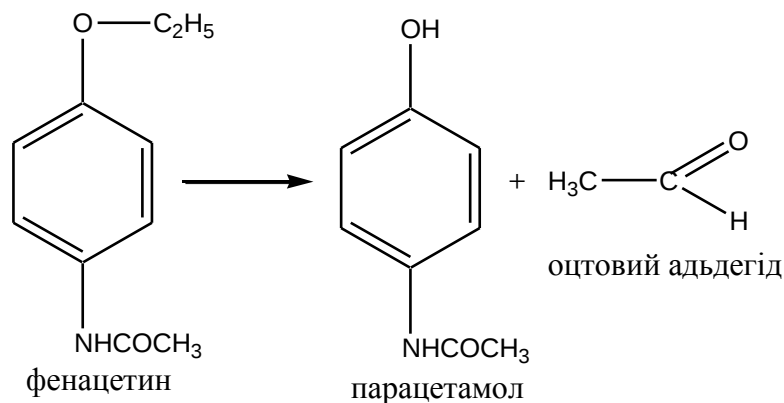
2. Утворення більш токсичних метаболітів, ніж вихідні речовини:



3. Летальний синтез:



4. Метаболіти, *активні у фармакологічному відношенні* більше, ніж нативні речовини:



1.3.3 Класифікація речовин за спрямованістю і результатами метаболічних процесів

1. *Анаболізм* – виникнення в результаті метаболізму більш складних молекул, на що витрачається енергія організму.

2. *Катаболізм* – розпад молекул вихідної речовини на окремі частини, тобто детоксикація організму.

Проте ці терміни не завжди правильні для всіх випадків метаболізму.

Так, переобтяження молекул у результаті утворення глюкуронідів веде до детоксикації речовини, а розпад нативної речовини – до утворення активних і токсичних метаболітів.

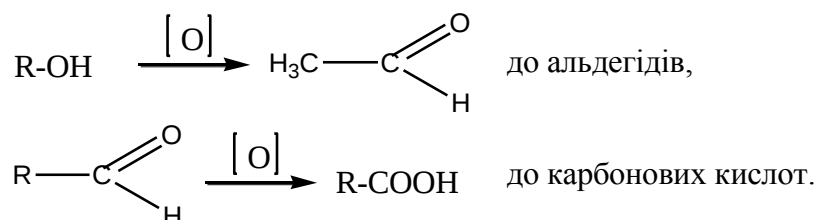
1.3.4. Класифікація речовин за типом хімічних процесів, що лежать в основі метаболізму всіх лікарських речовин

Фаза I метаболізму полягає в специфічній зміні молекул лікарських речовин з утворенням нових функціональних груп, які саме й підвищують спорідненість метаболітів з водою (тобто їх гідрофільність).

До фази I метаболізму можна віднести такі біохімічні механізми як окислення, відновлення, гідроліз, дезалкілування та ін.

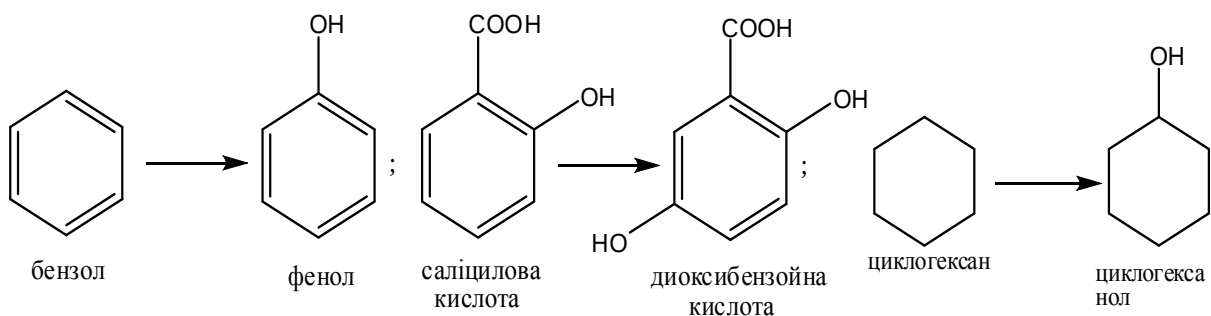
Окислення відбувається за основними напрямками, з огляду на хімічні властивості нативних речовин:

а) спиртів і альдегідів:

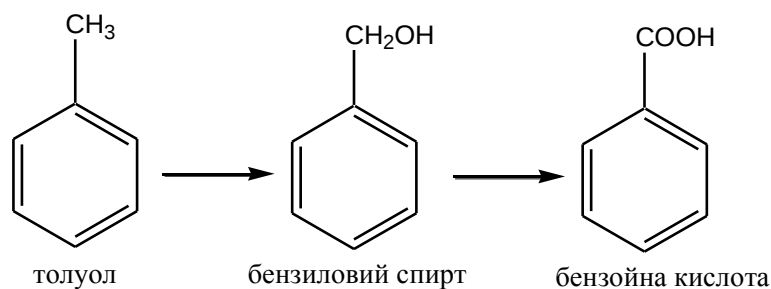


Ці процеси відбуваються в печінці, нирках, легенях, при цьому окислення спиртів протікає під впливом алкогільогеназ;

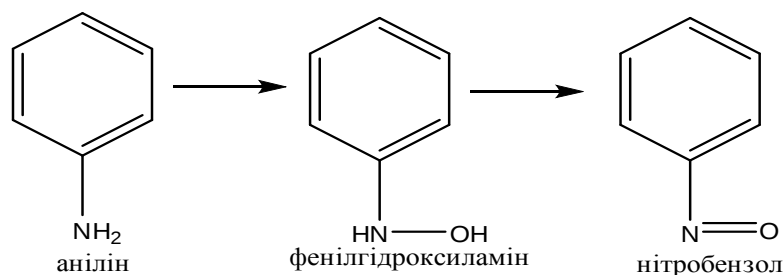
б) гідроксильовання ароматичних і циклічних речовин по кільцю – оксиди:



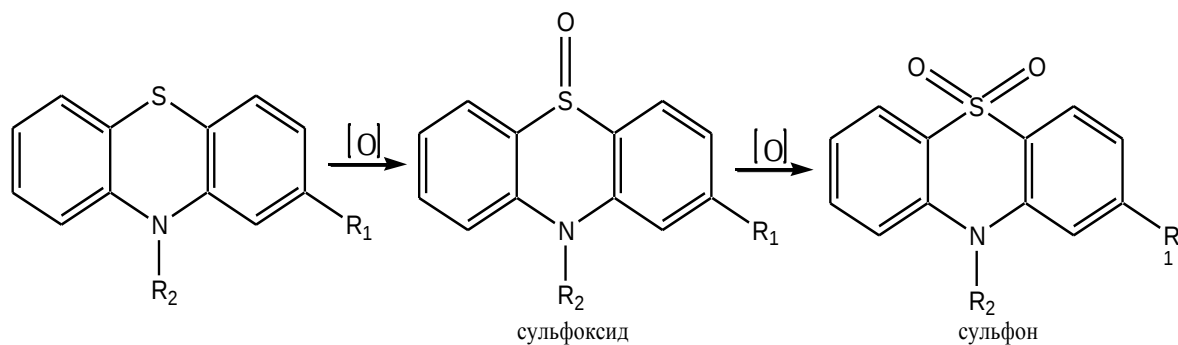
в) гідроксильовання радикалів ароматичних речовин:



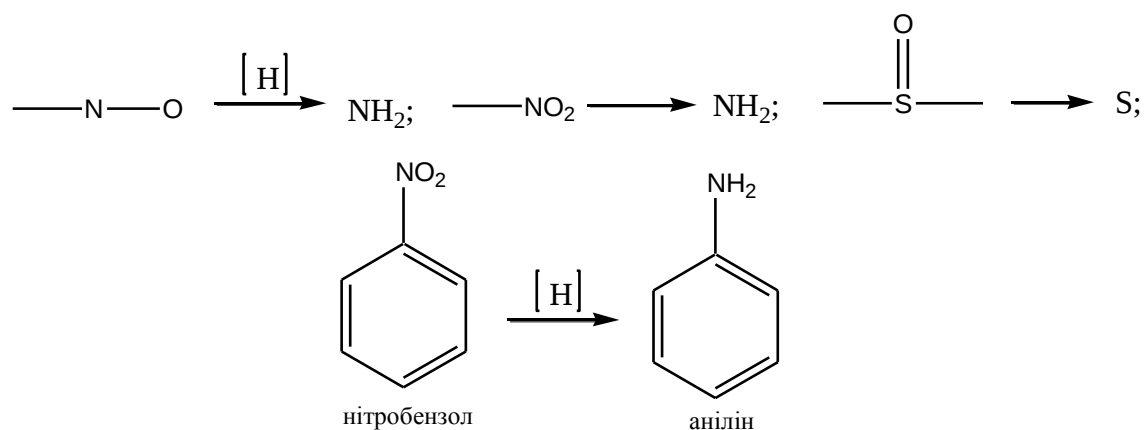
г) гідроксильовання за аміногрупою ароматичних речовин:



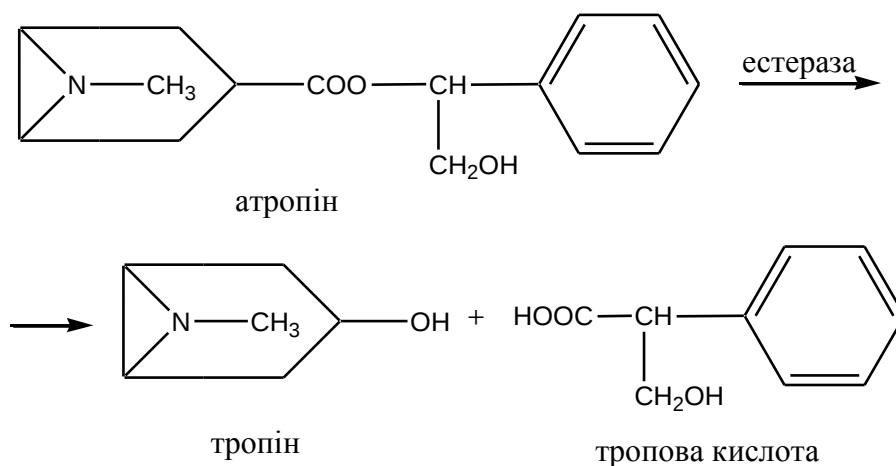
д) окислення по N–, S–:



Відновлення - під впливом редуктаз. Основні напрямки зворотні процесам окислення:



Гідроліз, характерний для складних естерів:



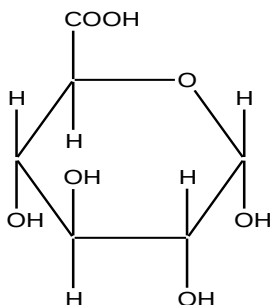
Дезалкілювання – відщеплення алкільних груп – може відбуватися в різних напрямках, проте легше відщеплюються групи, зв'язані з атомами N, O, S:

а) N- і O-дезалкілювання:

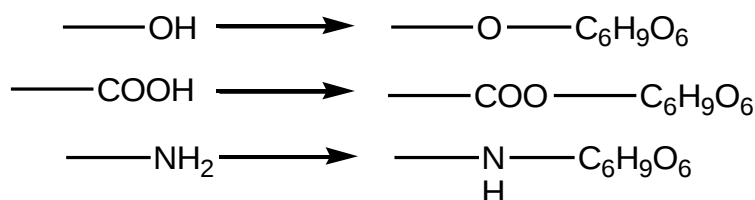
менш токсичними та краще виводяться із сечею, ніж інші метаболіти. Тому саме фаза II метаболізму є, власне, *фазою детоксикації*.

В реакцію кон'югації вступають:

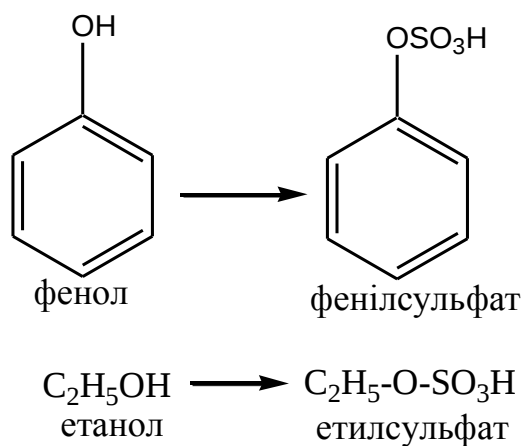
а) глюкуронова кислота (утворюються глюкуроніди в печінці, нирках, шкірі, кишечнику):



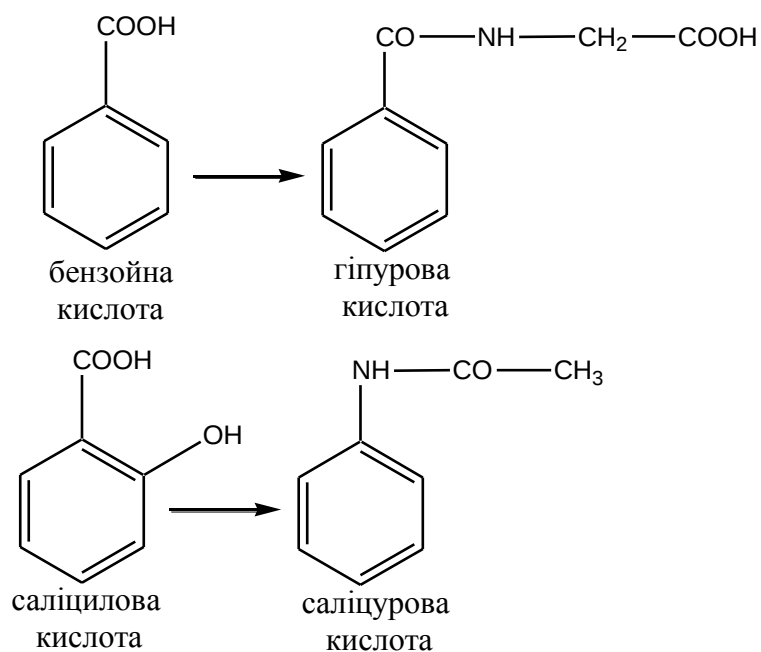
Утворюються глюкуроніди за спиртовими, аміно-, карбоксильними групами:



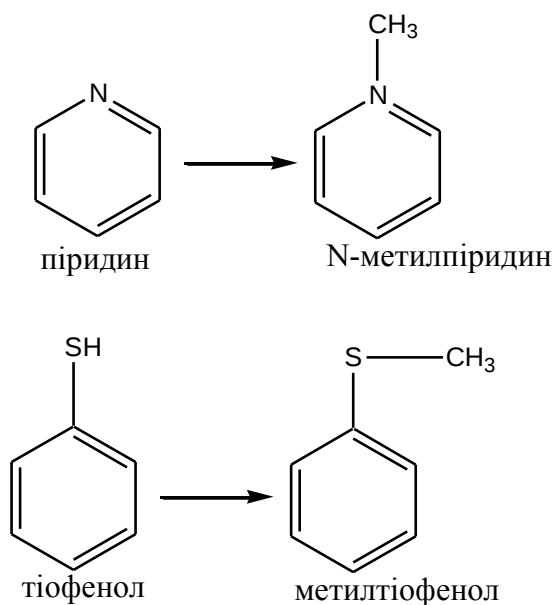
б) сульфати – характерні для фенолів, спиртів з утворенням складних естерів:



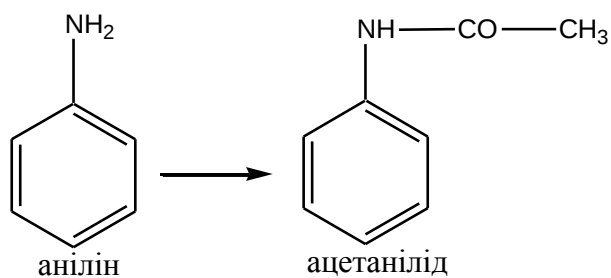
в) гліцин $\text{NH}_2\text{—CH}_2\text{—COOH}$ – амінокислота, взаємодіє з ароматичними кислотами:



Реакції алкілювання (метилування) – N-; S-; O-метилування – характерні для амінів, фенолів, тіолів:



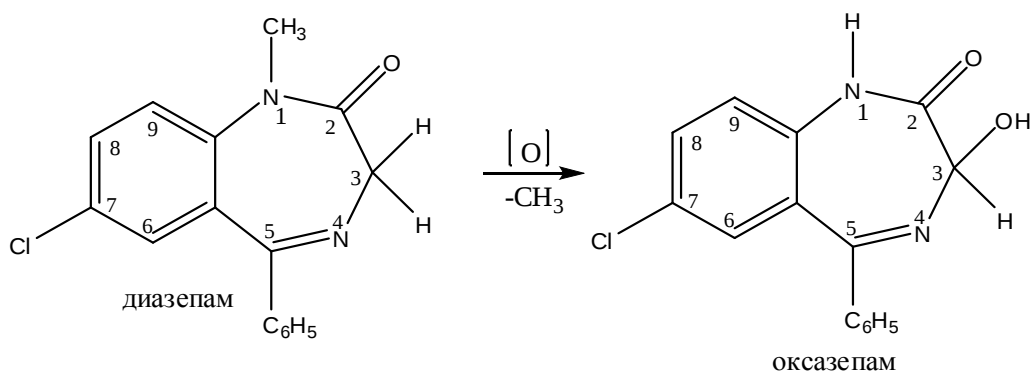
Ацетилювання – основний шлях метаболізму ароматичних амінів, амінокислот:



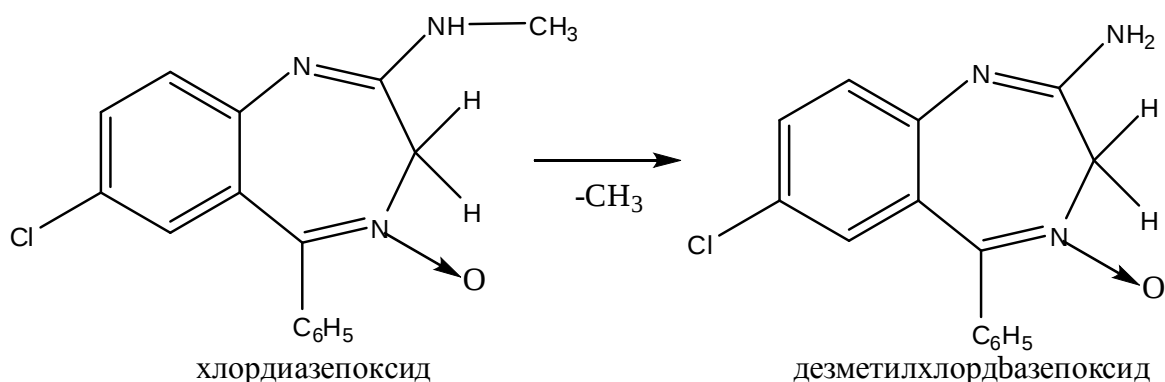
У здійсненні фаз метаболізму немає чіткої послідовності. Нативні речовини можуть відразу, минаючи фазу I, метаболізувати за фазою II. Якщо в молекулі нативної речовини є кілька функціональних груп, то відбуваються одночасно процеси обох фаз метаболізму. Швидкість метаболізму різних лікарських речовин не однакова і не завжди метаболізм доходить до кінця, тому одні речовини майже не метаболізують, а інші дають тільки метаболіти. Новокаїн за добу майже цілком метаболізує, а фенобарбітал майже не дає метаболітів і довго виводиться з організму.

Основні напрямки метаболізму похідних 1,4-бензодіазепіну: а) окислення і N-дезметилювання:

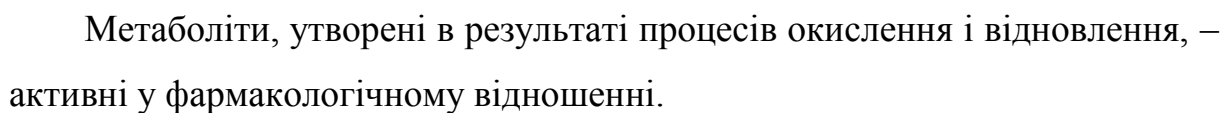
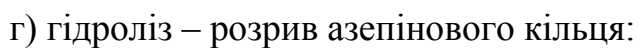
а) окислення і N-дезметилювання:



б) N-дезалкування:



в) відновлення:



Найбільший інтерес із цього погляду становлять метаболіти, які утворюються у процесі дезалкілювання.

Розрив азепінового кільця та утворення глюкуронідів призводить до втрати ними фармакологічної активності. Поряд із нативними сполуками метаболіти виявляються в різних тканинах організму.

1.3.5. Вплив різних факторів на метаболізм лікарських речовин

На метаболізм лікарських речовин впливає багато факторів:

- хімічна взаємодія між лікарськими речовинами;
- інгібітори та індуктори ферментів;
- харчування, вік;
- патологічні стани;
- вплив алкоголю, тютюну, пестицидів.

Хімічна взаємодія між лікарськими речовинами. У результаті взаємодії різних лікарських засобів (судинорозширювальних, седативних та інших) лікар намагається домогтися ефективного і швидкого лікування, але можлива хімічна взаємодія речовин з утворенням нових речовин, не активних у лікувальному плані, малотоксичних. Так, гепарин і його антагоніст протамін дають неактивні, нетоксичні і малодисоційовані сполуки.

Інгібітори та індуктори ферментів. *Індуктори ферментів* – це лікарські речовини, що посилюють активність ферментів і метаболізм. Так, барбітурати активують метаболізм левоміцетину; аміназин – метаболізм стероїдних гормонів; бутадіон – метаболізм амідопіріну. Для індукторів загальною властивістю є здатність розчинятися в ліпідах.

Інгібітори ферментів – багато лікарських речовин знижують активність ферментів, тобто вони збільшують тривалість дії лікарських речовин. До них відносять морфін, фенамін, які інгібують оксидази печінки.

Аміназин посилює дію антидепресантів, що використовуються для лікування хворих з ураженою психікою.

Харчування, вік. Склад і стабільність їжі, голодування або його відсутність – усе це впливає на діяльність кишкових бактерій, що здійснюють розпад глюкуронідів, які утворилися. Це пов'язано з тим, що вони містять

фермент β -глюкуронідазу. Активно діють кишкові бактерії при розпаді складних естерів, глікозидів, сірчаноокислих естерів.

Так, завдяки бактеріям фталазол розпадається в товстому кишечнику до більш активного норсульфазолу.

Дієта істотно впливає на метаболізм ксенобіотиків, викликаючи його зниження. Це обумовлено зменшенням вмісту в їжі білків, що, у свою чергу, знижує активність ферментів (оксидаз), уповільнюється виведення ліків з організму, збільшуються тривалість їх дії, а також токсичність.

У людей похилого віку зменшується відносна маса печінки, змінюються форма клітин печінки і біохімічний склад – усе це знижує метаболізм. Із віком змінюється і характер метаболізму. Так, у молодих людей метаболізм ізоніазиду відбувається шляхом ацетилювання, а у похилому віці – шляхом окислення.

Патологічні стани (гепатит, нефрит, опромінення, замерзання) знижують активність кишкових бактерій, оксидаз у печінці, внаслідок чого зменшується метаболізм і збільшується тривалість дії лікарської речовини, підвищується токсичність речовин.

Вплив алкоголю, нікотину, пестицидів. Алкоголь, крім наркотичної і токсичної дії, може взаємодіяти з ліками в організмі. У мінімальних кількостях етанол, синтезуючись у тканинах організму, є метаболітом. Якщо алкоголь довго, у великих кількостях (дозах) вводиться в організм, то вражається печінка і знижується метаболізм речовин.

Алкоголь посилює дію барбітуратів, 1,4-бензодіазепінів, саліцилової кислоти.

Токсичний ефект нікотину виражається в тому, що у людей, які палять, знижується сила анальгетичної дії різних речовин; седативної – для аміназину, заспокійливої дії 1,4-бензодіазепіну на нервову систему, бо прискорюється виведення їх з організму і здійснюється індукція ферментів.

Хлорорганічні пестициди індукують активність ферментів, що знижують дію барбітуратів. У свою чергу, в осіб, що лікуються барбітуратами (фенобарбіталом), швидкість метаболізму пестицидів підвищується і знижується їх вміст в організмі.

1.4. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі

1. Предмет токсикологічної хімії, її завдання, зв'язок з іншими дисциплінами.
2. Основні розділи токсикологічної хімії, її значення.
3. Основні етапи розвитку токсикологічної хімії.
4. Визначення токсикологічної хімії як науки, її задачі.
5. Внесок українських вчених в розвиток токсикологічної хімії.
6. Етика і деонтологія в токсикологічній хімії.
7. Особливості хіміко-токсикологічного аналізу. Загальний та цілеспрямований хіміко-токсикологічний аналіз.
8. Галузі використання методів хіміко-токсикологічного аналізу.
9. На які групи поділяються токсичні речовини в хіміко-токсикологічному аналізі?
10. Об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу та засоби їх консервування.
11. У яких випадках проводиться консервування об'єктів судово-токсикологічного аналізу і які речовини застосовуються для цього?
12. Що таке ексгумація? Які об'єкти направляються для дослідження в судово-токсикологічні лабораторії після ексгумації?
13. Що таке попередні проби і яке їх значення для складання плану судово-токсикологічного аналізу?
14. Яке значення має рН вмісту шлунка та огляд зовнішніх ознак досліджуваних об'єктів для складання плану судово-токсикологічного аналізу?

15. Правила відбору, направлення та прийому об'єктів на судово-хімічну експертизу.
16. Значення судово-медичної експертизи при розслідуванні та профілактиці злочинів.
17. Методи хіміко-токсикологічного аналізу, їх класифікація та загальна характеристика.
18. На основі яких даних складають план судово-токсикологічного аналізу? Основні правила судово-токсикологічного аналізу.
19. Документація хіміко-токсикологічних експертиз.
20. Яка структура «акта судово-токсикологічного дослідження» і «Висновку експерта» і чим різняться ці документи?
21. Які права і обов'язки експерта-токсиколога?
22. Коротка історія розвитку токсикологічної хімії, її засновники.
23. Організація судово-медичної та судово-хімічної експертизи в Україні.
24. Структура бюро судово-медичної експертизи.
25. Визначення понять «отруєння» і «отрута». Класифікація отруєнь і отрут.
26. Токсикокінетика. Шляхи проникнення отрут в організм, транспортні механізми всмоктування у зв'язку з їх фізичними і хімічними властивостями.
27. Токсикодинаміка і токсикокінетика. Основні їх розділи та значення.
28. Гострі отруєння-актуальна проблема сучасної медицини. Характер і причини отруєнь основні та додаткові фактори, які визначають розвиток отруєнь.
29. Всмоктування, розподіл та шляхи виведення токсичних речовин в організмі людини чи тварини.
30. Шляхи проникнення органічних та неорганічних сполук в організм. Транспортні механізми.

31. Вплив природи, концентрації та шляхів всмоктування отрути на динаміку росту її концентрації в крові і розподілу в органах.
32. Класифікація отруйних речовин за методами ізолювання їх з біологічного матеріалу. Які сполуки називають чужорідними?
33. Роль клітинних мембран і рецепторів при отруєннях.
34. Зв'язування отрут з тканинами організму.
35. Фактори, які впливають на токсичність хімічних сполук.
36. Метаболізм отрут (перша і друга фази). Летальний синтез.
37. Залежність метаболізму отрут від видової, вікової, статевої чутливості, присутності інших ксенобіотиків та інших факторів.
38. Методи виділення отруйних речовин з біологічних та інших матеріалів. Способи очищення.
39. Основні токсикокінетичні константи та їх використання для інтерпретації результатів хіміко-токсикологічного аналізу.
40. Гниття біологічного матеріалу та основні реакції вторинного метаболізму.
41. Вплив процесів метаболізму на результати хіміко-токсикологічного дослідження.
42. Правила відбору, направлення, прийому об'єктів на судово-хімічну експертизу. Порядок зберігання проб.
43. Особливості аналізу окремих об'єктів в залежності від їх природи, стану, хімічних властивостей отруйних речовин.
44. Методи детоксикації організму при гострих отруєннях.
45. Особливості судово-хімічної експертизи трупа у випадку смерті після проведення реанімаційних заходів та інтенсивної терапії.
46. Загальні принципи інтерпретації результатів судово-хімічних досліджень.
47. Фактори, які впливають на токсичність хімічних сполук.
48. Основні стадії метаболізму токсичних речовин в організмі.

49. Алкоголізм, наркоманія, токсикоманія і значення токсикологічної хімії в боротьбі з цими негативними явищами.
50. Наркоманія і медикаментозна залежність.
51. Значення огляду зовнішніх ознак досліджуваних об'єктів для складання плану судово-токсикологічного аналізу.
52. Які основні етапи хіміко-токсикологічного аналізу.
53. Основні вимоги до методів хіміко-токсикологічного аналізу.
54. Які реакції і методи застосовують для виявлення токсичних речовин, виділених з біологічного матеріалу?
55. Попередні випробування біологічного матеріалу та їх значення для складання плану хіміко-токсикологічного дослідження.
56. З якою метою використовують методи екстракції в хіміко-токсикологічному аналізі.
57. Що таке вилуговування і з якою метою воно застосовується в хіміко-токсикологічному аналізі?
58. Значення взаємної розчинності води в органічних розчинниках та органічних розчинників у воді при застосуванні методу екстракції в хіміко-токсикологічному аналізі. Чому потрібне багаторазове екстрагування?
59. Які основні кількісні характеристики процесів екстракції?
60. Вплив рН середовища на екстракцію органічних кислот, основ та амфотерних сполук.
61. Вплив електролітів на екстракцію органічних кислот, основ та амфотерних сполук.
62. Загальна характеристика методів, які використовуються для виявлення та кількісного визначення отрут в хіміко-токсикологічному аналізі (хімічні, фізико-хімічні, біохімічні, фармакологічні методи, їх порівняльна оцінка: чутливість, специфічність).
63. Мікрокристалоскопічний аналіз. Позитивні сторони і недоліки цього методу.

64. Метод мікродифузії. Його суть.
65. Застосування хроматографічних методів у хіміко-токсикологічному аналізі (ТШХ, ГФХ).
66. ТШХ-скринінг витяжок з біологічного матеріалу.
67. Методи абсорбційної спектроскопії у видимій, УФ та ІЧ-областях спектру та їх використання в хіміко-токсикологічному аналізі.
68. Виконання екстракційно-фотометричних методів у хіміко-токсикологічному аналізі.
69. Кольорові та осадові реакції, їх застосування у хіміко-токсикологічному аналізі.
70. Фармакологічні проби та їх значення для хіміко-токсикологічного аналізу.
71. Застосування ензимних методів у хіміко-токсикологічному аналізі.
72. Організація спеціалізованої допомоги при гострих отруєннях. Антидоти.

Розділ 2. ГРУПА РЕЧОВИН, ЯКІ ІЗОЛЮЮТЬСЯ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ МЕТОДОМ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ

2.1. Основні положення дробного методу аналізу. Прийоми «маскування» заважаючих іонів

У хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення іонів металів у мінералізатах застосовуються систематичний хід аналізу та дробний метод.

Систематичний хід аналізу (кислотний або сірководневий) заснований на послідовному розподілі катіонів на аналітичні групи, підгрупи і виділенні окремих іонів з підгруп. Систематичний метод тривалий, небезпечний, пов'язаний з великими втратами отрут, тому його практично витіснив з практики хіміко-токсикологічного аналізу дробний метод.

Дробиний метод ґрунтується на використанні реакцій, за допомогою яких у будь-якій послідовності можна виявити іони металів в окремих невеликих порціях досліджуваного розчину. Дробний метод швидкий, чутливий, дозволяє визначити «металічні» отрути без попереднього відокремлення їх одна від одної. Засновником дробного методу аналізу є М. А. Тананаєв, велика заслуга у розробці методик дробного методу і впровадженні їх у практику хіміко-токсикологічного аналізу належить О. М. Кршювій. В основі дробного методу лежать такі прийоми:

—заміна осадження рідкофазними реакціями комплексоутворення з подальшими екстракцією і реекстракцією; використання найбільш чутливих і специфічних реакцій (наприклад, на марганець – окислення до перманганат-іонів, на хром – утворення надхромових кислот тощо);

—при недостатній специфічності реакцій спочатку проводять попередню пробу, потім підтверджуючі дослідження;

—«маскування» іонів, які заважають аналізу, при цьому усувають заважаючий вплив іонів як природних, так і введених до організму.

Способи «маскування» заважаючих іонів

1. *Комплексоутворення.* В такий спосіб заважаючі іони зв'язують у безбарвні стійкі комплекси. Для маскування використовують ціаніди, фториди, фосфати, тіосульфати, тіосечовину, трилон Б, аскорбінову кислоту, гідроксиламін.

Наприклад, реакції на Co^{2+} з роданідом заважають Fe^{3+} , тому додають розчини фторидів або фосфатів, які зв'язують Fe^{3+} у безбарвні комплекси $[\text{FeF}_6]^{3-}$ або $[\text{Fe}(\text{PO}_4)_2]^{3-}$.

2. *Оперування малими об'ємами або великими розведеннями* мінералізату для усунення впливу ендогенних іонів металів; з цією метою мінералізат відразу розводять до 180 мл і використовують невеликі порції для виявлення окремих іонів: для Mn^{2+} — 1; Cu^{2+} — 3; Bi^{3+} — 10 мл і т. д.

3. *Варіювання рН середовища.* Таким шляхом комплекси з дитизоном свинцю утворюються тільки в лужному середовищі, у кислому середовищі

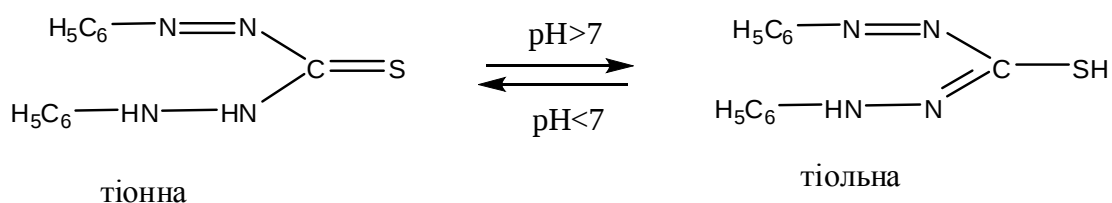
комплекси з дитизоном утворюють ртуть і срібло, при сильному підкисленні срібла дитизонат руйнується, а ртуті дитизонат – ні.

4. *Застосування реакцій окислення–відновлення.* Так, перманганат-іон переводять в іон марганцю (II) при виявленні хрому за реакцією з дифенілкарбазидом.

5. *Використання ряду активності диетилдитіокарбамінатів (ДДТК)* – свинець із ДДТК витісняється міддю, мідь – ртуттю.

2.2. Реактиви, які найчастіше використовуються в дробному методі аналізу

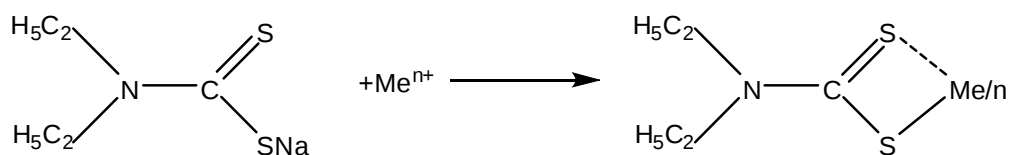
Дитизон. Дана сполука може існувати у двох таутомірних формах:



У кислому середовищі утворюються однозаміщені дитизонати, у сильно лужному – відбувається заміщення і другого атому водню.

Дитизонати забарвлені (забарвлення часто залежить від pH середовища), що й використовується в якісному і кількісному аналізі “металічних” отрут. Комплекси з дитизоном розчиняються в органічних розчинниках і руйнуються під дією кислот, на цій здатності ґрунтується виділення окремих катіонів із мінералізату.

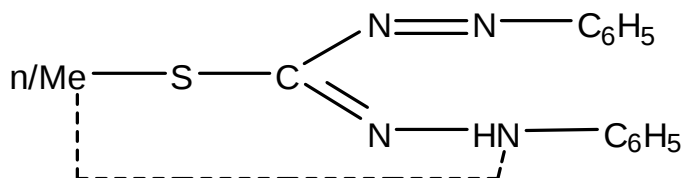
Диетилдитіокарбамінати. Найчастіше як реагент використовують натрію диетилдитіокарбамінат, при взаємодії з яким катіони важких металів утворюють внутрішньокмлексні сполуки:



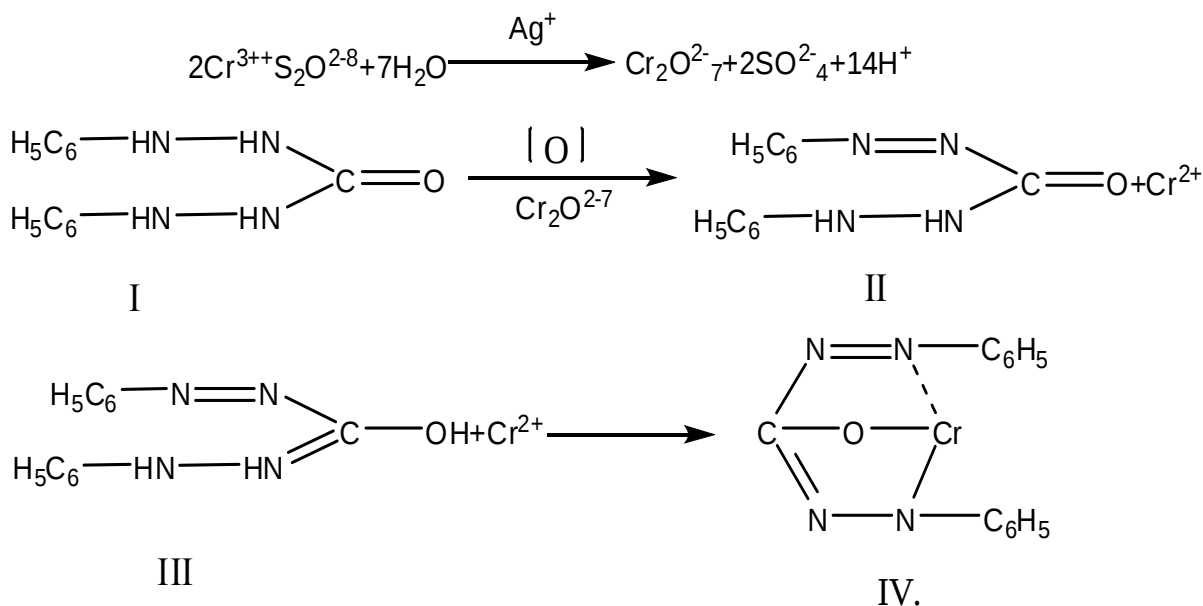
Диетилдитіокарбамінати добре розчиняються в органічних розчинниках, багато з них безбарвні (цинку, кадмію диетилдитіокарбамінати), деякі забарвлені (міді, вісмуту диетилдитіокарбамінати); руйнуються від дода-

вання мінеральних кислот. Указані реакції використовують як попередні проби, для виділення катіонів з мінералізату в кількісному аналізі «металічних» отрут.

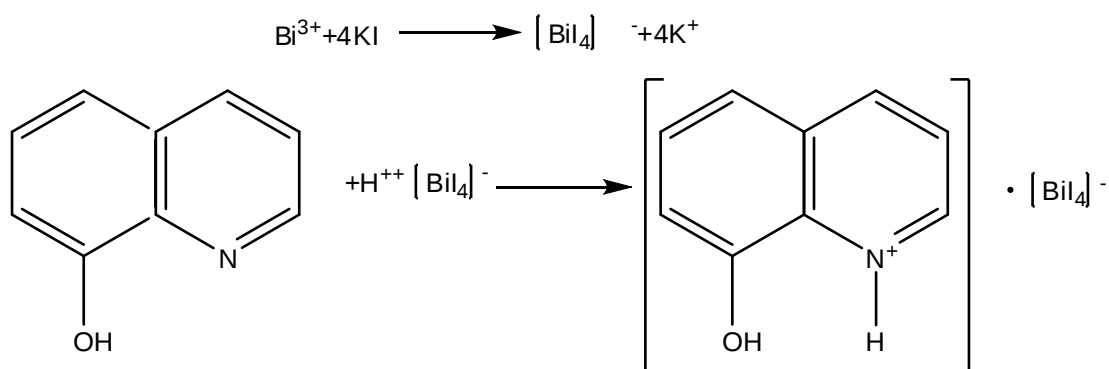
Дифенілкарбазид. Даний реактив придатний для виявлення Cr^{3+} у мінералізаті.



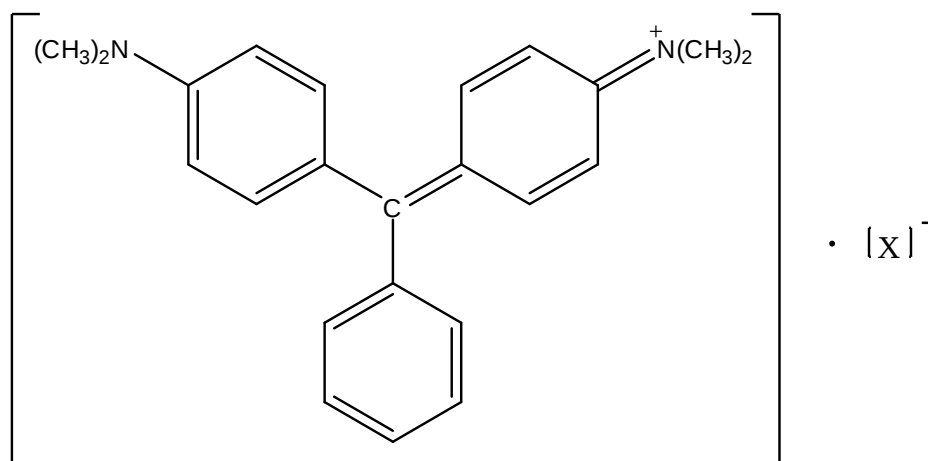
Попередньо Cr^{3+} окислюють амонію персульфатом у присутності каталізатора (іонів срібла) до дихромат-іонів, які, у свою чергу, окислюють дифенілкарбазид (I) до дифенілкарбазону (II). У цій реакції $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ відновлюється до Cr^{2+} , який з енольною формою дифенілкарбазону (III) дає внутрішньокмплексну сіль (IV), яка має червоно-фіолетове забарвлення. Хімізм реакцій, що відбуваються, такий:



8-Оксихінолін. Даний реактив беруть для виявлення вісмуту Bi^{3+} . Попередньо іони вісмуту переводять у ацидокомплекс $[\text{BiI}_4]^-$, який при взаємодії з оксином у кислому середовищі утворює іонний асоціат, при цьому спостерігають утворення помаранчево-червоного осаду:



Малахітовий або брильянтовий зелений. Дані реагенти використовують для виявлення сурми і талію. Попередньо сурму (знаходиться в мінералізаті у вигляді HSb_2) і талій (у вигляді Tl^{3+}) переводять в ацидокомплекси $[\text{SbCl}_6]^-$ і $[\text{TlCl}_4]^-$. Останні з барвником утворюють забарвлені в синій або блакитний колір іонні асоціати, які екстрагують толуолом або ксилолом:



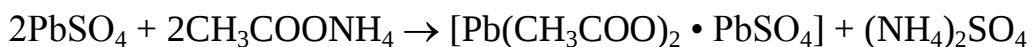
де $[\text{X}]^-$: $[\text{SdCl}_6]^-$ або $[\text{TlCl}_4]^-$

2.3. Схема аналізу мінералізату на «металічні» отрути за О. М. Криловою. Виявлення ртуті у деструктаті

1. *Відокремлення осадів PbSO_4 і BaSO_4* від основного об'єму мінералізату – фільтрат І.

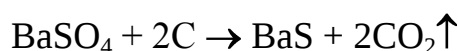
2. *Промивання осаду водою, підкисленою сульфатною кислотою,* – для видалення співосаджених іонів Fe^{3+} ; Cu^{2+} ; Zn^{2+} ; Cd^{2+} та ін. Якщо осад має брудно-зелений колір, його промивають амонію персульфатом (для відмивання від Cr^{3+}). Для розділення барію і свинцю сульфатів осад оброб-

ляють гарячим розчином амонію ацетату, PbSO_4 розчиняється – фільтрат II:

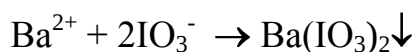
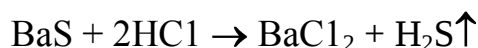


Дослідження осаду барію сульфату. Перекристалізація барію сульфату з концентрованої сульфатної кислоти. Реакція чутлива, при негативному результаті дослідження на барій можна закінчити.

Реакція одержання осаду барію йодату:



забарвлення полум'я пальника в зелений колір,



характерні безбарвні кристали.

Реакція високочутлива, виявленню барію не заважають інші елементи.

Дослідження фільтрату II на Pb^{2+} . Реакція з хлороформним розчином дитизону в лужному середовищі ($\text{pH} = 7,5-8,0$); спостерігають червоне забарвлення хлороформного шару.

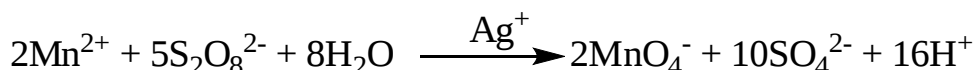
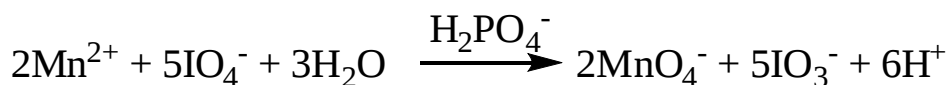
Реакція попередня: при негативному результаті дослідження закінчують, при позитивному – проводять підтверджуючі реакції.

Після реекстракції Pb^{2+} у водну фазу проводять реакції утворення осадів PbS ; PbSO_4 ; PbCrO_4 ; PbI_2 , спостерігаючи при цьому відповідно чорний, білий, помаранчево-жовтий і жовтий осад; дані реакції підтверджуючі.

3. Дослідження фільтрату I.

Виявлення марганцю Mn^{2+} . Використовують дві специфічні реакції окислення Mn^{2+} за допомогою калію перйодату та амонію персульфату до перманганат-іонів, що мають фіолетове забарвлення. У реакції з калій перйодатом для маскування іонів, що заважають реакції (іони Fe^{3+}), використовують натрію дигідрофосфат:

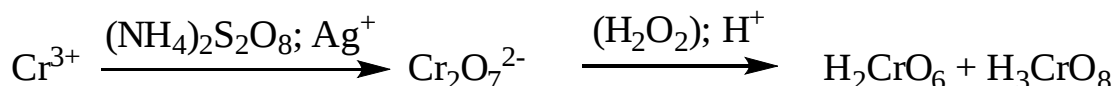
Реакція високочутлива (виявляє ендогенний марганець), має самостійне значення при негативному результаті, при позитивному – виконують підтверджуючу реакцію:



Реакція проходить при наявності каталізатора – срібла нітрату, для маскуванню Fe^{3+} використовують дигідрофосфати.

Виявлення Cr^{3+} . Реакція з дифенілкарбазидом (хімізм наведено вище) високочутлива, але не специфічна. Для маскуванню іонів, що заважають (залізо, сурма), додають фосфати; перманганат-іони відновлюють за допомогою натрію азиду.

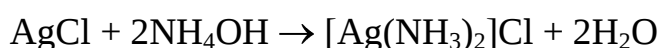
Реакція окислення Cr^{3+} до надхромових кислот, які мають синє забарвлення і більш стійкі в органічних розчинниках, ніж у воді:



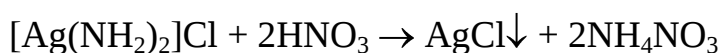
Дана реакція специфічна для хрому.

Виявлення Ag^+ . Утворення срібла дитизонату в сульфатнокислому середовищі, спостерігають золотисто-жовте забарвлення хлороформного шару. Для того, щоб відрізнити від ртуті дитизонату, забарвленого в помаранчево-жовтий колір, срібла дитизонат руйнують 0,5 н розчином хлоридної кислоти; ртуті дитизонат у цих умовах не змінюється.

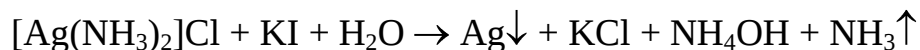
При позитивному результаті цієї реакції срібло осаджують з усього об'єму мінералізату у вигляді $\text{AgCl}\downarrow$. Осад відфільтровують і проводять підтверджуючі дослідження. Для цього його обробляють розчином аміаку:



Потім проводять реакцію з азотною кислотою, спостерігають утворення білого осаду:



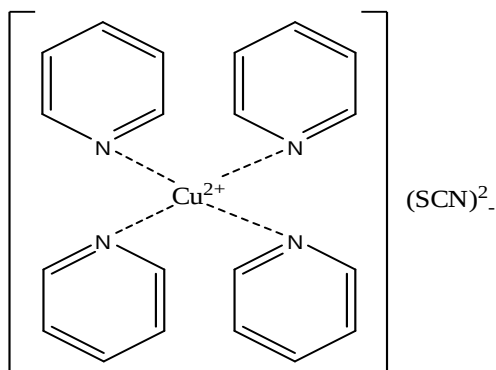
При взаємодії з калію йодидом випадає жовтий осад:



Під час реакції з тіосечовиною і калію пікратом утворюються жовті призматичні кристали.

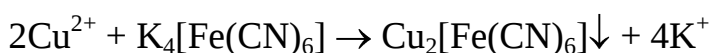
Виявлення Cu^{2+} . Реакція з $(\text{ДДТК})_2\text{Pb}$ – специфічний реактив на Cu^{2+} (відповідно до правила рядів Тананаєва свинець витісняють із комплексу, окрім міді, тільки срібло і ртуть). Спостерігають жовто-коричнєве забарвлення хлороформного шару. При позитивному результаті реакції реекстрагують мідь у водний шар за допомогою HgCl_2 і проводять підтверджуючі дослідження.

Реакція з піридин-родановим реактивом:



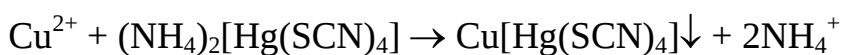
утворюється смарагдово-зелений осад, що розчиняється в хлороформі.

Реакція з калію гексаціанофератом (II):



бурий

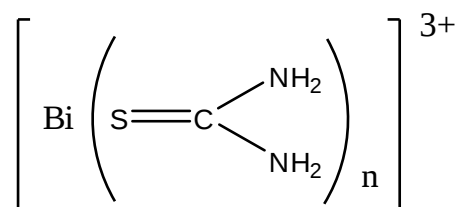
Реакція з амонію тетрароданомеркуроатом:



жовто-зелений

кристалічний

Виявлення Bi^{3+} . Виконують дві попередні реакції з 8-оксихіноліном (хімізм наведено вище) і тіосечовиною. При взаємодії іонів вісмуту з тіосечовиною утворюються комплекси різного складу, що мають лимонно-жовте забарвлення:

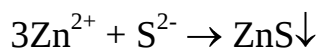


де $n = 2; 3; 9$.

При позитивному результаті цих реакцій Bi^{3+} виділяють з мінералізату у вигляді $(\text{ДДТК})_3\text{Bi}$, реекстрагують за допомогою азотної кислоти і з реекстрактом проводять підтверджуючі дослідження: реакцію з тіосечовиною; відновлення іонів вісмуту Bi^{3+} до металічного вісмуту за допомогою цинкового пилу; одержання кристалічних осадів з бруцином і калію бромідом, з цезію хлоридом і калію йодидом.

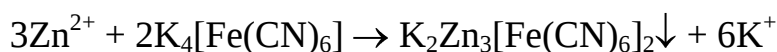
Виявлення Zn^{2+} . Реакція з дитизоном, попередня ($\text{pH} = 4,5-5,0$); при позитивному результаті даної реакції цинк виділяють з мінералізату у вигляді диетилдитіокарбамінату і після реекстракції проводять підтверджуючі дослідження.

Реакція утворення цинку сульфідів:



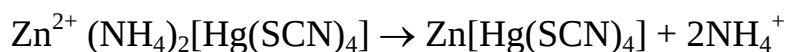
білий

Реакція з калію гексаціанофератом (II):



білий

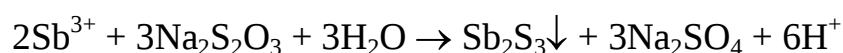
Реакція з амонію тетрароданомеркуратом:



безбарвні клиноподібні кристали

Виявлення Sb^{3+} і Ti^{3+} . Попередня реакція з малахітовим або брильянтовим зеленим (хімізм наведено вище). При позитивному результаті проводять підтверджуючі дослідження:

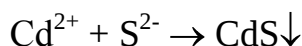
для сурми – одержання осаду сурми сульфідів Sb_2S_3 :



помаранчевий

для талію (після переведення Tl^{3+} у Tl^{+}) проводять реакцію з дитизоном.

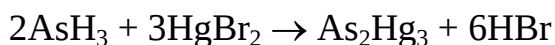
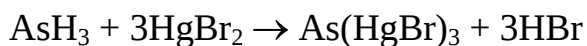
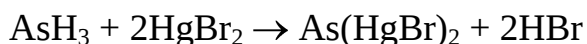
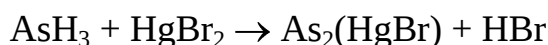
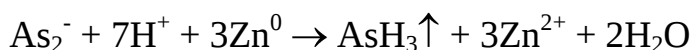
Виявлення Cd^{2+} . Виділяють кадмій з мінералізату у вигляді $(ДДТК)_2Cd$, що переходить у хлороформний шар, потім розкладають його хлоридною кислотою. У солянокислому реекстракті кадмій виявляють за реакцією з натрію сульфідом:



жовтий

Проводять реакції одержання кристалічних осадів з бруцином і калію бромідом, з піридином і калію бромідом.

Виявлення миш'яку. Дослідження на миш'як починають з реакції Гутцайта або Зангер–Блека, яка ґрунтується на переведенні миш'яку у миш'яковистий водень і виявленні останнього реакцією з реактивним папером, обробленим ртуті бромідом:



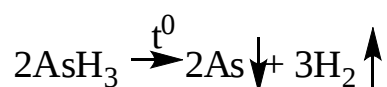
У присутності миш'яку реактивний папір набуває жовтого або бурокоричневого забарвлення. Реакція високочутлива (0,1 мкг в аналізованій пробі мінералізату), але не специфічна (заважають PH_3 , SbH_3), тому необхідні підтверджуючі дослідження.

Одним із найбільш характерних хіміко-токсикологічних досліджень на миш'як є аналіз мінералізату за допомогою апарата Марша. Дослідження в ньому починають з постановки «сліпого» досліду з реактивами. У такий спосіб підтверджують відсутність миш'яку в сульфатній кислоті, цинку, склі. «Сліпий» дослід проводять у таких же умовах, що й дослід з мінералізатором. Якщо миш'як відсутній у реактивах і в приладі, їх можна використовувати для аналізу мінералізату.

Миш'яковистий водень визначають за такими ознаками:

- часниковий запах;
- синє забарвлення полум'я при підпалюванні AsH_3 ;
- помутніння розчину AgNO_3 при пропусканні в нього AsH_3 ;
- наліт на фарфоровій пластинці при внесенні її в полум'я, в якому горить AsH_3 .

Основне випробування – це термічне руйнування AsH_3 у вузькій частині трубки Марша:



Наліт, який утворюється на місці нагрівання, випробовують додатково. Трубку відокремлюють від приладу, нагрівають наліт при доступі кисню повітря:



Миш'яковистий ангідрид, що утворився, має характерні кристали у вигляді октаедрів. Переваги методу:

- багатократність перевірки мінералізату на миш'як;
- наочність.

Недолік:

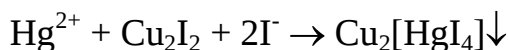
- довготривалість, небезпека вибуху при потраплянні кисню повітря в апарат Марша.

Специфічність методу в тому, що виявленню миш'яку можуть заважати сурма, сірка, вуглець. Проте сурм'янистий ангідрид – аморфний осад, а вуглецю і сірки оксиди – леткі.

Є й інші методи розпізнавання миш'яку і сурми, засновані на використанні мікрокристалоскопічних реакцій.

4. Виявлення ртуті в деструктаті. Реакція з дитизоном після попереднього екстракційного очищення деструктату неспецифічна.

Реакція із суспензією одновалентної йодистої міді:



Утворюється міді (І) тетраїодмеруроат, що має вигляд рожевого або помаранчево-червоного осаду; дана реакція чутлива і специфічна.

2.4. Кількісне визначення «металічних» отрут

При виявленні «металічних» отрут у мінералізаті для більшості з них потрібне проведення кількісного визначення, що зумовлено природним вмістом багатьох елементів (марганець, мідь, цинк, хром) в організмі або накопиченням їх у процесі життєдіяльності (миш'як, ртуть, свинець).

Вдаються до таких методів кількісного визначення:

- гравіметричний (для барію – у вигляді осаду BaSO_4);
- титриметричні: комплексонометричний (барій, свинець, цинк, мідь, вісмут, кадмій), йодометричний (свинець), аргентометричний (миш'як), роданометричний (срібло);
- фотоколориметричний (марганець – за реакцією з калію перйодатом; ртуть, свинець, срібло, талій, цинк – за реакцією з дитизоном; талій, сурма – за реакцією з малахітовим або брильянтовим зеленим; хром – за реакцією з дифенілкарбазидом; мідь – за реакцією із свинцю диетилдитіокарбаміна- том; вісмут – за реакцією з тіосечовиною);
- візуальний колориметричний (ртуть – за реакцією із суспензією йо- дистой міді; миш'як – проба Зангер–Блека);
- атомно-абсорбційний метод можна використовувати і для якісного, і для кількісного аналізу всіх металів.

2.5. Атомно-абсорбційна спектрометрія при дослідженні «металіч- них» отрут

Атомно-абсорбційна спектрометрія – метод кількісного елемен- тного аналізу за атомними спектрами поглинання (абсорбції). Через шар атомних парів проби, одержуваних за допомогою атомізатора, пропуска- ють випромінювання в діапазоні 190–850 нм. Внаслідок поглинання кван- тів світла атоми переходять у збуджені енергетичні стани. Цим переходам

в атомних спектрах відповідають так звані резонансні лінії, характерні для даного елемента.

За законом Бугера–Ламберта–Бера, мірою концентрації елемента служить оптична густина $D = \lg (J_0/J)$, де J_0 і J – інтенсивність випромінювання від джерела відповідно до і після проходження крізь поглинаючий шар.

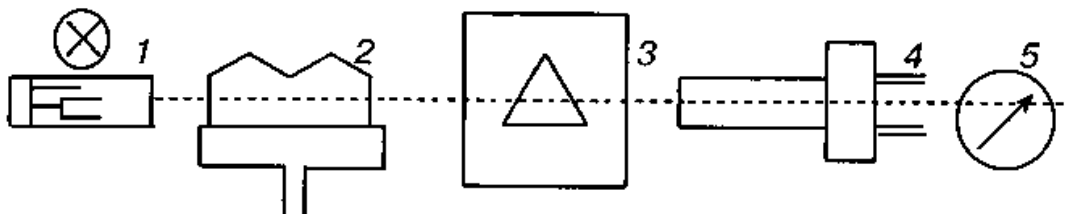


Рис. 3. Принципова схема атомно-абсорбційного спектрометра:

1 – джерело випромінювання; 2 – полум'я; 3 – монохроматор; 4 – фотопідсилювач; 5 – реєструючий пристрій.

Переведення аналізованого об'єкта здійснюється в аналізаторі – в полум'ї або трубчастій печі. Часто використовують полум'я сумішей ацетилену з повітрям ($t \approx 2000^\circ\text{C}$) та ацетилену з азоту закисом ($t \approx 2700^\circ\text{C}$). Джерелом випромінювання слугує лампа з порожнистим катодом, заповнена неоном.

Атомно-абсорбційну спектроскопію застосовують для визначення майже 70 елементів, переважно металів.

Межі виявлення більшості елементів у розчинах: 1–100 мкг/л (при атомізації у полум'ї), 0,1 – 100 мкг/л (при атомізації в графітовій печі). Точність вимірювань – від 0,2 до 1,0 %. У автоматичному режимі променевий спектрометр дозволяє аналізувати близько 500 проб на годину, а спектрометр з графітовою піччю – до 30 проб.

2.6. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі

73. Загальна характеристика групи речовин. Вклад вітчизняних та зарубіжних вчених в розробку методів виділення та аналізу «металічних»

отрут. Теоретичне обґрунтування необхідності мінералізації органічних речовин при дослідженні на «металічні» отрути.

74. Методи мінералізації органічних речовин. Відбирання і підготовка проб біологічного матеріалу для мінералізації. Сухе обзолення і сплавлення органічних речовин.

75. Окислювачі, які застосовуються для мінералізації біологічного матеріалу. Вклад вітчизняних та зарубіжних вчених у застосування цих окислювачів.

76. Руйнування біологічного матеріалу різними кислотами та пергідролем. Переваги і недоліки цих методів.

77. Характеристика сучасних загальних та окремих методів мінералізації. Вибір методів в залежності від характеру об'єктів та аналізуємої «металічної» отрути. Деякі питання теорії мінералізації.

78. Дробний метод і систематичний хід аналізу «металічних» отрут. Теоретичне обґрунтування. Правила рядів М.А. Тананаєва. Значення робіт А.Н. Крилової для введення дробного методу в токсикологічну хімію.

79. Маскування і демаскування іонів у дробному аналізі. Реактиви, які використовуються у дробному аналізі.

80. Реакції, що застосовуються для виявлення і розділення катіонів. Дослідження мінералізаторів.

81. Сполуки плюмбуму. Застосування і токсичність сполук плюмбуму. Дослідження осаду на наявність іонів плюмбуму. Виявлення іонів плюмбуму.

82. Ізолювання іонів плюмбуму з біологічного матеріалу. Методи кількісного визначення іонів плюмбуму.

83. Сполуки барію, які мають токсикологічне значення. Методи виявлення та кількісного визначення барію в біологічному матеріалі.

84. Сполуки мангану. Дробний метод виявлення та кількісного визначення. Токсикологічне значення.

85. Сполуки хрому. Ізолювання з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.
86. Сполуки аргентуму. Ізолювання з біологічного матеріалу, дробний метод аналізу, виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.
87. Сполуки купруму, які мають токсикологічне значення. Ізолювання з біологічного матеріалу та дробний метод виявлення. Кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.
88. Цинк. Особливості ізолювання з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.
89. Сполуки бісмуту. Ізолювання та дробний метод виявлення, кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу. Токсикологічне значення.
90. Талій. Ізолювання з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.
91. Сполуки арсену. Ізолювання з біологічного матеріалу. Дробний метод виявлення та кількісного визначення. Токсикологічне значення. Антидоти.
92. Особливості виявлення арсену за методом Марша.
93. Сполуки стибію. Ізолювання з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення. Реакції відмінності стибію та арсену.
94. Неорганічні сполуки меркурію. Ізолювання з біологічного матеріалу, якісний та кількісний аналіз. Хіміко-токсикологічне значення.
95. Органічні сполуки меркурію та їх хіміко-токсикологічний аналіз. Токсикологічне значення.
96. Станум. Токсикологічне значення. Ізолювання з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення.
97. Молібден. Токсикологічне значення. Ізолювання з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення.

98. Осад сульфатів після мінералізації має брудно-зелений колір. Складіть схему його дослідження, напишіть хімізми реакцій та вкажіть їх хіміко-токсикологічну оцінку.

99. При дослідженні білого осаду сульфатів результатом реакції з дитизоном є рожеве забарвлення хлороформного шару, а результатом реакції з натрій сульфідом - білий осад. Який можна зробити висновок? Напишіть схему аналізу осаду сульфатів, хімізми реакцій та вкажіть їх хіміко-токсикологічну оцінку.

100. При дослідженні мінералізату результатом реакції з дитизоном є жовтий колір хлороформного шару. Який можна зробити висновок? Напишіть схему аналізу мінералізату на цю "металеву" отруту, хімізми реакцій та вкажіть їх хіміко-токсикологічну оцінку.

101. Вміст шлунку трупу забарвлений у синій колір. На яку "металеву" отруту може бути проведено дослідження? Напишіть схему аналізу, хімізми реакцій та вкажіть їх хіміко-токсикологічну оцінку.

102. При виконанні аналізу на вісмут використовують розчин натрій діетилдитіокарбамату. Обумовте принцип його використання. При аналізі яких "металевих" отрут застосовуються діетилдитіокарбамати? Напишіть хімізми реакцій та дайте їх хіміко-токсикологічну оцінку.

103. Яка реакція в ході аналізу на бісмут має значення попередньої та підтверджуючої. Наведіть схему аналізу на цю "металеву" отруту, напишіть хімізм реакцій та дайте їх хіміко-токсикологічну оцінку.

104. При виконанні підтверджуючої реакції на іон купруму використовують розчин калій гексаціаноферату (II). При аналізі ще якої "металевої" отрути застосовують цей реактив? Напишіть схему аналізу цих "металевих" отрут, хімізми реакцій та вкажіть їх хіміко-токсикологічну оцінку.

105. При виконанні реакції Зангер-Блека на папері з'являється жовта або коричнева пляма. Чи можливо на основі цієї реакції довести наявність арсену в мінералізаті? Наведіть повну схему аналізу на цю "металеву" отруту.

ву" отруту, напишіть хімізми реакцій та вкажіть їх хіміко-токсикологічну оцінку.

106. При проведенні реакції Зангер-Блека на папері з'являється чорна пляма. Які помилки в роботі обумовлюють цей колір плями? Наведіть повну схему аналізу на досліджувану "металева" отруту, напишіть хімізм реакцій та дайте їх хіміко-токсикологічну оцінку.

107. При проведенні реакцій в апараті Марша одержують наліт буровато-сірого забарвлення. Яка це "металева" отрута та як її відрізнити від інших речовин, котрі теж можуть утворювати нальоти у відновній трубці? Напишіть хімізм реакцій.

108. При аналізі яких "металевих" отрут використовують екстракцію іонних асоціатів в шар толуолу, який набуває синього забарвлення. Напишіть схеми аналізу цих "металевих" отрут, хімізми реакцій та вкажіть їх хіміко-токсикологічну оцінку.

109. При виконанні реакції на іон хрому з розчином дифенілкарбазиду використовують амоній персульфат, розчини аргентум нітрату, натрій дигідрофосфату. Поясніть причини їх використання в аналізі, напишіть хімізми реакцій та дайте їх хіміко-токсикологічну оцінку.

110. При аналізі на які "металеві" отрути використовують реакції з утворенням ацидокомплексів та іонних асоціатів? Напишіть хімічні реакції та дайте хіміко-токсикологічну оцінку.

111. При обробці білого осаду сульфатів гарячим розчином амоній ацетату іони плюмбуму у фільтраті не знайдено, а на фільтрі залишається осад, у якому не виявлено барій сульфату. Який можна зробити висновок? Напишіть схему аналізу осаду сульфатів барію та плюмбуму, хімізми реакцій та дайте їх хіміко-токсикологічну оцінку.

112. При аналізі яких "металевих" отрут як каталізатор використовують іони аргентуму? Наведіть схему аналізу цих "металевих" отрут, напишіть хімічні реакції та дайте їх хіміко-токсикологічну оцінку.

113. При обробці зерна гранозаном було порушено техніку безпеки та відбулося гостре отруєння робітника, яке призвело до його загибелі. Виконайте судово-хімічний аналіз органів трупу.

114. Чи можливо при проведенні мінералізації сульфатною та нітратною кислотами органів трупа знайти меркурій в мінералізаті? Поясніть відповідь та наведіть схему виділення меркурію з органів трупа та підготовку деструктату до аналізу меркурію.

Розділ 3. ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ІЗОЛЮЮТЬСЯ ДИСТИЛЯЦІЄЮ З ВОДЯНОЮ ПАРОЮ

3.1. Загальна характеристика «летких» отрут

«Леткі» отрути – це токсичні речовини, що ізолюються з біологічного матеріалу дистиляцією (перегонкою) з водяною парою та іншими методами і характеризуються леткістю: синильна та оцтова кислоти; галоїдопохідні аліфатичного ряду (хлороформ, чотирихлористий вуглець, дихлоретан, хлоралгідрат); альдегіди і кетони (формальдегід, ацетон); спирти (метиловий, етиловий, ізоаміловий, етиленгліколь); складні естери (оцтово-етиловий, оцтово-аміловий); ароматичні вуглеводи та їх похідні (бензол, толуол, ксилол, анілін); феноли і фенолокислоти (фенол, саліцилова кислота); тетраетилсвинець (ТЕС); сірковуглець; фосфор і речовини, отримані після його окислення (фосфорні кислоти) чи відновлення (фосфористий водень).

Летальні дози для деяких «летких» отрут:

HCN	0,05-0,1 г;
KCN	0,15-0,25 г;
CH ₃ OH	25–100 г (7–8 г – сліпоту);
CHCl ₃	50-70 г;
CH ₃ COOH	15 г.

Зазначені речовини – високотоксичні. Вони доступні, тому що широко використовуються в промисловості, сільському господарстві, медицині.

Наприклад, у медицині застосовуються хлороформ, етанол, фенол, естер; у сільському господарстві – циклони В і С (для боротьби зі шкідниками); на заводах і фабриках- бензол, ацетон та інші органічні розчинники.

Загальні властивості «летких» отрут – здатність переганятися з водяною парою незалежно від змішуваності з водою. Цей метод дозволяє створити м'якші умови для виділення зазначених речовин із біологічного матеріалу, адже деякі речовини можуть осмолятися, розпадатися при високих температурах.

В основі цього методу лежить залежність тиску насичених парів суміші від температури. Рідина починає кипіти і переганятиметься, якщо тиск парів над рідиною буде дорівнювати атмосферному тиску або перевищувати його.

$$\sum_n p_1 + p_{2...} = p_n > p_{атм}$$

де $\sum_n p_1 + p_{2...}$ – сума парціальних тисків парів води і рідини;

p_n – тиск парів над сумішшю.

Отже, суміш буде переганятися при температурі нижчій за $t_{кип}$ самих речовин:

$$t_{кип.} (C_6H_6) = 80,2 \text{ } ^\circ C;$$

$$t_{кип.} (H_2O) = 100 \text{ } ^\circ C.$$

Суміш рівних об'ємів бензолу і води кипить при $69,2 \text{ } ^\circ C$.

3.2. Методи ізолювання «легких отрут» із біологічного матеріалу

Для ізолювання «летких» отрут в хіміко-токсикологічному аналізі існують такі методи:

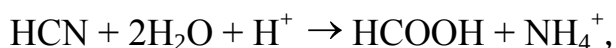
- перегонка (дистиляція) з водяною парою при атмосферному тиску;
- перегонка з водяною парою при зменшеному тиску;
- перегонка з водяною парою при підвищеному тиску;
- методи мікродифузії;
- сухоповітряна відгонка;

- парофазний метод.

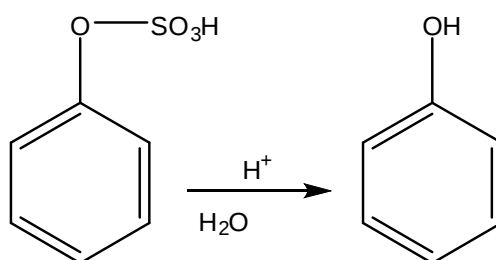
У судово-хімічних лабораторіях ізолювання «летких» отрут із біологічного матеріалу найчастіше здійснюють методом перегонки (дистиляції) з водяною парою при атмосферному тиску за методикою: 100 г біологічного матеріалу подрібнюють, змішують з дистильованою водою ($V_{\text{колби}} = 1/3 V_{\text{суміші}}$) і поміщають у колбу, яку ставлять на холодну водяну баню. Потім нагрівають пароутворювач до появи пари води, досліджувану суміш підкислюють насиченим водним розчином щавлевої або винної кислоти до $\text{pH} = 2-2,5$, негайно з'єднують усі частини (пароутворювач, колбу, холодильник та приймач) і тільки потім нагрівають водяну баню.

Вибір pH зумовлений тим, що $\text{pH} = 2-2,5$ забезпечує найбільше руйнування зв'язку білків і речовин.

Вибір кислот зумовлений тим, що мінеральні кислоти можуть розкласти «леткі» отрути, приміром синильну кислоту:



або викликати утворення отруйних речовин при дослідженні біологічного матеріалу, наприклад у результаті гниття білків в організмі утворюється сірчаноокислий естер фенолу:



Слабкі органічні кислоти ефір не руйнують, переганяється лише фенол, що надійшов до організму із зовні.

Прикладом використання мінеральних кислот для підкислення біологічного матеріалу при ізолюванні «летких» отрут є дистиляція оцтової кислоти, для чого в біологічний матеріал вводять H_2SO_4 або H_3PO_4 , тому що ці кислоти зміщують рівновагу в розчині в бік утворення молекулярної форми оцтової кислоти, що повністю переганяється з водяною парою.

Збір дистилятів проводять у приймач. Перший дистилят, що містить найбільш «леткі» отрути, наприклад HCN, збирають у розчин лугу 2 %-вим розчином NaOH – 2 мл. Загальний об'єм $V_1 = 5$ мл. Потім збирають ще два дистиляти:

$$V_2 = V_3 = 25 \text{ мл.}$$

Якщо отримано позитивний результат при дослідженні на «летку» отруту, дистиляцію проводять до тих пір, доки дистилят не перестане давати якісну реакцію. Зібрані дистиляти досліджують потім якісно і кількісно.

Ряд речовин основного характеру переганяють з підлушеного біологічного матеріалу: анілін, піридин, нікотин, анабазин та ін. У цих випадках після перегонки речовин із підкисленого біологічного матеріалу його підлужують 5 %-вим розчином NaOH до pH = 8-9 і знову переганяють, збираючи два–чотири дистиляти по 10-15 мл у 0,1м розчин HCl.

Всі «леткі» отрути діляться за здатністю змішуватися з водою на:

1. *Речовини, що не змішуються або погано змішуються з водою* (бензол, хлороформ), дають після перегонки два чітких шари: вода і речовина, які легко можна розділити.

2. *Речовини, що дають з водою суміші, у яких склад пари і рідини однаковий* (фенол, етанол), – *азеотропні суміші*. У дистиляті не розділяються. Для розділення азеотропних сумішей використовують перегонку при зниженні або підвищенні тиску (азеотропна суміш етанолу з водою – 96 % C_2H_5OH + 4 % H_2O – переганяється за атмосферного тиску при 78 °С. Із зниженням тиску до 100 мм рт. ст. ($\approx 13,3$ кПа) під час дистиляції суміш має склад 99,62 % C_2H_5OH + 0,4 % H_2O і переганяється при 34 °С).

Якщо після перегонки з водяною парою склад отрут у дистилятах малий або у дистиляти потрапляють речовини, які утворилися внаслідок гниття біологічного матеріалу, то для очищення їх піддають фракційній перегонці.

Метод перегонки при зменшеному тиску проводиться за допомогою ротаційних випаровувачів і застосовується частіше для дослідження термічно нестійких речовин.

Методом перегонки при підвищеному тиску ізолюють термічно стійкі речовини, які мають високу температуру кипіння.

Метод мікродифузії застосовується для аналізу проб крові, сечі, невеличких наважок гомогенізованих органів.

Ізолювання проводять у закритих камерах або бюксах, на дно яких поміщають аналізовану пробу і ставлять тигель з поглинальним розчином. Відбувається випаровування отрути – в присутності висолювача або без нього, при кімнатній температурі або при нагріванні (37-50 °C) – у поглинальний розчин, з яким у подальшому проводять якісні реакції.

Метод сухоповітряної відгонки відрізняється від мікродифузії тільки тим, що через досліджувану пробу пропускають сухе повітря. Використовується для низькокиплячих речовин.

Парофазний метод придатний для лабораторного експрес-аналізу біологічних рідин живих організмів і заснований на одержанні летких похідних, які легко переходять у парову фазу, з подальшим аналізом цих речовин методом газо-рідинної хроматографії.

3.3. Загальна схема аналізу дистилятів хімічним методом

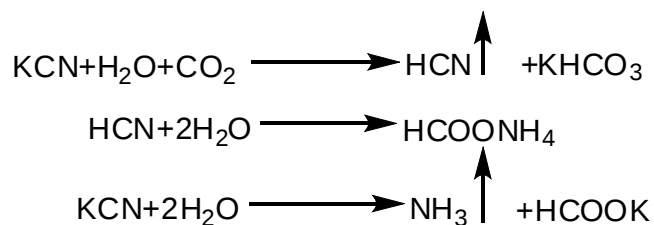
3.3.1. Аналіз першого дистиляту

Аналіз починають з першого дистиляту на наявність синільної кислоти.

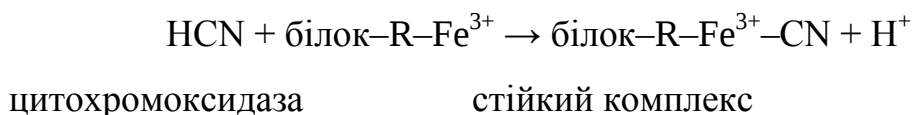
Синільна кислота

Фізичні властивості – це рідина без кольору, має запах гірко-мигдалю, летка, температура кипіння – 25,6 °C.

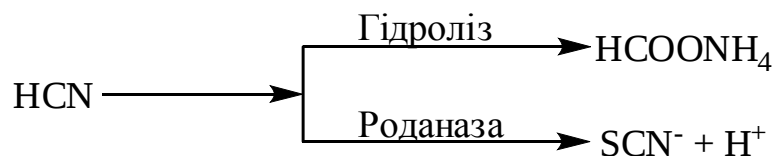
Дуже слабка кислота $K_d = 4,8 \cdot 10^{-10}$, солі її у воді нестійкі:



Токсична дія. Синільна кислота уражає дихання, тобто блокує дихальний фермент – цитохромоксидазу, при цьому кисень від гемоглобіну не надходить у тканини.



Метаболізм синильної кислоти протікає у двох основних напрямках – гідроліз з утворенням амонію форміату і перетворення ціанід-іона в роданід – іон під дією ферменту роданази:

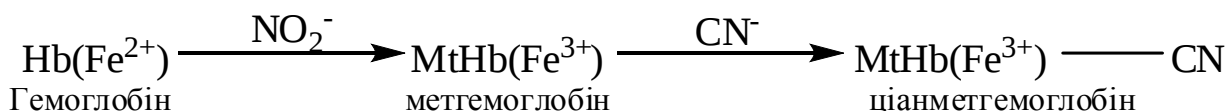


Антидоти при отруєнні синильною кислотою:

1. Речовини, що містять натрію або калію тіосульфати.

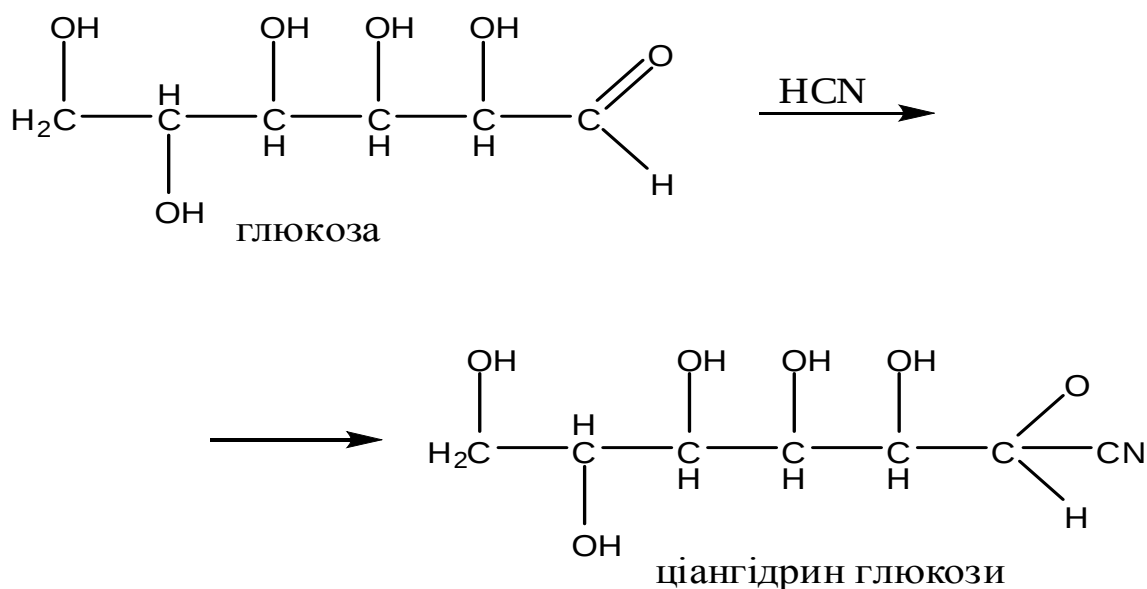


2. Речовини, що утворюють метгемоглобін – солі й естери азоти-стої кислоти: NaNO_2 , KNO_2 , аміловий естер $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{-O-NO}$, метиленовий синій.

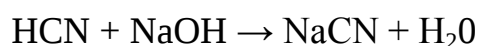


Але CN^- -іон може відокремлюватися, тому необхідно вводити хворому одночасно сірковмісні речовини і вуглеводи.

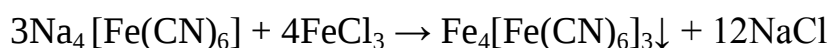
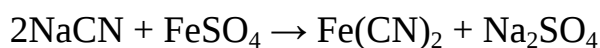
3. Вуглеводи (глюкоза) зв'язують синільну кислоту та її солі з утворенням ціангідрину глюкози.



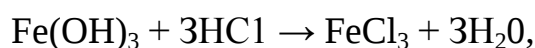
Особливості ізолювання синільної кислоти з біоматеріалу. Враховуючи, що синильна кислота легколетка і мало дисоціює у воді, її зв'язують у сіль:



Аналіз дистилату на синильну кислоту починають із попередньої, високочутливої і специфічної *реакції утворення берлінської блакиті*:



Особливість проведення реакції – в лужному середовищі можливі побічні реакції утворення $\text{Fe}(\text{OH})_2\downarrow$, $\text{Fe}(\text{OH})_3\downarrow$; для їх розчинення вводять HCl :



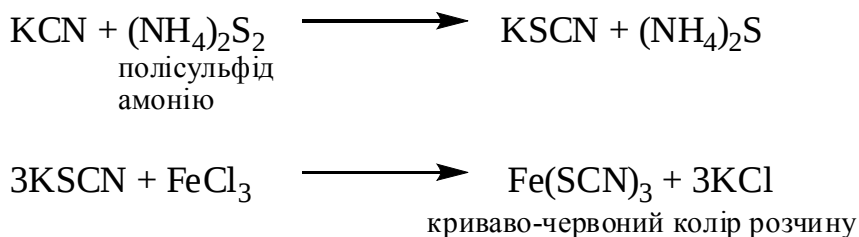
проте надлишок HCl уповільнює випадання осаду.

Висновок про наявність отрути дають через 24 – 48 год, оскільки сліди HCN і домішок білкових речовин уповільнюють утворення осаду. Для прискорення його випадання вводять розчин BaCl_2 і на осаді BaSO_4 співсаджується осад берлінської блакиті.

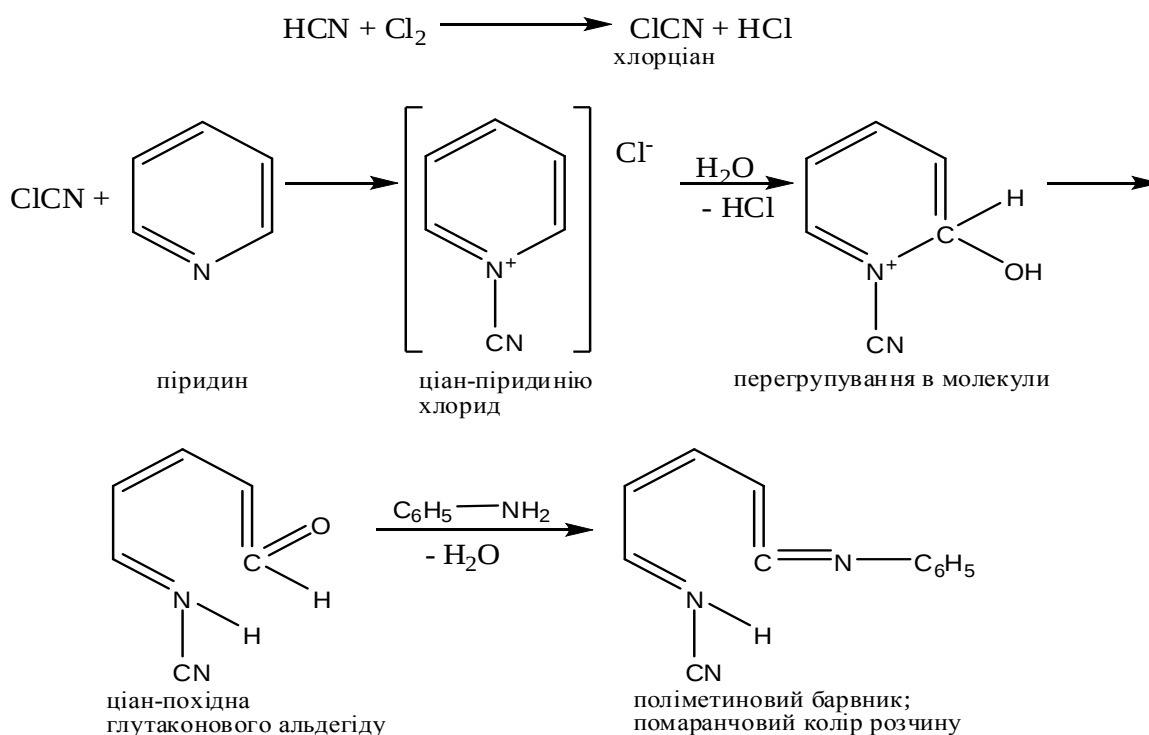
У судово-слідчі органи направляється осад берлінської блакиті. Чутливість реакції: 20 мкг в 1 мл розчину.

Для підтвердження наявності синильної кислоти в дистиляті проводяться реакції забарвлення:

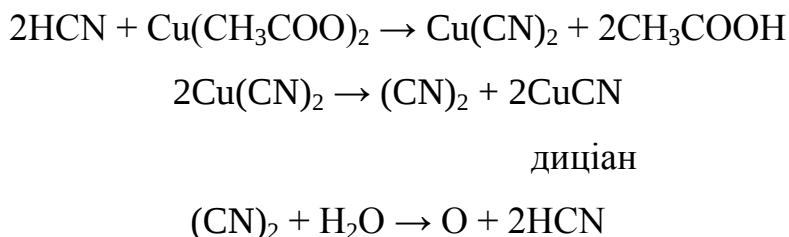
Реакція утворення роданіду заліза – високочутлива (10 мкг в 1 мл), але неспецифічна.

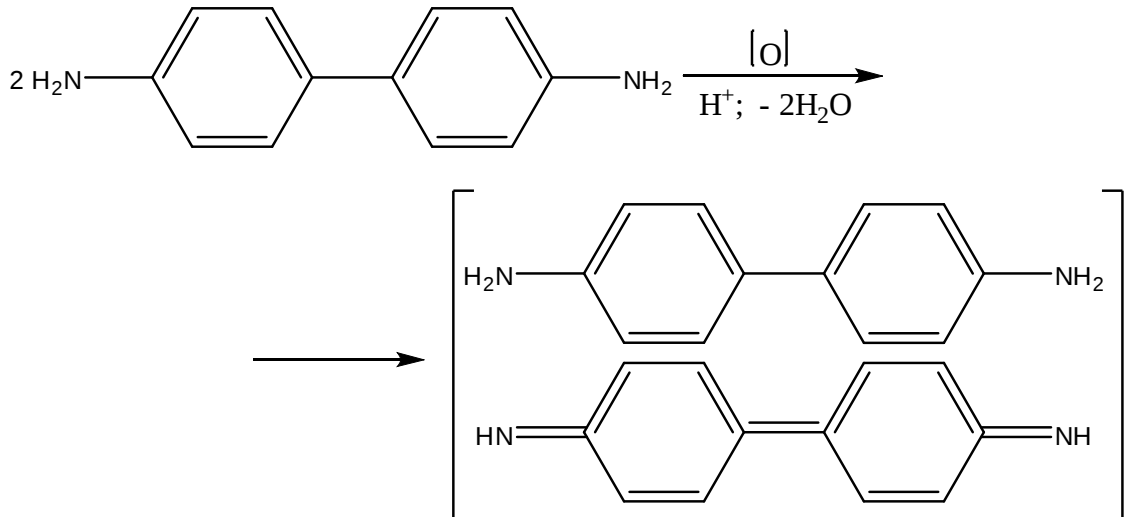


Реакція утворення поліметину високочутлива (0,2 мкг в 1 мл розчину), неспецифічна:



Реакція утворення бензидинової сині – чутлива, неспецифічна:





Папір, змочений розчином солі міді та бензидином, синіє при наявності синільної кислоти або її солей.

3.3.2. Аналіз другого дистиляту

Аналіз другого дистиляту починають з дослідження отруйних галогенопохідних аліфатичного ряду.

Галогенопохідні аліфатичного ряду

Летальні дози для них такі:

хлороформ $\text{CHCl}_3 = 50\text{--}70$ г;

хлоралгідрат $\text{CCl}_3-\text{C}(=\text{O})\text{H} \cdot \text{H}_2\text{O} = 10$ г і менше;

дихлоретан $\text{H}_2\text{C}-\text{CH}_2$ $\begin{array}{c} | \\ \text{Cl} \end{array} \begin{array}{c} | \\ \text{Cl} \end{array} = 15 - 25$ мл.

чотирьохлористий вуглець $\text{CCl}_4 = 20\text{--}50$ мл;

За токсичною дією:

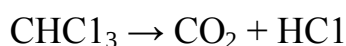
хлороформ і хлоралгідрат є наркотиками. Вони спочатку збуджують, а потім паралізують нервову систему;

чотирьохлористий вуглець діє на організм подібно до хлороформу, але повільніше і викликає значні порушення в органах: у печінці, нирках спостерігається жирове переродження;

дихлоретан за наркотичною дією – найсильніший з отруйних галоїдопохідних.

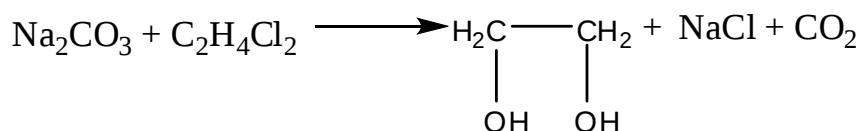
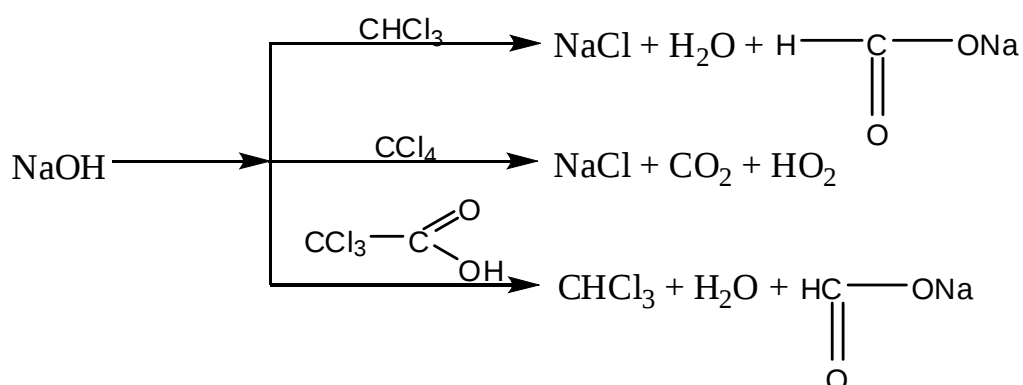
Отруєння цими речовинами супроводжується блюванням, проносом, здуттям живота, збільшенням і хворобливістю печінки, анурією.

Метаболізм вивчений недостатньо, кінцевим результатом метаболічних процесів є вуглецю діоксид і хлористоводнева кислота:

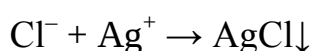


Особливістю ізолювання галогенопохідних отрут аліфатичного ряду є здатність переганятися вже в перші порції дистиляту. При значних кількостях отрут (> 1 г) у дистиляті спостерігаються краплі рідини, що не змішуються з водою.

Аналіз починають із загальної (неспецифічної) і низькочутливої реакції на Cl^- з AgNO_3 після відокремлення органічно зв'язаного хлору, яку дають усі галоїдопохідні.

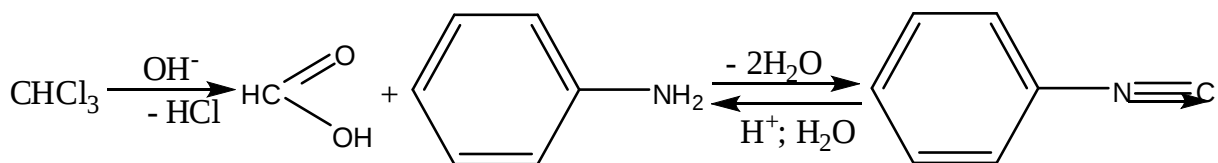


Упродовж 4 год нагрівають у запаяній ампулі. Спостерігається білий осад або біла муť у розчині:



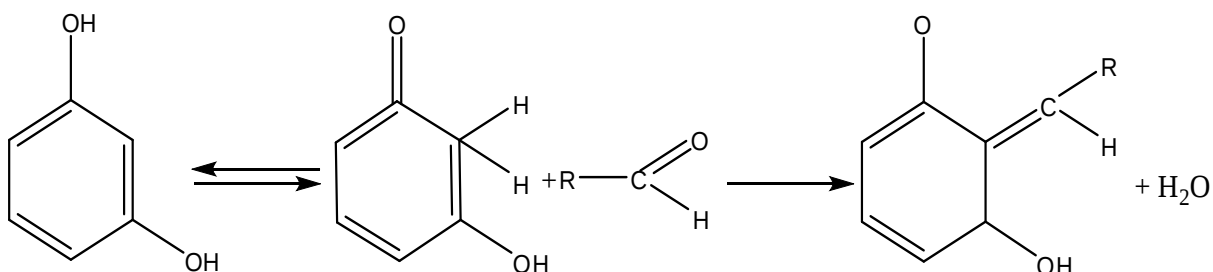
Якщо не відмічається наявності муťі або осаду, то проводиться реакція Фуджіварі, заснована на утворенні поліметину, – чутлива, неспецифічна.

Реакція утворення ізонітрилу – високочутлива, неспецифічна, із досліджуваних галоїдопохідних тільки дихлоретан не дає цієї реакції:



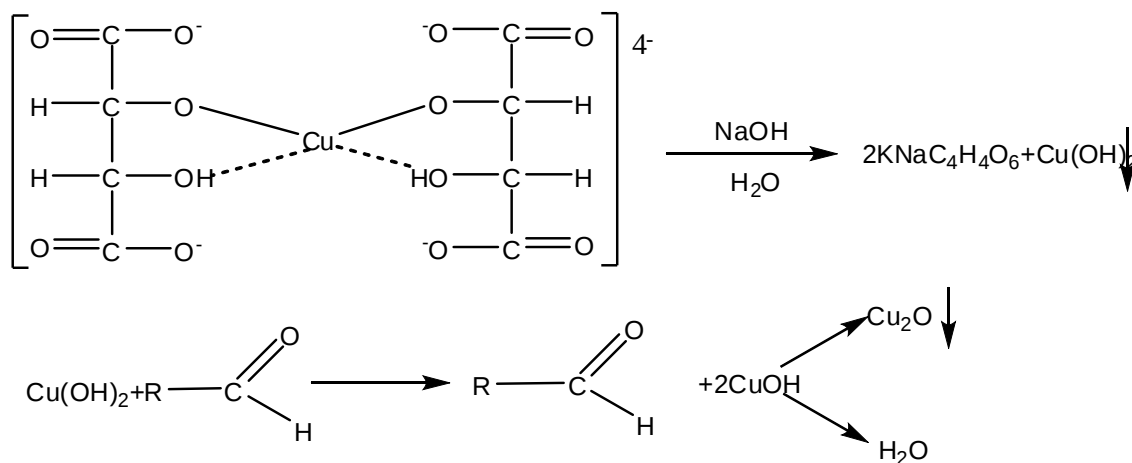
З'являється неприємний запах. При позитивному результаті виконується повний аналіз на галоїдопохідні отрути.

Реакція з резорцином у лужному середовищі – чутлива, неспецифічна, її можуть давати альдегіди, мурашина кислота. Механізм недостатньо встановлений.



Спостерігається рожеве забарвлення розчину.

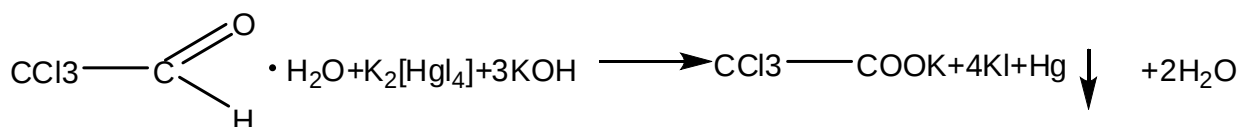
Реакція відновлення міді гідроксиду – низькочутлива і неспецифічна (альдегіди), чотирехлористий вуглець і дихлоретан не дають зазначеної реакції.



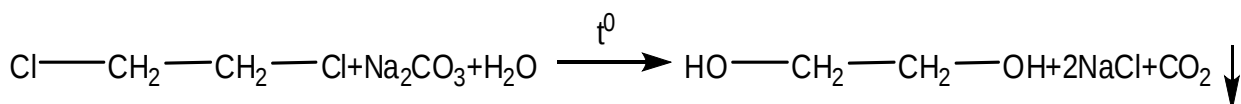
Спостерігається оранжевий осад, який через деякий час стає зеленим.

На наявність дихлоретану виконується ціленаправлений аналіз.

Реакція на хлоралгідрат:

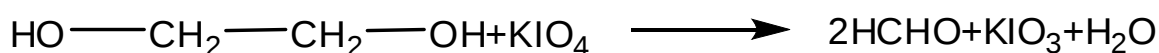


Реакція відкремлення атомів хлору

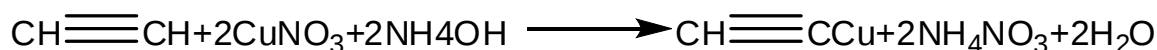
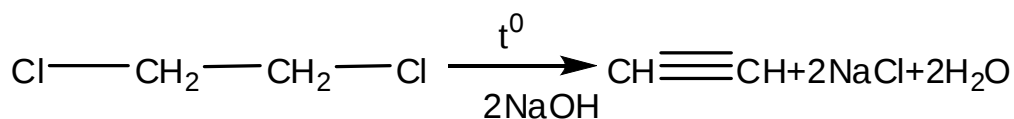


Спостерігається білий осад срібла хлориду після додавання срібла нітрату в азотнокислому середовищі.

Реакція утворення етиленгліколю і виявлення його після переведення у формальдегід:



Реакція утворення міді ацетілениду



Спостерігається рожеве або вишнево-червоне забарвлення розчину.

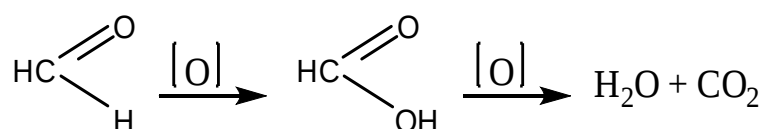
Потім другий дистилат досліджується на наявність формальдегіду.

Формальдегід

Летальна доза становить 15-25 мл.

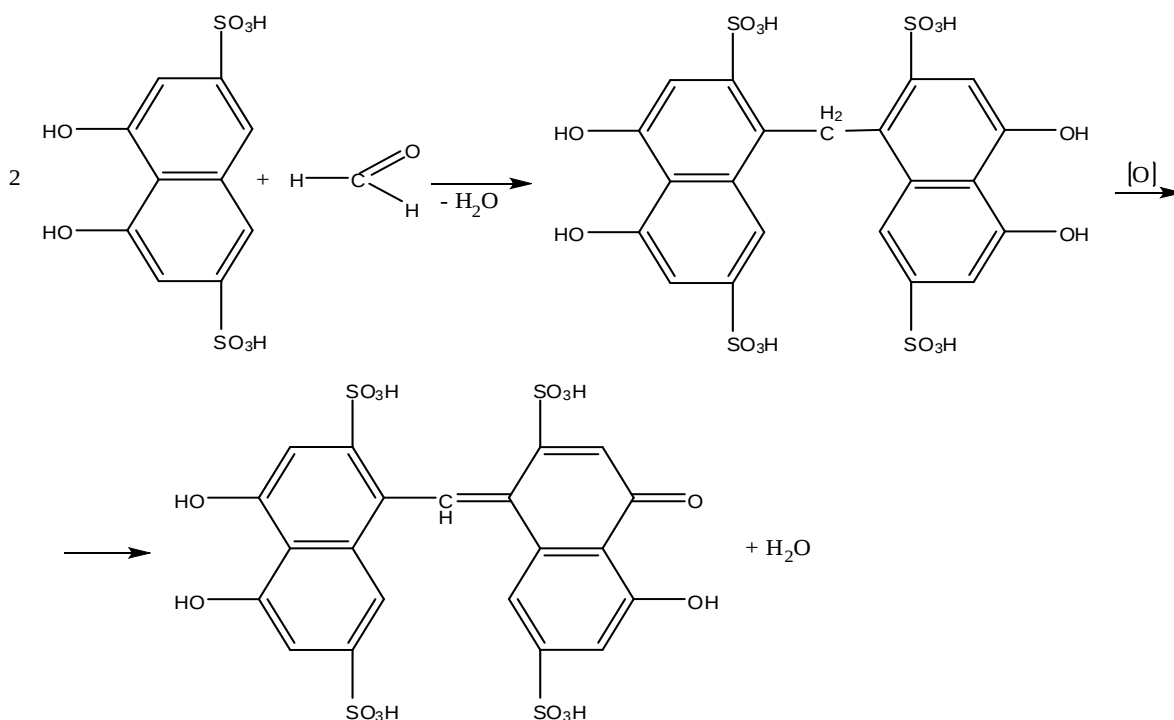
Токсична дія формальдегіду уражає дихання, викликаючи при вдиханні різкий кашель, сльозотечу. Потрапляння формальдегіду через рот супроводжується нудотою, судомами, втратою свідомості, уражає нирки, паралізує дихання.

Метаболізм формальдегіду протікає за таким механізмом:

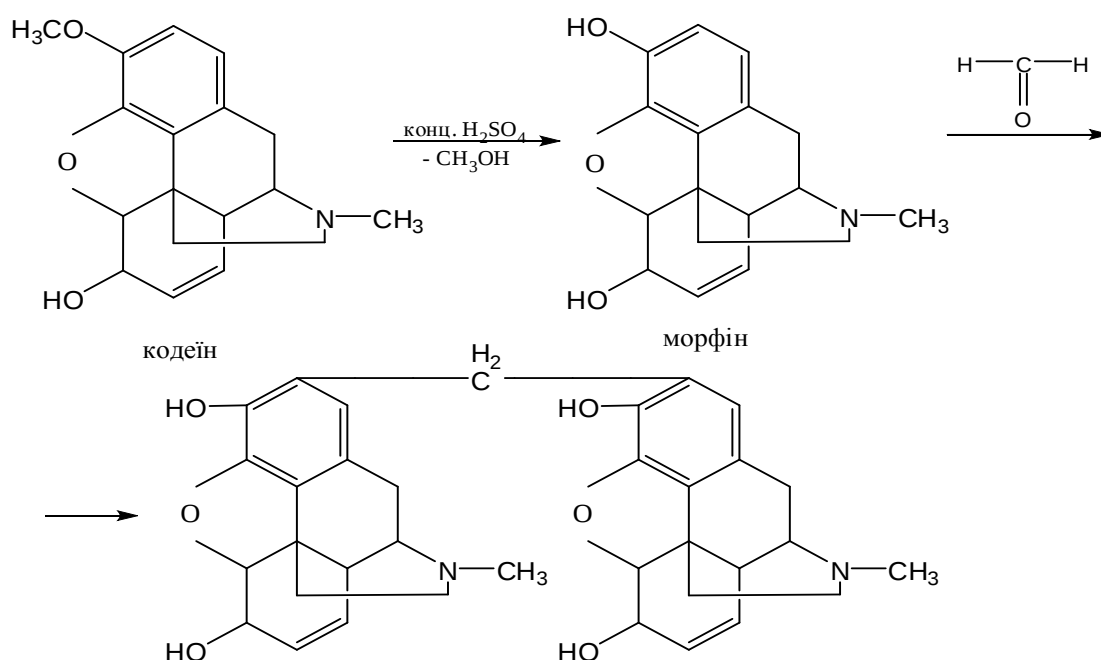


Аналіз формальдегіду починають з проведення високочутливих реакцій.

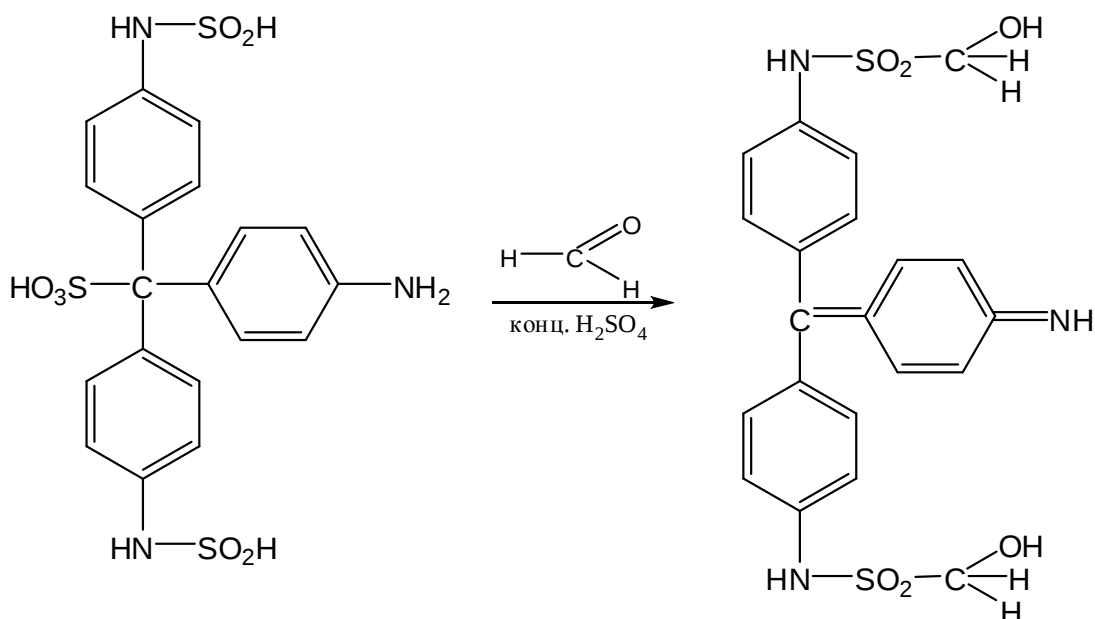
Реакція з хромотроповою кислотою, в результаті якої спостерігається фіолетове або червоно-фіолетове забарвлення розчину. Реакція неспецифічна, адже її дають речовини, які при гідролізі, дегідратації або окислюванні утворюють формальдегід.



Реакція кодеїну і сірчаної кислоти, в результаті якої спостерігається синьо-фіолетове або червоно-фіолетове забарвлення.



Реакція з фуксиносірчистою кислотою – неспецифічна, оскільки її дають альдегіди (фурфурол, ацетальдегід та ін.) і навіть окислювачі повітря (хлор, кисень, окисли азоту).



Синій колір з'являється в розчині не відразу, а через 10–15 хв. Проте, якщо колір з'явився через півгодини, це не є позитивним результатом на альдегід.

Слід відзначити, що за певних умов ця реакція може бути специфічною для формальдегіду, бо відбувається в сильно кислому середовищі, рН = 0,7 тільки з формальдегідом, а при рН = 2,7 її дають багато альдегідів.

Реакції з резорцином; відновлення іонів срібла; із реактивом Фелінга – менш чутливі і неспецифічні, але вони виконуються обов'язково, якщо отримано позитивний результат високочутливих реакцій.

При відсутності позитивного результату на формальдегід виконують реакції на метиловий і етиловий спирти, а потім на кетони – ацетон.

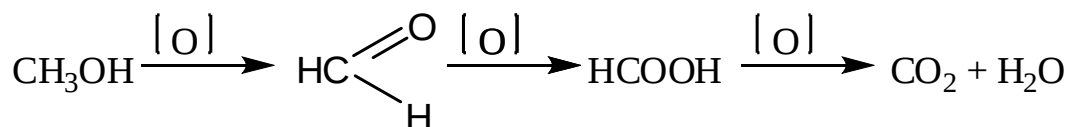
З аліфатичних спиртів найбільше токсикологічне значення мають метиловий, етиловий та ізоаміловий спирти.

Спирти використовуються в медицині, на хімічних заводах, у харчовій промисловості. Денатурат (технічний спирт) включає 2,5 % ацетонистого спирту (75 % метанолу і 0,5 % піридинових основ).

Метанол

Летальна доза метилового спирту 40–100 мл, при вживанні 7–8 мл метанолу у хворого настає сліпота.

Токсична дія метилового спирту полягає в ураженні нервової та судинної систем, зорового нерва, сітківки ока. Метанол діє на гемоглобін і блокує перенесення кисню, що викликає гіпоксію. Він кумулюється. Токсичність метанолу обумовлена продуктами метаболізму – формальдегідом і мурашиною кислотою:



Формальдегід уражає зоровий нерв, а мурашина кислота призводить до сильного ацидозу.

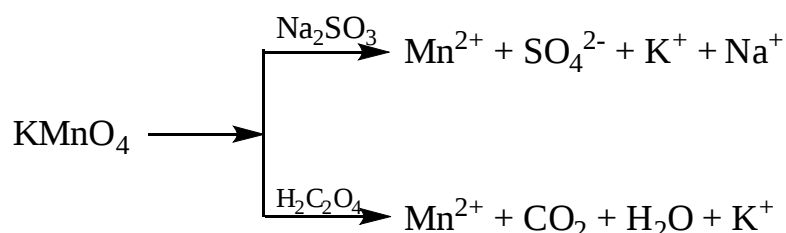
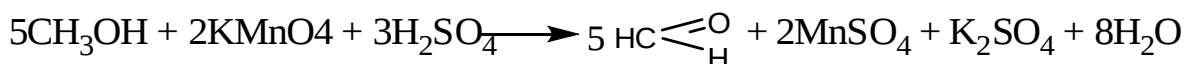
Антидотом при ураженні метиловим спиртом є етиловий спирт, який легше розкладається ферментом алкогольдегідрогеназою, а метанол виводиться нирками, легеньми в менш токсичному, нативному стані.

Особливості ізолювання. Метанол леткий і для зменшення втрат його збирають у збірник, охолоджений льодом або холодною водою.

При дослідженні вин попередньо зв'язують леткі кислоти натрію карбонатом, а потім відганяють метанол.

При аналізі дешевих одеколонів попередньо очищують одеколон від ефірних масел, екстрагуючи їх естером, а потім зв'язують леткі кислоти і відганяють метанол.

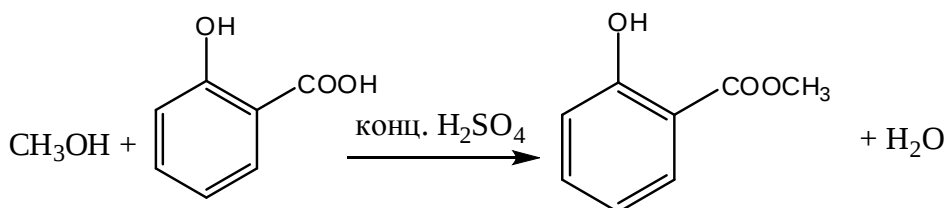
Аналіз метилового спирту починають з попередньої реакції – *окислення метанолу до формальдегіду*:



Для зв'язування надлишку окислювача додають щавлеву кислоту або натрію сульфід.

Формальдегід виявляють за реакцією з розчином кодеїну в сірчанокислому середовищі або з фуксиносірчистою кислотою.

Реакція утворення складного естеру – підтверджуюча, неспецифічна, бо її дає етиловий спирт, але одержання метилсаліцилату в 40 разів чутливіше, ніж одержання етил саліцилату.



Етиловий спирт

Летальні дози етилового спирту: 100–150 г (250–275 мл горілки) для непитущої людини і 15–25 г для дітей.

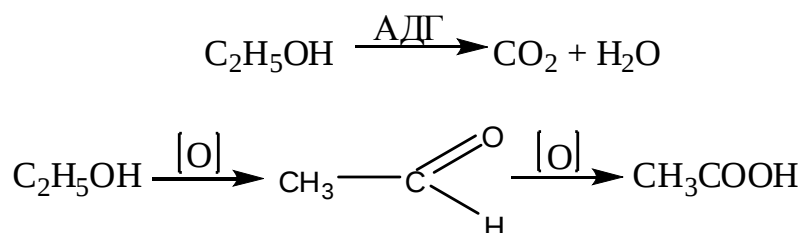
Етиловий спирт уражає нервову і серцево-судинну системи, викликає цироз печінки, психози.

Він локалізується у мозку, печінці, нирках. Спирт – наркотик, який збуджує, а потім пригнічує нервову систему.

90 % уведеної дози етилового спирту окислюється до H_2O і CO_2 під дією алкогольдегідрогенази (АДГ) і 10 % виводиться легенями, нирками.

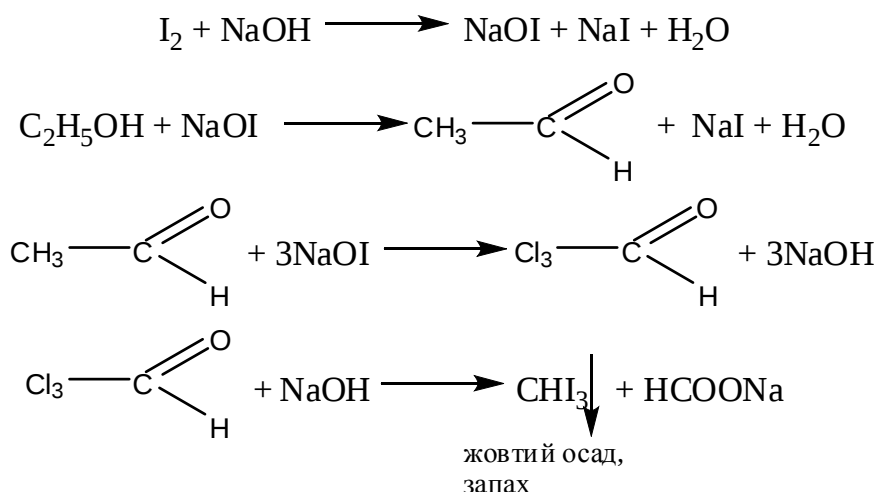
В організмі людини в нормі виробляється ендogenousний спирт (0,002–0,004 %) у результаті окислення вуглеводів вищих спиртів, розпаду білкових речовин.

Метаболізм етилового спирту:



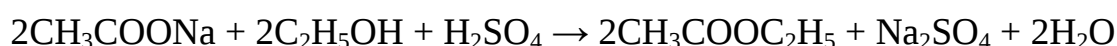
При введенні лікарських речовин – антабусу або циаміду – затримується процес окислення ацетальдегіду до оцтової кислоти, що призводить до накопичення ацетальдегіду. Це супроводжується нудотою, блюванням, головним болем.

Аналіз етилового спирту починають з попередньої, неспецифічної реакції утворення йодоформу, яку дають ацетон, молочна кислота:



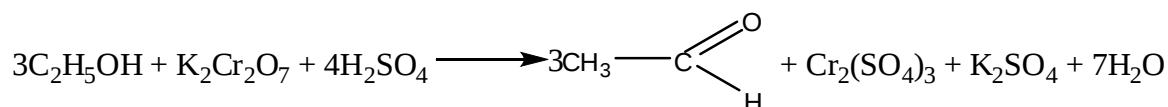
При позитивному результаті реакції проводять підтверджуючі дослідження на етиловий спирт і ацетон.

Реакція утворення оцтово-етилового естеру – підтверджуюча, специфічна. У разі позитивного результату відчувається запах оцтово-етилового естеру.

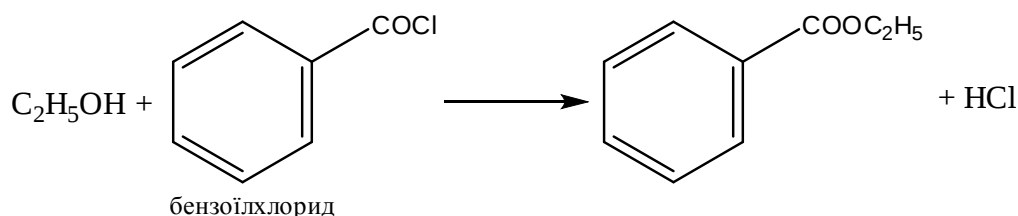


Запах ефіру посилюється при розведенні у воді.

Реакція утворення ацетальдегіду – підтверджуюча, специфічна, дає запах оцтового альдегіду



Реакція утворення етилбензоату – підтверджуюча, специфічна, дає запах етилового ефіру бензойної кислоти.

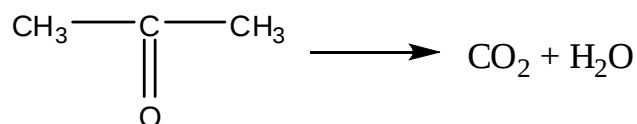


Ацетон

Летальна доза ацетону 25–50 мл.

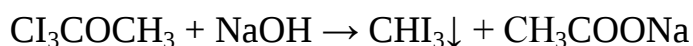
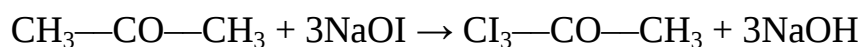
Ацетон у малих кількостях за нормою присутній у сечі людини в межах 20–25 мг, він є одним із нормальних метаболітів нашого організму. При захворюванні на діабет вміст ацетону зростає.

Метаболізм ацетону:



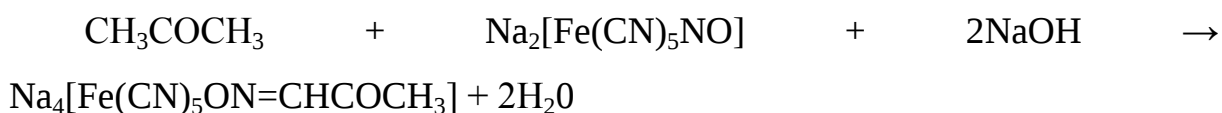
Особливість ізолювання ацетону – виділення ацетону з дистиляту, адже ацетон змішується з водою, спиртом, естером у будь-яких співвідношеннях. Ацетон висолюють при насиченні дистиляту солями натрію хлориду, кальцію хлориду, калію карбонату, що дає утворення двох шарів, які легко розділяються, – ацетону і води.

Аналіз на ацетон також починається з найбільш чутливої, неспецифічної реакції утворення йодоформу:



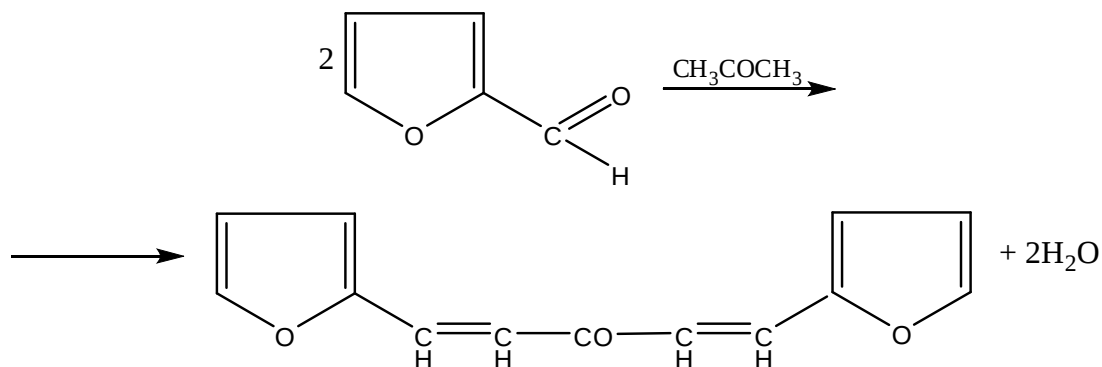
Характерний запах і наявність жовтого осаду вказують на можливість присутності ацетону в дистиляті.

Реакція з натрію нітропрусидом є підтверджуючою, неспецифічною і характерною для кетонів.



Спостерігається червоний колір розчину.

Реакціями, які підтверджують наявність ацетону, є реакції з альдегідами, наприклад, із фурфуролом – реакція неспецифічна.



Спостерігається червоний колір розчину.

3.3.3. Аналіз суміші другого та третього дистилятів

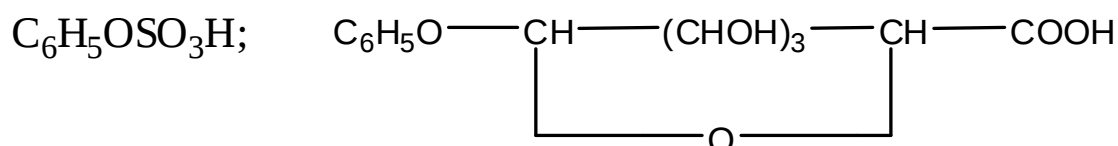
Залишок другого дистиляту змішують з третім дистилятом і знову проводять аналіз на галогенпохідні та формальдегід. З частиною дистиляту, що залишилась, виконують аналіз на фенол та ізоаміловий спирт.

Фенол

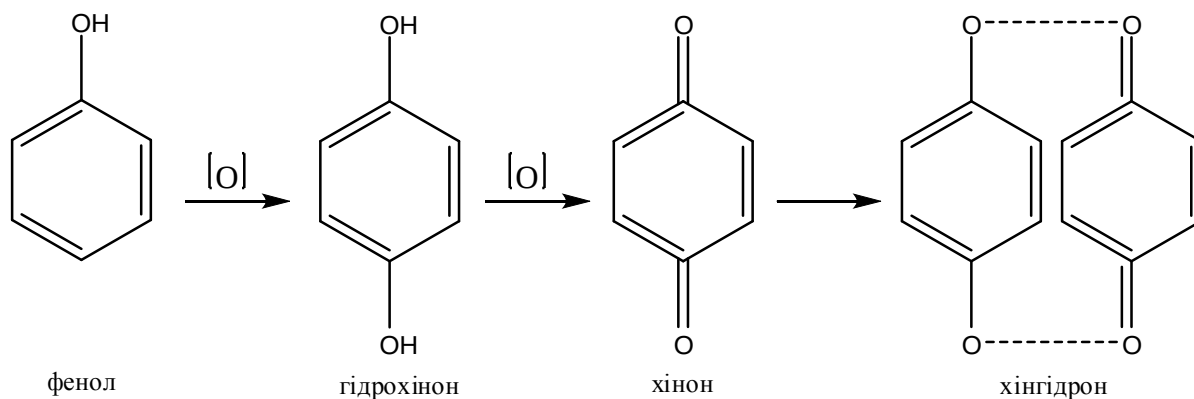
Летальна доза фенолу 8–15 г.

Фенол добре всмоктується в організмі при попаданні через рот, дихальні органи. При токсичних дозах спостерігаються печія, біль у шлунку, блювання, пронос, сеча набуває чорного кольору. Відзначається жирове переродження печінки, нирок.

Метаболізм фенолу. З організму фенол виділяється із сечею у вигляді естерів із сірчаною та глюкуроною кислотами:



Темно-зелений колір сечі свідчить про окислення фенолу за схемою:

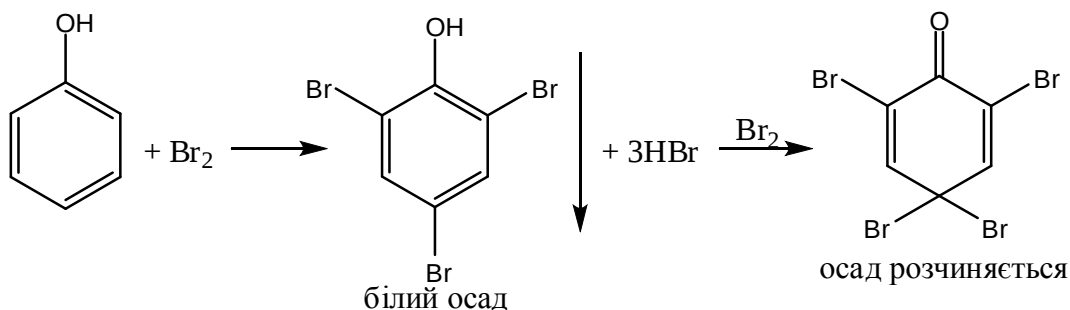


Особливістю ізолювання фенолу є підлучування дистиляту розчином натрію гідрокарбонату до pH = 8–9 для зв'язування слабких кислот (оцтової, саліцилової, молочної), які реагують із FeCl₃. Фенол екстрагують естером, ефірну витяжку випаровують і реакції виконують із сухим залишком.

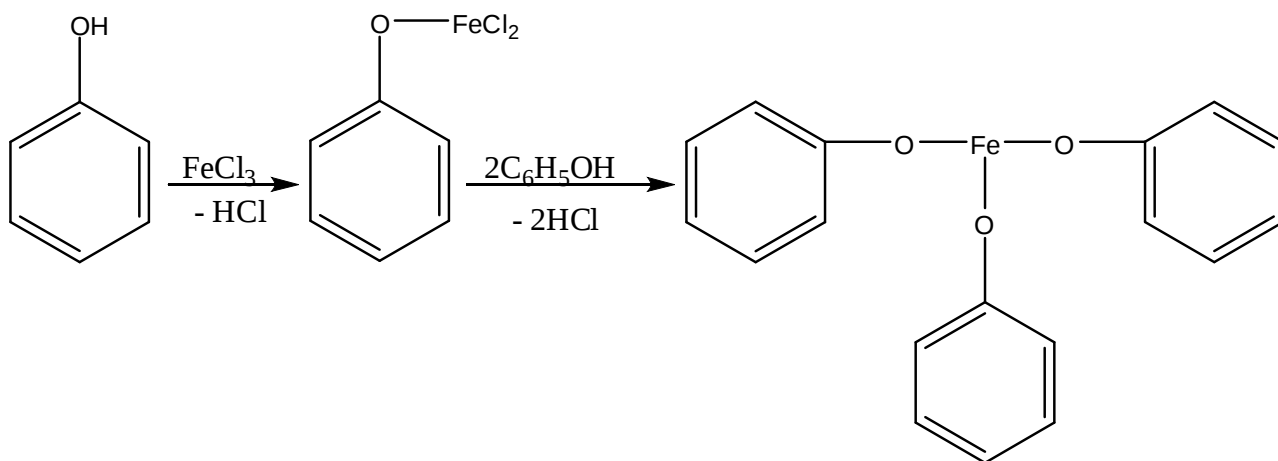
При наведеному аналізі на фенол біологічний об'єкт підкислюють сильнішою оцтовою кислотою, яку зв'язують потім лугом, і фенол екстрагують естером.

Аналіз фенолу починають проведенням реакції з бромною водою – найбільш чутливої, попередньої, але неспецифічної (анілін, саліцилова кислота, ароматичні аміни та ін.).

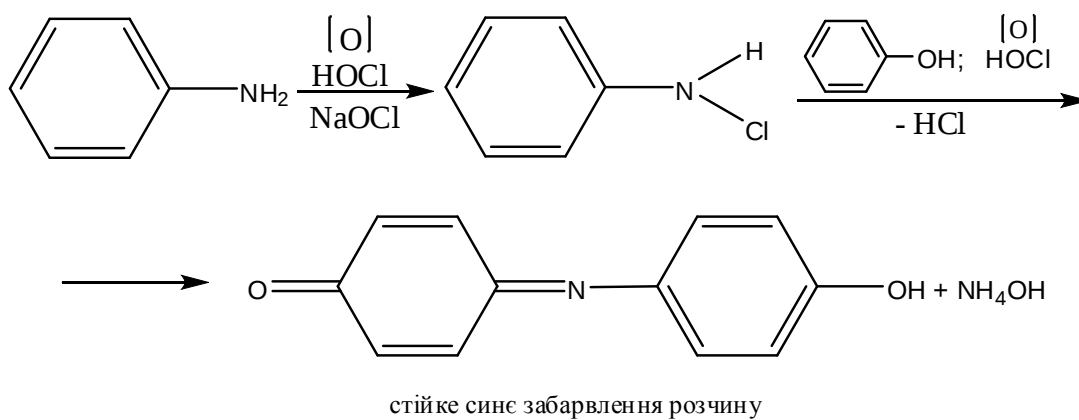
Даною реакцією виявляють фенол, який утворюється при гнитті білка. Судово-хімічне значення має негативний результат реакції.



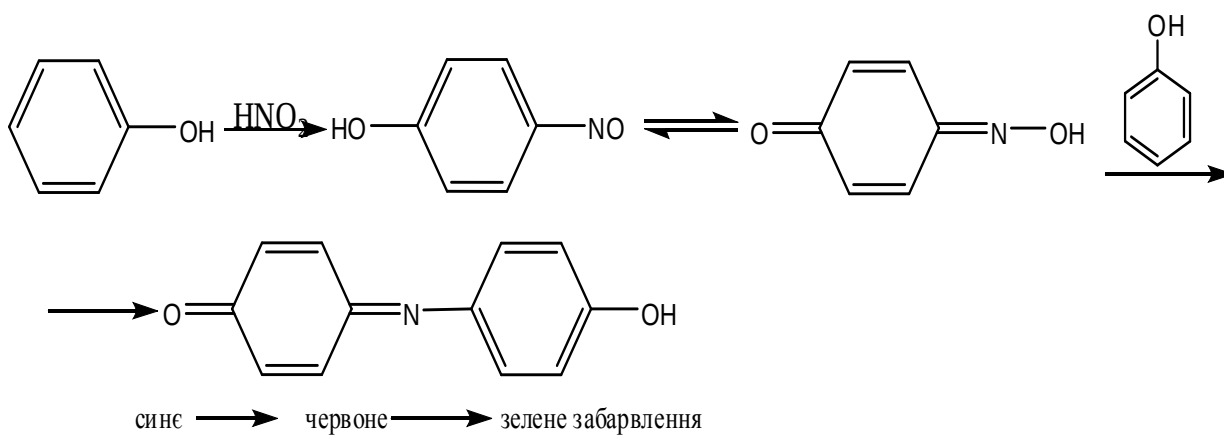
Реакція із заліза окисного хлоридом – специфічна для фенольного гідроксилу, спостерігається синій колір розчину



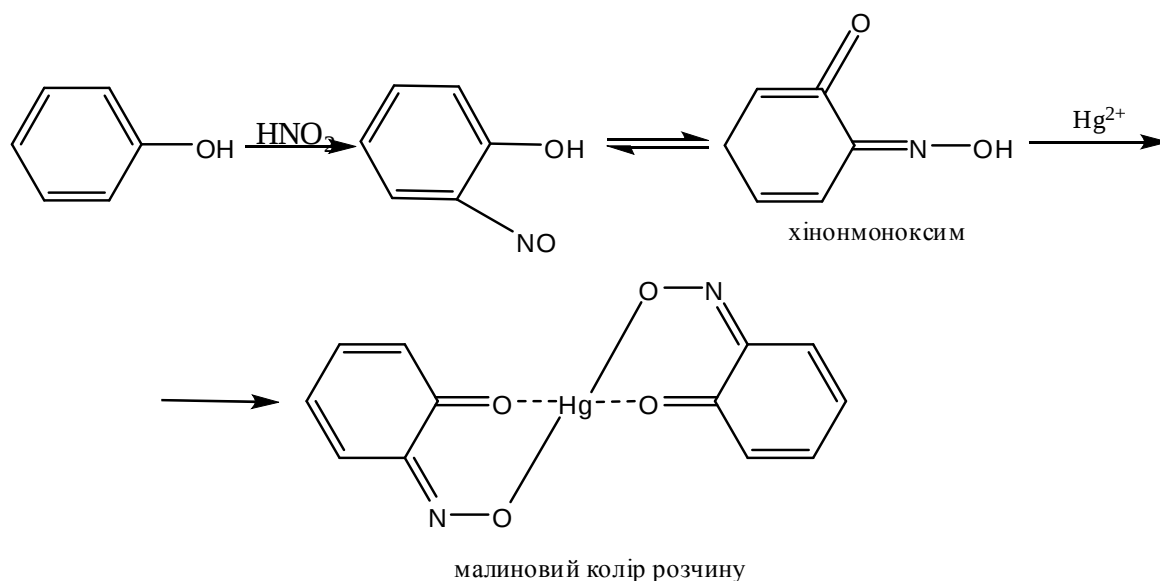
Індофенольна реакція – неспецифічна, підтверджуюча.



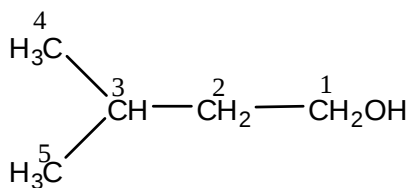
Реакція Лібермана – реакція утворення індофенолу, неспецифічна, підтверджуюча, спостерігається синє забарвлення, що переходить у червоне, а потім зелене.



Реакція з реактивом Мілона (суміш одно- і двовалентної ртуті нітратів, що містить азотисту кислоту) – неспецифічна, підтверджуюча, спостерігається червоне або оранжеве забарвлення.



Ізоаміловий спирт



$C_5H_{11}OH$ – головна складова частина сивушних масел і **летальна доза** дорівнює 10 – 15 г. До складу сивушних масел також входять вищі спирти (бутиловий, аміловий), альдегіди, естери, кетони.

Використовується ізоаміловий спирт у медицині, при виробництві бездимного пороху.

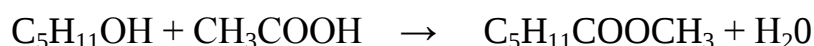
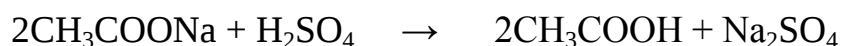
Токсична дія ізоамілового спирту – наркотик, більш отруйний, ніж етанол, бо повільно всмоктується, метаболізує й виводиться, викликаючи сильне і тривале сп'яніння з неврологічними і психічними порушеннями.

Метаболізм. Частина введеної дози метаболізує шляхом окислення до ізовалеріанового альдегіду та ізовалеріанової кислоти, а частина виводиться у незміненому вигляді нирками і легенями.

Особливості ізолювання. Спирт екстрагують ефіром (хлороформом) із дистилляту, а потім відганяють ефір і виконують аналіз.

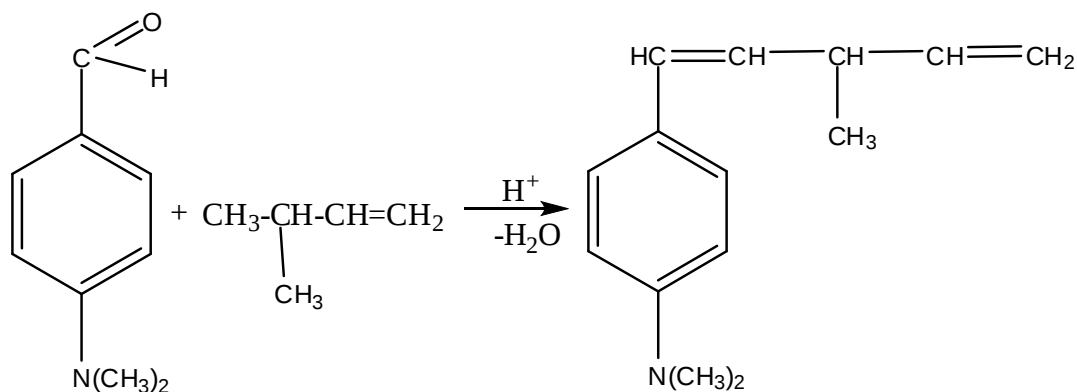
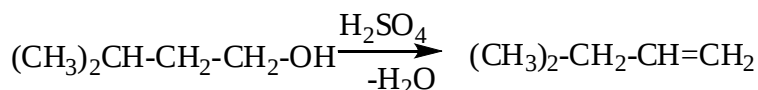
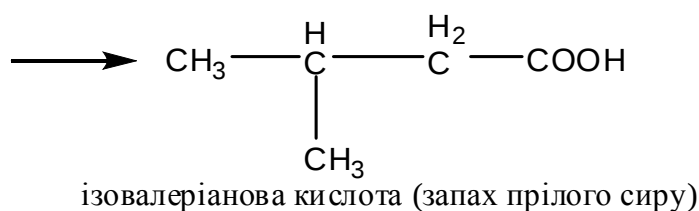
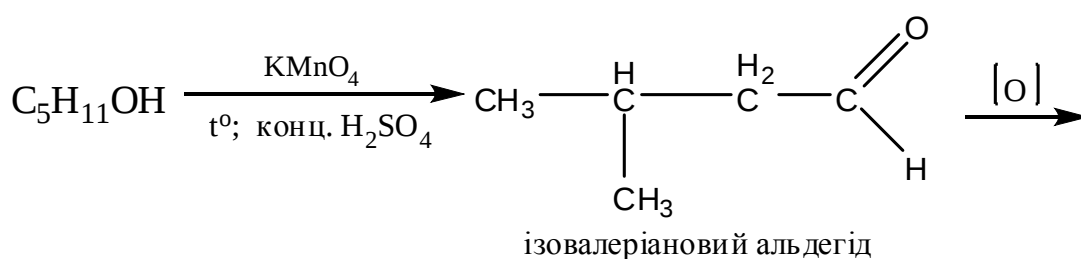
При аналізі вина 40–50 мл його розводять водою до вмісту етанолу 10–15 % (спирт у такій кількості не ізолюється ефіром або хлороформом), а потім 15 мл CHCl_3 ізолюють ізоаміловий спирт.

Аналіз ізоамілового спирту починають із реакції утворення *ізоамілацетату* – попередньої, специфічної:



Відчувається запах грушевої есенції, який посилюється при розведенні водою.

Реакція окислення ізоамілового спирту – підтверджуюча, специфічна.



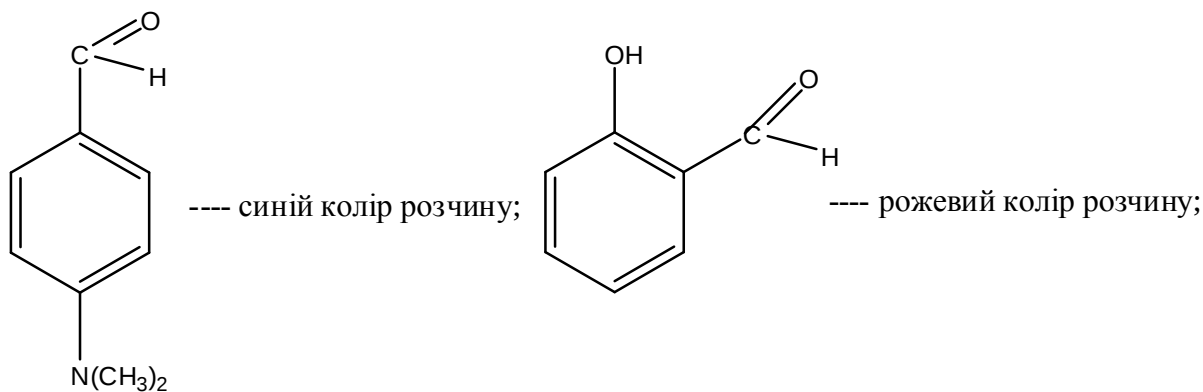
Реакції з альдегідами – підтверджуючі, неспецифічні:

а) реакція з *p*-диметиламінобензальдегідом

б) реакція із саліциловим альдегідом

Механізм реакції точно не описаний. Один із можливих механізмів:

Ці реакції дають вищі спирти, не дають CH_3OH і $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$.



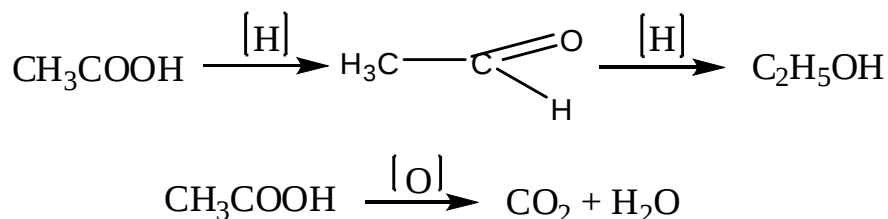
Кислота ацетатна

Хіміко-токсикологічні дослідження оцтової кислоти проводяться при спеціальних завданнях. На оцтову кислоту виконують ціленаправлений аналіз.

Летальні дози: 200 мл оцту, 10–20 г оцтової есенції.

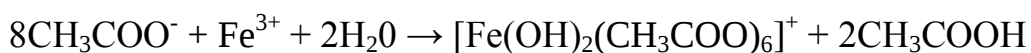
Токсична дія оцтової кислоти – опік стравоходу, уремія, гемолітична анемія.

Метаболізм:

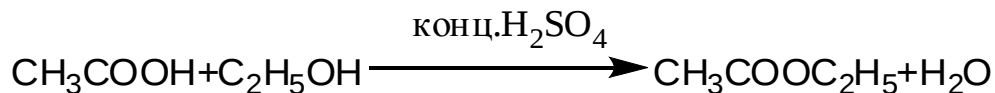


Особливості ізолювання. Аналіз направлений, тому біологічний матеріал підкислюють розчином H_2SO_4 або H_3PO_4 . Оцтова кислота летка, тому її збирають у приймач, який уміщує розчин 0,1 *n* NaOH.

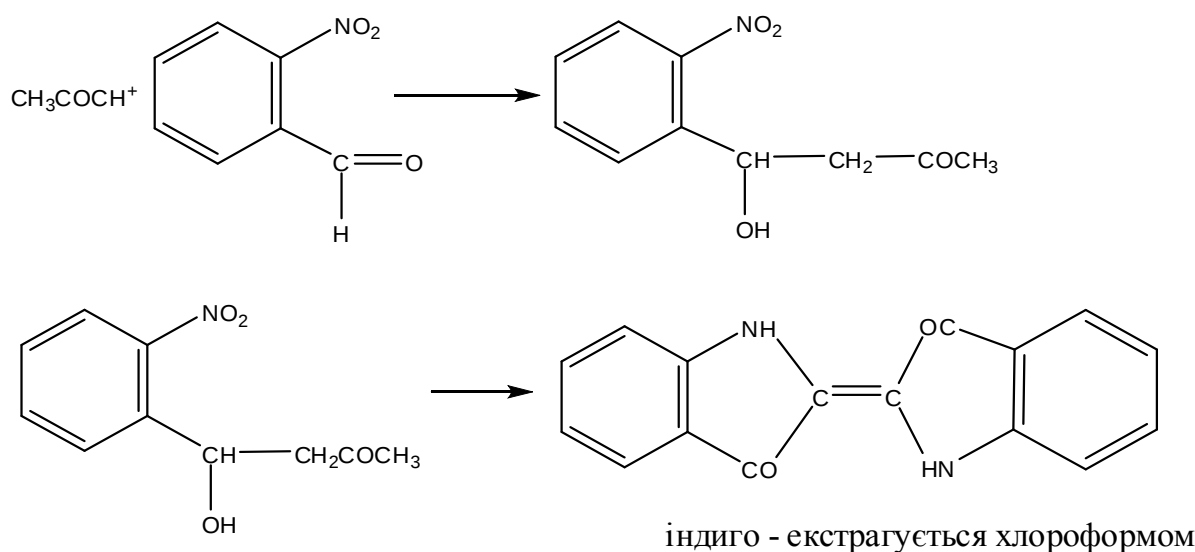
Аналіз на оцтову кислоту починають з *реакції із заліза окисного хлоридом* – неспецифічної чутливої, попередньої.



Реакція утворення складного ефіру – підтверджуюча, специфічна, відчувається запах оцтово-етилового ефіру.

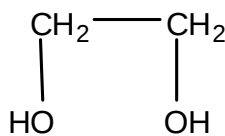


Реакція утворення індиго – підтверджуюча, неспецифічна.



Ацетон при взаємодії з *o*-нітробензальдегідом у лужному середовищі утворює індиго, що має сине забарвлення.

Етиленгліколь



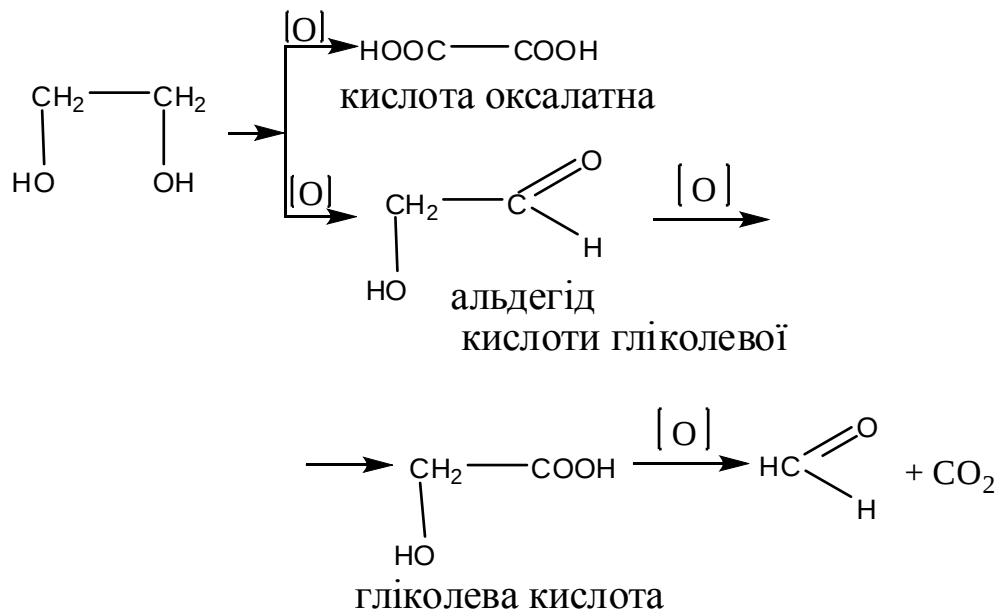
Двохатомний спирт, безбарвна масляниста рідина, змішується з водою у будь-яких співвідношеннях.

Етиленгліколь використовується в техніці як антифриз; у хімічній промисловості – як розчинник, для проведення органічного синтезу.

Шлях надходження до організму – через рот, шкіру, тому що спирт малолеткий і його надходження через органи дихання обмежене.

Токсичність етиленгліколю полягає в тому, що він є судинною і про-топлазматичною отрутою, яка викликає дегенерацію судин і ушкодження нирок через відкладання в них оксалатів.

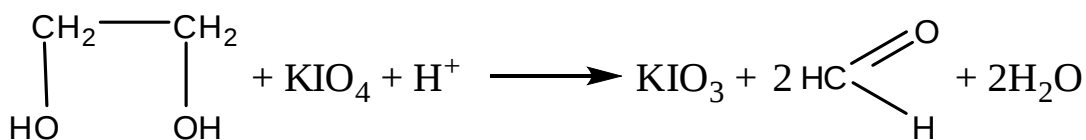
Метаболізм складний, включає багатоетапне окислення:



З організму етиленгліколь і його метаболіти виводяться із сечею.

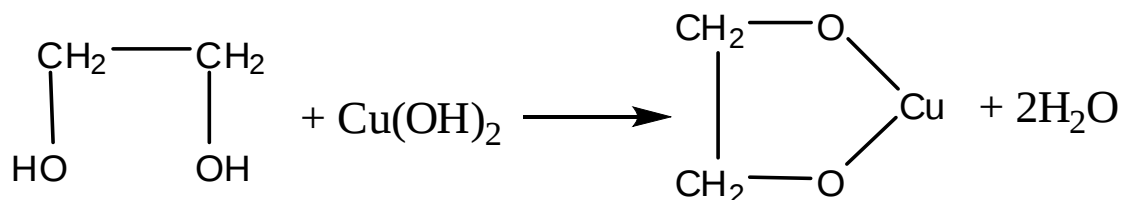
Особливість направленої ізолювання з біологічного матеріалу – використання бензолу як селективного переносника етиленгліколю при перегонці з водяною парою. Збирають дистилят об'ємом не менше 500 мл. Дистилят розділяється на два шари: верхній – бензол, нижній – етиленгліколь з водою.

Аналіз дистиляту на етиленгліколь починається з *попередньої реакції* окислення етиленгліколю до формальдегіду – чутливої, неспецифічної.

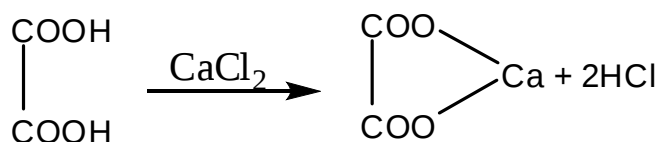
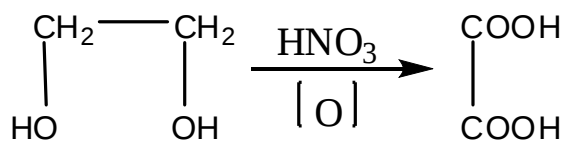


Формальдегід виявляють реакцією з фуксиносірчистою кислотою, після появи бузкового забарвлення розчину.

Реакція із міді сульфатом – підтверджуюча, неспецифічна. Спостерігається синє забарвлення розчину.



Реакція окислення етиленгліколю до щавлевої кислоти – підтверджуюча, специфічна. Спостерігається утворення характерних за формою кристалів кальцію оксалату.



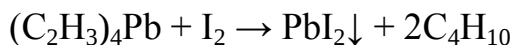
Тетраетилсвинець (ТЕС)

Тетраетилсвинець $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$ – прозора безбарвна рідина, майже не розчиняється у воді, легкорозчинна в бензині, естері, хлороформі, спирті, у жирах, оліях. Легко розкладається під впливом нагрівання, сонячних променів до неорганічних солей свинцю.

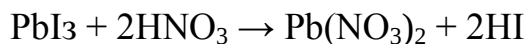
Використовується як антидетонатор.

Тетраетилсвинець дуже токсичний, надходить через рот, органи дихання, шкіру, уражає нервову систему, викликає головний біль, безсоння, розлад зору, судоми.

Особливість направленого ізолювання – після перегонки з водяною парою Тетраетилсвинець збирають у приймач із спиртовим розчином йоду.



Потім рідину випаровують до сухого залишку, який розчиняють в азотній кислоті.



Розчин знов випаровують, сухий залишок розчиняють у воді та аналізують на Pb^{2+} реакціями утворення плумбум дитізонату; PbSO_4 ; PbI_2 ; PbCrO_4 ; PbS .

При аналізі харчових продуктів, одягу, рослинної сировини тетраетилсвинець екстрагують органічними розчинниками.

3.4. Кількісний аналіз «летких» отрут

При виявленні летких отрут у дистиляті кількісне визначення більшості з них є обов'язковим при судово-хімічних дослідженнях, тому що деякі отрути надходять в організм як лікарські речовини (хлороформ, хлоралгідрат), інші можуть бути ендогенного походження (етанол, ацетон, фенол, оцтова кислота, сліди синильної кислоти). При роботі з біологічними рідинами живих осіб у разі гострих інтоксикацій потрібен контроль за всмоктуваністю і виведенням отрут з організму, що так само пов'язано з кількісним визначенням «летких» отрут у сечі та крові.

Для кількісного визначення «летких» отрут можуть бути застосовані вагові, об'ємні, фотоколориметричні методи і метод газо-рідинної хроматографії.

Ваговим методом можна визначити синильну кислоту (ціаніди) за срібла ціанідом, фенол – за трибромфенолом, алкілгалогеніди – за срібла хлоридом.

Об'ємними методами слід аналізувати синильну кислоту й алкілгалогеніди (аргентометрично), фенол (броматометрично), формальдегід і ацетон (йодометрично), оцтову кислоту (нейтралізацією).

Фотоколориметрично визначають: синильну кислоту – за інтенсивністю забарвлення поліметинового барвника; формальдегід і етиленгліколь (після переведення у формальдегід) – з фуксиносірчистою кислотою; ета-

нол – з калію дихроматом у сірчанокиислому середовищі; алкілгалогеніди (хлороформ, хлоралгідрат, чотири-хлористий вуглець) – за ступенем забарвлення продукту реакції Фуджівара. Фотоколориметричний метод перевершує за чутливістю вагові й об'ємні методи, але поступається методу газо-рідинної хроматографії.

Зараз для кількісного визначення алкілгалогенідів, етанолу та інших спиртів рекомендується тільки метод газо-рідинної хроматографії.

3.5. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі

115. Загальна характеристика речовин, які ізолюються дистиляцією. Теоретичні обґрунтування методів ізолювання “летких отрут”.

116. Дистиляція з водяною парою, проста і азеотропна перегонка, інші види дистиляції.

117. Підготовка біологічного матеріалу до дистиляції з водяною парою. Вибір методів та умов дистиляції в залежності від об'єкту та фізико-хімічних властивостей досліджуваних отрут.

118. Методи очищення і концентрування “летких отрут” у дистилятах.

119. Хімічні методи дослідження “легких отрут” у дистилятах, їх чутливість та специфічність.

120. Застосування ГРХ (газорідинної хроматографії) для аналізу “летких отрут”. Типи детекторів, які використовують в аналізі “летких отрут” методом ГРХ.

121. Способи групової та індивідуальної ідентифікації отруйних речовин з допомогою багатоколонкового газохроматографічного аналізу. Перспективи використання газової хроматографії «скринінг» в аналізі «летких отрут».

122. Аналіз дистилятів на основі комбінування хімічного та газохроматографічного методів. Вплив продуктів метаболізму «летких отрут» і ендогенних сполук на результати аналізу.

123. Принципова схема дослідження біологічних об'єктів на «леткі отрути» при загальному та цілеспрямованому аналізі за допомогою комбінації методів.

124. Застосування ГРХ для аналізу спиртів. Значення відносного коефіцієнту етанолу в сечі і в крові для діагностики алкогольної коми.

125. Перегонка отруйних речовин водяною парою з підкисленого біологічного матеріалу. Додаткова перегонка отрут з біологічного матеріалу після підлучення.

126. Фракційна перегонка дистилятів.

127. Кислота ціанідна та її похідні. Основні хімічні та фізико-хімічні властивості. Використання. Токсична дія. Шляхи проникнення в організм, розподіл і метаболізм.

128. Зберігання кислоти ціанідної та її похідних в трупному матеріалі. Ізолювання синильної кислоти з внутрішніх органів трупа та біологічних рідин (кров, лімфа). Методи її кількісного визначення.

129. Основні реакції виявлення кислоти ціанідної в біологічному матеріалі. Використання антидотів.

130. Кількісне визначення кислоти ціанідної: титриметричний та ваговий способи.

131. Алкілгалогеніди. Фізичні та хімічні властивості органічних розчинників на прикладі хлороформу, карбону чотирьоххлористого та 1,2-дихлоретану. Особливості поведінки в організмі.

132. Сучасні методи хіміко-токсикологічного аналізу алкілгалогенідів.

133. Хлороформ. Фізико-хімічні властивості. Ізолювання з біологічного матеріалу. Дія на організм. Метаболізм. Кількісне визначення.

134. Якісне виявлення хлороформу після ізолювання з біологічного матеріалу.

135. Вуглець чотирьоххлористий. Фізичні та хімічні властивості. Токсикологічне значення та метаболізм. Кількісне визначення.

136. Ізолювання вуглецю чотирьоххлористого з біологічного матеріалу. Його якісне визначення.
137. Хлоралгідрат. Фізико-хімічні властивості. Застосування. Дія на організм. Метаболізм. Ізолювання з біологічного матеріалу. Кількісне визначення.
138. Якісне виявлення хлоралгідрату після ізолювання з біологічного матеріалу.
139. Дихлоретан. Його відомі ізомери. Хімічні та фізичні властивості дихлоретану. Токсикологічне значення. Метаболізм. Кількісне визначення.
140. Ізолювання дихлоретану з біологічного матеріалу. Його якісне виявлення.
141. Реакції визначення, які дають змогу відрізнити алкілгалогеніди від інших.
142. Тетраетилсвинець (ТЕС). Його властивості, застосування, дія на організм. Виділення тетраетилплумбуму з біологічного матеріалу.
143. Виявлення іонів плумбуму після ізолювання ТЕС з біологічного матеріалу та виявлення ТЕС у нафтопродуктах.
144. Формальдегід. Фізико-хімічні властивості. Застосування, дія на організм, токсикологічне значення, метаболізм. Кількісне визначення формальдегіду. Перша допомога при отруєнні.
145. Якісне виявлення формальдегіду після його виділення з біологічного матеріалу.
146. Виявлення формальдегіду та ацетону в тканинах, крові та сечі методом мікродифузії.
147. Ацетон. Його властивості, застосування, дія на організм, метаболізм та ізолювання з біологічного матеріалу. Кількісне визначення ацетону.
148. Якісне виявлення ацетону після ізолювання його з біологічного матеріалу.

149. Метиловий спирт. Ізолювання його з біологічного матеріалу. Якісне виявлення.
150. Властивості метилового спирту. Його токсикологічне значення та метаболізм. Кількісне визначення.
151. Властивості і використання етилового спирту. Токсичність, дія на організм. Розподіл в організмі та метаболізм.
152. Ізолювання етилового спирту з біологічного матеріалу. Якісне виявлення. Оцінка результатів аналізу.
153. Використання методу мікродифузії для виявлення метилового та етилового спиртів.
154. Виявлення етилового спирту в напоях і розчинах методом газорідинної хроматографії.
155. Кількісне визначення етилового спирту в крові та сечі методом газорідинної хроматографії.
156. Що таке сивушні масла, їх склад і способи виявлення.
157. Ізоаміловий спирт. Особливості ізолювання. Виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.
158. Особливості хіміко-токсикологічного аналізу біологічних об'єктів на етиленгліколь. Періоди інтоксикації.
159. Сурогати алкоголю: препарати, виготовлені на основі спирту етилового, які містять домішки, що не мають етанолу та представляють собою інші одно- та двоатомні спирти.
160. Фенол. Хіміко-токсикологічне значення. Виділення з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення.
161. Крезолі. Застосування, дія на організм, метаболізм. Виявлення крезолів.
162. Кислота ацетатна. Особливості ізолювання з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.
163. Застосування методу газової хроматографії при аналізі «летких» отрут в біологічному матеріалі.

164. При ізолюванні «летких» отрут колбу з біологічним матеріалом замість водяної бані нагрівали на сітці. До яких наслідків це може призвести?

165. При дистиляції з водяною парою пальник під водяною банею було виключено. Що може статися у цій ситуації?

166. При збиранні першого дистиляту було взято порожню колбу. Яку речовину можна втратити і чому?

167. При виконанні реакції з лужним розчином резорцину утворилося рожеве забарвлення. Які «леткі» отрути будете визначати при подальшому дослідженні?

168. При додаванні до досліджуваного дистиляту розчинів їдкого натру, аніліну і подальшому нагріванні суміші відчувався неприємний запах. Що потрібно робити надалі із сумішшю у пробірці?

169. Реакція дистиляту з реактивом Фелінга позитивна. Які "леткі" отрути можуть реагувати із зазначеним реактивом?

170. Загальні реакції на галогенпохідні «леткі» отрути позитивні. Як в цьому випадку довести присутність хлоралгідрату?

171. При виконанні реакції етерифікації із саліциловою кислотою відчувався специфічний запах. Які речовини з групи «летких» отрут утворюють пахучі ефіри із кислотою саліциловою?

172. Досліджуваний дистилят в кислому середовищі з кислотою фуксинсіркою утворював фіолетове забарвлення. Чи можливе виявлення метанолу в такому випадку? Яка допоміжна підготовка дистиляту необхідна для дослідження метанолу? Якими допоміжними реакціями доведете присутність метанолу?

173. У сечі та крові знайдено етанол. Чи обов'язково виконувати кількісне визначення на алкоголь і чому?

174. В дистиляті знайдено етанол. Чи має судово-хімічне значення реакція утворення метилсаліцилату на метанол в цих умовах?

175. При проведенні реакції на формальдегід з кислотою фуксинсірчасною дистилат забарвився у синьо-фіолетовий колір через 1 годину. Чи можливо зробити висновок про присутність формальдегіду в пробі?

176. В дистилаті знайдено формальдегід та ацетон. Чи можливо застосувати йодометричний метод для кількісного визначення формальдегіду? Запишіть рівняння реакцій.

177. Як необхідно обробити дистилат, перш ніж приступити до дослідження на фенол та спирт ізоаміловий?

178. Визначте фенол в дистилаті в присутності кислоти саліцилової.

179. Визначте фенол в дистилаті в присутності кислоти ацетатної.

Розділ 4. ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ІЗОЛЮЮТЬСЯ ЕКСТРАКЦІЄЮ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ (ПЕСТИЦИДИ)

4.1. Загальні відомості про пестициди. Народногосподарське значення пестицидів. Негативні чинники впливу пестицидів на людину і довкілля

Слово «пестициди» походить від двох латинських слів: *pestis* – зараза, чума; *cido* – вбиваю. Зазначені речовини використовуються для боротьби з різноманітними мікроорганізмами, грибами, комахами, гризунами, бур'янами тощо. Застосування пестицидів у рослинництві сприяє захисту і підвищенню врожайності сільськогосподарських культур.

За підрахунками спеціалістів своєчасне проведення заходів щодо захисту рослин дозволяє зберегти з кожного гектара до 2-3 ц зерна, не менше 5 ц рису.

Застосування пестицидів сприяє подоланню таких захворювань, як малярія, черевний тиф тощо.

Пестициди поряд із позитивними властивостями мають і негативні: вони токсичні для людини і тварин, корисних комах і рослин; деякі нако-

пичуються в навколишньому середовищі, маючи високу стійкість, порушують екологічну рівновагу.

У 1939 р. швейцарський біохімік П. Мюллер випадково синтезував наймогутніший інсектицид ДДТ - дихлордифенілтрихлорметилметан. Оброблена ДДТ білизна зберігала інсектицидний ефект після 6-7-разового прання. Ефект обробки засіків і помешкань зберігався до 4 років. Проте поступово захоплення ДДТ стало змінюватися тривогою. Препарат накопичувався в ґрунті, живих організмах, що населяють землю, зберігався в довкіллі понад 10 років. Стали з'являтися стійкі до нього побутові шкідники. Проник ДДТ і в організм людини.

У всьому світі зафіксовані випадки гострих і хронічних отруєнь токсичними ефірами фосфорних кислот, тобто органічними сполуками, що містять фосфор. Відзначено випадки смертельних отруєнь хлорофосом, карбофосом, трихлорметафосом, фосфамідом і багатьма іншими пестицидами.

4.2. Класифікація пестицидів

Існує кілька типів класифікації пестицидів: за призначенням, за характером проникнення до організму, за хімічною структурою, за токсичністю, за стійкістю в навколишньому середовищі.

Залежно від *призначення* існують: інсектициди, фунгіциди, зооциди, акарициди, нематоциди, бактерициди, гербіциди, регулятори росту, дефоліанти, репеленти, аттрактанти й т. п.

За характером *проникнення до організму* пестициди бувають: контактні, дихальні (фуміганти), кишкові, системні.

За *токсичністю* вони діляться на: особливо токсичні (DL_{50} до 50 мг/кг), високотоксичні (DL_{50} в межах 50–200 мг/кг), середньо - токсичні (DL_{50} в межах 200–1000 мг/кг), малотоксичні (DL_{50} - понад 1000 мг/кг).

За *стійкістю* пестициди бувають: дуже стійкі (період розкладання понад 2 роки), стійкі (6 місяців – 1 рік), помірно стійкі (1–6 місяців), мало-стійкі (1 місяць).

За *хімічною будовою* пестициди поділяють на неорганічні та органічні.

Органічні, у свою чергу, – на органічні сполуки, що містять фосфор (ФОС); хлорорганічні (ХОС); похідні карбамінової кислоти; металоорганічні пестициди, наприклад РВП (ртутьвмісні пестициди); пестициди на основі природних сполук (піретроїди) та ін.

Найзручніша класифікація пестицидів для токсикологічної хімії – *це класифікація за хімічною структурою*.

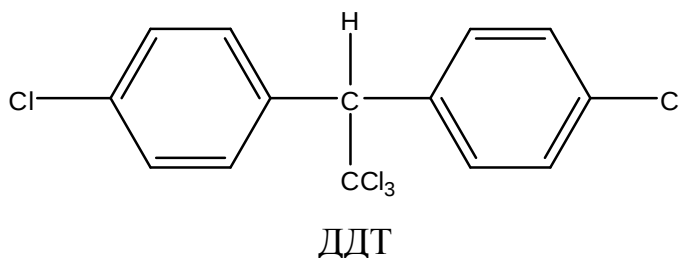
Зупинимося на стислій характеристиці окремих хімічних груп пестицидів.

4.3. Фізико-хімічні властивості, основні закономірності поведінки в організмі, токсична дія груп ХОС і ФОС на організм

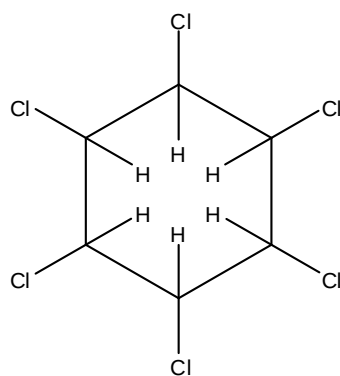
4.3.1 Характеристика ХОС

Хімічна будова. ХОС різноманітні за хімічною будовою, але їх об'єднує наявність атомів хлору в органічній молекулі. Усі ХОС можна поділити на:

а) групу дихлордифенілтрихлорметилметану

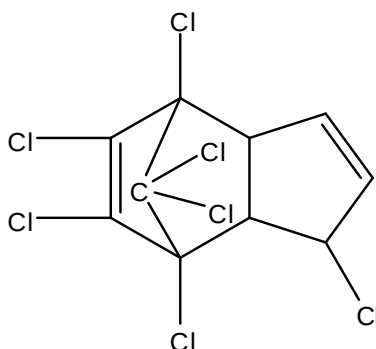


б) групу гексахлорциклогексану (гексахлорану)



ГХЦГ

в) групу поліхлорциклодієнів



гептахлор

Фізико-хімічні властивості. ХОС – тверді речовини, які не розчиняються або незначно (слабко) розчиняються у воді, добре – в органічних розчинниках, леткі, дуже стійкі сполуки. Вони не руйнуються при кип'ятінні, навіть у присутності соди. ХОС – ліпідно-розчинні неелектроліти.

Установлено, що через 7 років після обробки ґрунту в ньому ще зберігається 29 % початкової кількості ХОС, в іншому випадку було визначено 80 % вихідної кількості. ДДТ і деякі інші ХОС можуть зберігатися в ґрунті 10 і більше років. (Стійкість у навколишньому середовищі називають персистентністю). Такі ХОС, як ДДТ, альдрин, дилдрин, заборонені. Заборону на застосування ДДТ у сільському господарстві в колишньому СРСР було введено ще 1968 року.

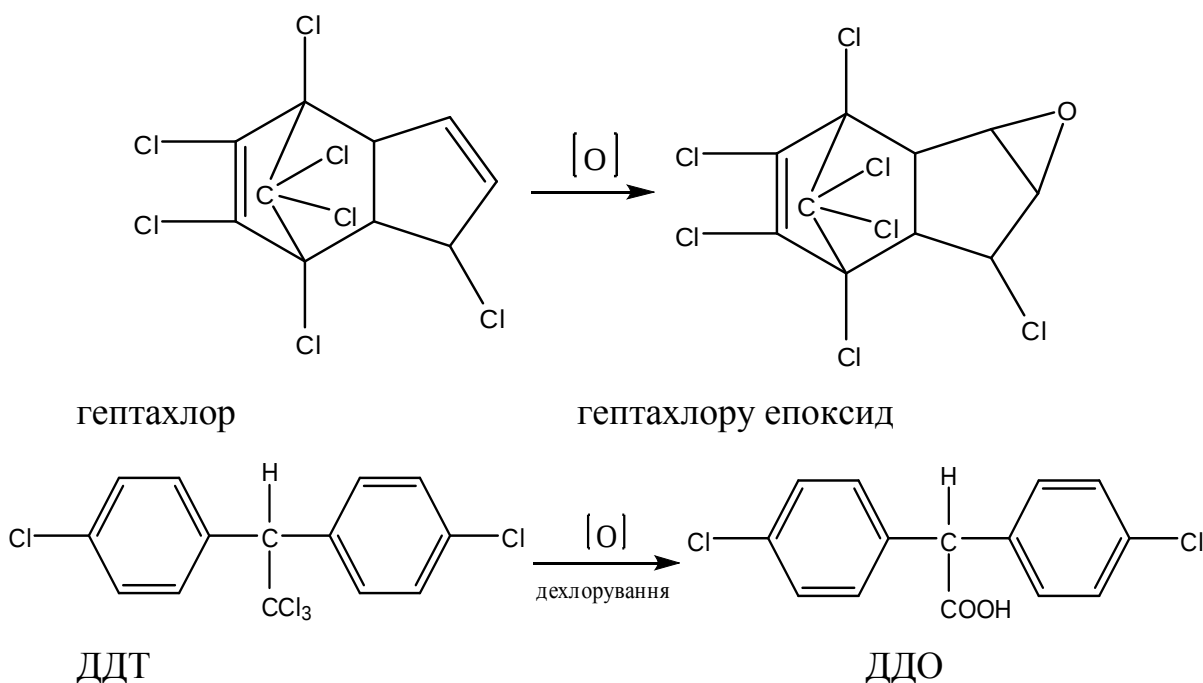
Основні закономірності поведінки в організмі. В організм ХОС надходять через рот з їжею і водою, через дихальні шляхи з повітрям, через шкіру при контакті з пестицидами, також проникають через плаценту від матері до дитини. У літературі описаний випадок отруєння жінки і двох

її дітей віком 1 і 7 років компотом із ягід смородини й агрусу, зібраних з кушів, оброблених ДДТ. Старша дитина померла при явищах гіпертермії та клоніко - тонічних судом. Стан однорічної дитини залишався важким протягом 4 днів, а потім поступово поліпшився. Мати видужала на шосту добу. Описано випадок смертельного отруєння робітника, що пролив собі на одяг суспензію хлордану.

Розподіл в організмі. ХОС накопичуються в тканинах і органах, створюючи в них «депо» пестицидів, переважно в жировій тканині. З «депо» ХОС можуть надходити у кров протягом тривалого часу (іноді кілька років).

Метаболізм. ХОС в організмі піддаються змінам, наприклад, гептахлор перетворюється на гептахлору епоксид, який має ще більшу токсичність, ніж нативна сполука, ДДТ втрачає хлор і перетворюється на дихлордифенілдихлорметилметан (ДДД), потім окислюється з утворенням дихлордифенілоцтової кислоти (ДДО).

Хімізм процесів метаболізму такий:



Виділення. ХОС з організму виділяються із сечею, калом, грудним молоком. У зв'язку з останнім можливе отруєння немовлят материнським молоком.

Механізм токсичного впливу ХОС на організм людини до кінця не встановлений. Вважають, що початковим чинником дії ХОС є пригнічення ферментних систем організму. Відбувається ушкодження мембран клітин внаслідок переокислення ліпідів, а відтак і порушення обмінних процесів.

Летальна доза ХОС коливається від 5 до 60 г.

4.3.2. Характеристика ФОС

Найбільш перспективною, широкого попиту групою пестицидів є група ФОС – органічних сполук із вмістом фосфору.

Хімічна будова ФОС. Усі ФОС є ефірами фосфорних кислот: фосфорної, тіофосфорної, дитіофосфорної, фосфонової, пірофосфорної (табл. 1).

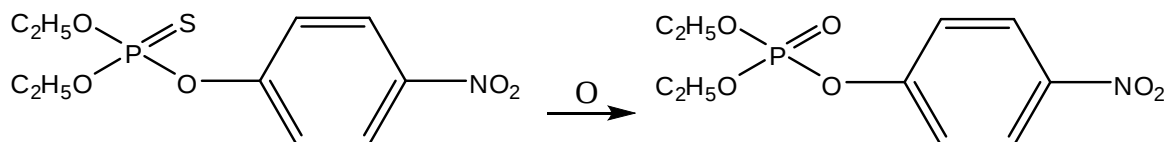
Деякі речовини ФОС

Назва	Формула	Похідна якої кислоти
Хлорофос	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{CO} \diagup \text{P}=\text{O} \\ \text{H}_3\text{CO} \diagdown \quad \quad \quad \text{CHCl}_3 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{OH} \end{array}$	Фосфонової
Параоксан	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{CO} \diagup \text{P}=\text{O} \\ \text{H}_3\text{CO} \diagdown \quad \quad \quad \text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2 \end{array}$	Фосфорної
Метафос	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{CO} \diagup \text{P}=\text{S} \\ \text{H}_3\text{CO} \diagdown \quad \quad \quad \text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2 \end{array}$	Тіофосфорної
Карбафос	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{CO} \diagup \text{P}=\text{S} \\ \text{H}_3\text{CO} \diagdown \quad \quad \quad \text{S}-\text{CH}-\text{COOC}_2\text{H}_5 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{CH}_2-\text{COOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	Дитіофосфорної
Октаметил	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \diagup \text{N} \diagdown \quad \quad \quad \text{O} \\ \text{H}_3\text{C} \diagup \text{P} \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{O} \\ \text{H}_3\text{C} \diagdown \text{N} \diagup \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{O} \\ \text{H}_3\text{C} \diagdown \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{N} \diagup \text{CH}_3 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{CH}_3 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{CH}_3 \end{array}$	Пірофосфорної

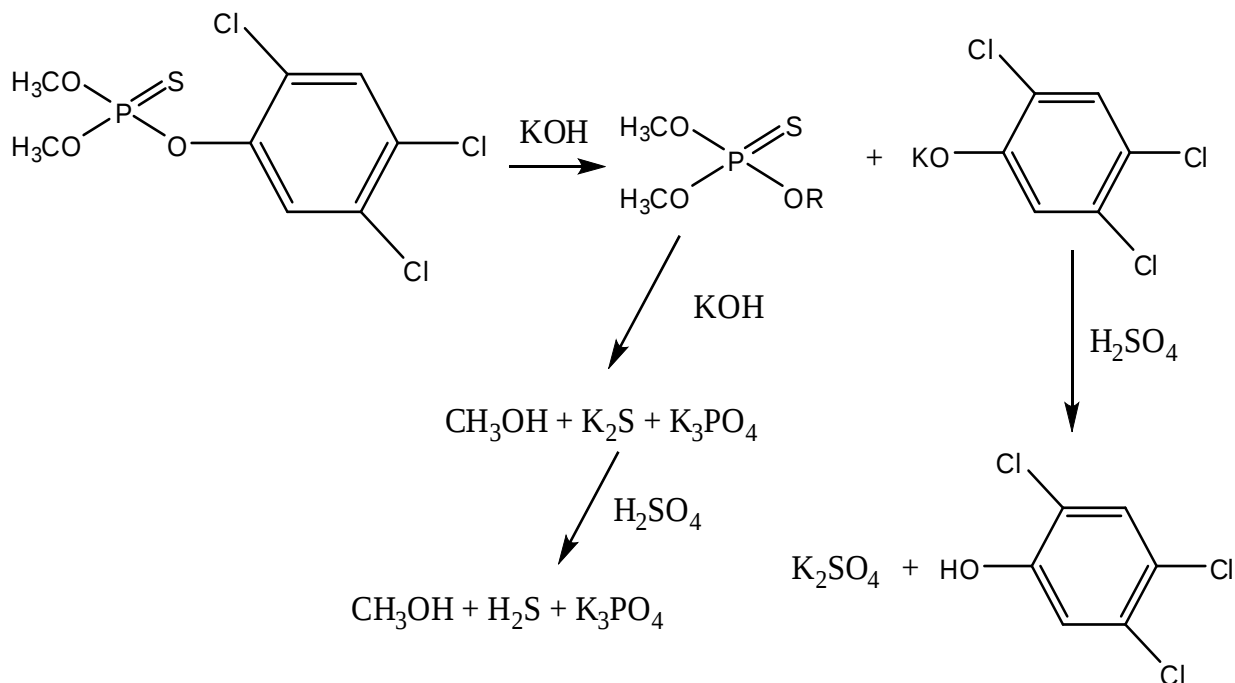
Фізико-хімічні властивості ФОС. Більшість ФОС при кімнатній температурі – речовини рідкі, в'язкої консистенції, жовтуватого кольору, добре розчиняються в органічних розчинниках, погано – у воді, леткі. Неочищені препарати мають сильний запах часнику. Деякі речовини бувають кристалічними і можуть розчинятись у воді, наприклад хлорофос.

ФОС легко гідролізуються, особливо в лужному середовищі. Наприклад, трихлорметафос при нагріванні з розчином калію або натрію гідроксиду поводитьсь таким чином:

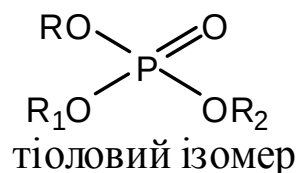
Можливі зміни ФОС під дією ферментів організму з утворенням більш токсичних продуктів (при окисленні):



У жорстких умовах процес окислення відбувається аж до утворення неорганічних сполук.



Для похідних тіофосфорної кислоти характерна тіон-тіольна ізомерія:



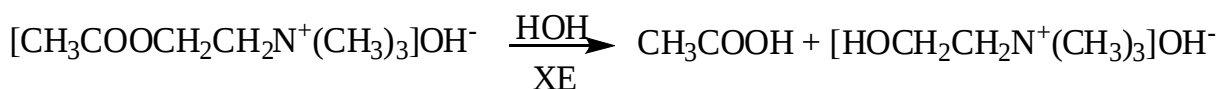
4.3.3 Основні закономірності поводження ФОС в організмі

Надходження. В організм ФОС потрапляють через рот, органи дихання, шкіру, слизові оболонки.

Розподіл: печінка, нирки, мозок, легені. Найбільша кількість – у печінці та нирках. ФОС швидко руйнуються і виводяться з організму, не створюючи «депо», як ХОС.

Метаболізм. ФОС окислюються і гідролізуються в організмі. При гідролізі утворюються нетоксичні продукти, при окисленні можуть утворитись більш токсичні речовини (приклад наведено вище). Виділяються ФОС і продукти їх метаболізму із сечею, частково з калом, з грудним молоком.

Токсична дія. Усі ФОС у більшій або меншій мірі інгібують фермент холінестеразу, яка є каталізатором процесу гідролізу ацетилхоліну до холіну й оцтової кислоти.



При отруєнні ФОС в організмі накопичується ацетилхолін – передавач нервових імпульсів, чим і обумовлений симптомокомплекс отруєння.

Розрізняють чотири ступені отруєння ФОС: *легкий*, коли відбувається пригнічення холінестерази на 50 %, *середній* (пригнічення холінестерази на 60–70 %), *важкий* (на 80–90 %) і *смертельний* (95–99 %).

Закінчуючи стислу характеристику ФОС, слід зазначити, що всі вони мають функціональну кумуляцію, тобто спостерігається посилення токсичної дії при повторних впливах на організм.

Найбільш достовірним підтвердженням діагнозу отруєння ХОС або ФОС є результат хіміко-токсикологічного аналізу.

4.4. Методи хіміко-токсикологічного аналізу об'єктів біологічного походження на хлорорганічні і фосфорорганічні сполуки

Направленість аналізу. При загальному дослідженні на невідомому отруту хіміко-токсикологічний аналіз на ФОС обов'язковий, на ХОС – проводиться в тих випадках, коли є спеціальні вказівки або з'явилися якісь свідчення в процесі дослідження біологічних об'єктів, що зумовлюють необхідність аналізу на ХОС.

Об'єкти дослідження на ФОС: шлунок із вмістом, печінка з жовчним міхуром, нирка, тонкий і товстий кишечник із вмістом, кров, сеча.

При інгаляційному отруєнні в усіх випадках беруть легені, а за деякими рекомендаціями і мозок.

Об'єкти дослідження на ХОС: шлунок із вмістом, печінка, нирка, мозок, жирова тканина (сальник).

Терміни проведення аналізу. Рекомендується розпочинати аналіз удень надходження об'єктів. Якщо такої можливості немає, то можна зберігати об'єкти в холодильнику до 3 діб, а після ізолювання пестицидів екстракти з ФОС – не більше 5 діб, із ХОС – 10 діб при температурі від +2 до +4 °С.

Об'єкти дозволяється консервувати етанолом, рівень якого над внутрішніми органами у склянках повинен бути висотою не менше 1 см.

Крім органів і біологічних рідин людини чи тварин, об'єктами аналізу на пестициди можуть бути: препарати пестицидів, продукти харчування, вода, повітря, фураж.

Основні етапи хіміко-токсикологічного дослідження на пестициди:

- відбір і підготовка проб;
- ізолювання пестицидів;
- очищення від співекстрактивних речовин;
- ідентифікація і кількісне визначення пестицидів. Методи аналізу мають бути високочутливими і специфічними.

Методи ізолювання пестицидів. Існує велика кількість методик ізолювання пестицидів з об'єктів рослинного і тваринного походження, їх різноманітність пояснюється тим, що як об'єкти, так і аналізовані сполуки мають різні властивості. Для ізолювання пестицидів використовують методики, в основу яких покладено процес екстракції отрут органічними розчинниками (гексаном, ефіром, хлороформом) або метод дистиляції з водяною парою.

При дослідженні об'єктів тваринного походження перед екстракцією ФОС рекомендується робити осадження білків для руйнування протеїн-фосфоліпідних зв'язків і звільнення жиру, а потім екстракцію ФОС із жиру органічними розчинниками. Метод екстракції пестицидів органічними розчинниками придатний для ізолювання всіх ФОС і ХОС, метод дистиляції з водяною парою – для найбільш летких пестицидів, наприклад, гексахлорциклогексану.

Методи очистки екстрактів. Для очистки ФОС і ХОС найчастіше застосовують такі методи:

- екстракційний;
- хроматографічний;
- поєднання екстракційного і хроматографічного;
- виморожування жиру.

Інші методи, такі як перегонка з водяною парою, сублімація у вакуумі, діаліз, використовуються вкрай рідко.

Джоне і Рідік вивчали розподіл пестицидів між ацетонітрилом та гексаном і встановили, що гексан і ацетонітрil є придатною системою розчинників для очищення пестицидів від суми супутніх домішок, виділених з біологічного матеріалу: жирів, восків, пігментів. Крім зазначеної системи, з метою очищення пестицидів можуть бути використані такі пари розчинників як петролейний ефір–ацетонітрil, гексан–диметилформамід.

Хроматографічні методи очищення включають адсорбційну колонкову хроматографію, хроматографію на папері, у тонкому шарі сорбенту.

Останній метод знайшов найширше застосування. Система з рухомою фазою гексан–ацетон у різноманітних співвідношеннях рекомендується для очистки екстрактів, що містять ФОС. На нерозчинності жирів і восків у холодному ацетоні заснований метод очищення пестицидів від зазначених речовин. Виморожені речовини відокремлюють фільтруванням, а пестицид залишається в ацетоновому фільтраті.

Оцінюючи методи очистки, можна відзначити простоту і доступність екстракційного методу в поєднанні з методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту.

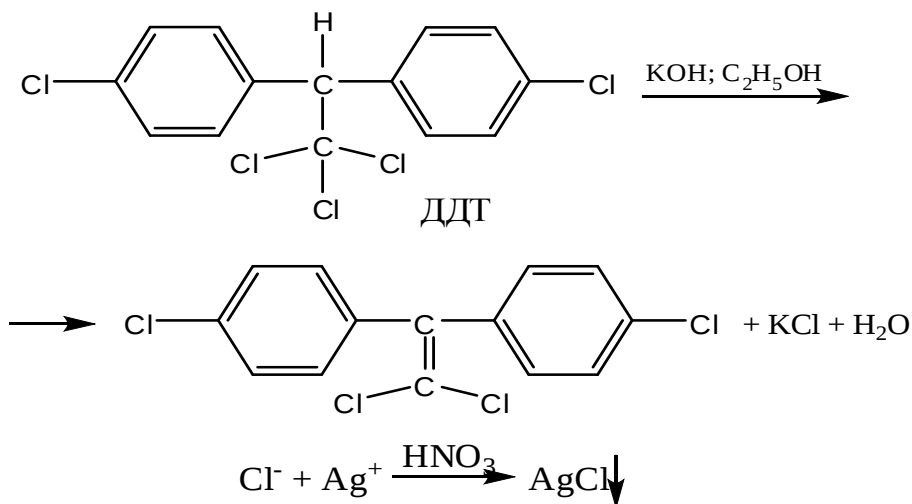
4.5. Методи виявлення пестицидів групи ХОС і ФОС

Для аналізу екстрактів використовують такі методи дослідження: хімічний, біохімічний, тонкошарової хроматографії, газо-рідинної хроматографії.

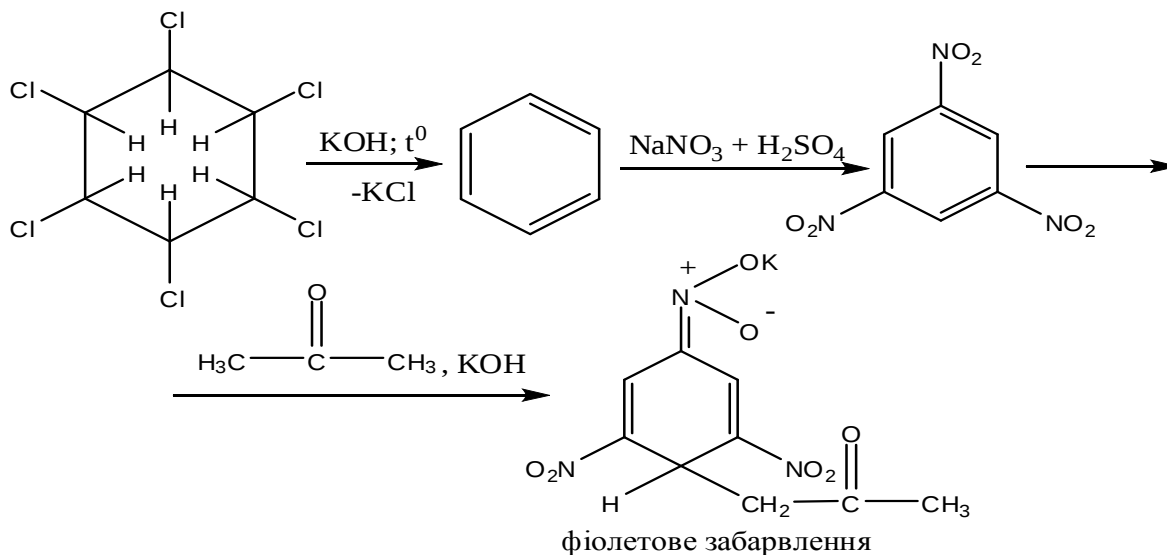
Інші методи, зокрема спектральні в УФ- та ІЧ-областях, використовують досить рідко.

4.5.1. Хімічний метод

ХОС визначають за хлором – переводять ковалентне зв'язаний хлор в іонний стан, після чого виконують реакцію на хлорид-іон з срібла нітратом в азотнокислому середовищі:



ХОС визначають за реакцією утворення *аци*-солі хіноїдної будови після проведення дехлорування і нітрування бензольного кільця з подальшим додаванням до *м*-динітробензолу краплями ацетону і калію гідроксиду.



Обидві реакції неспецифічні для ХОС і не мають достатньої чутливості, щоб виявляти залишкові кількості хлорорганічних пестицидів, скажімо, у продуктах харчування.

Для виявлення ФОС із хімічних реакцій найбільше практичне застосування знайшли такі реакції – на фосфор і гідроперекисна проба.

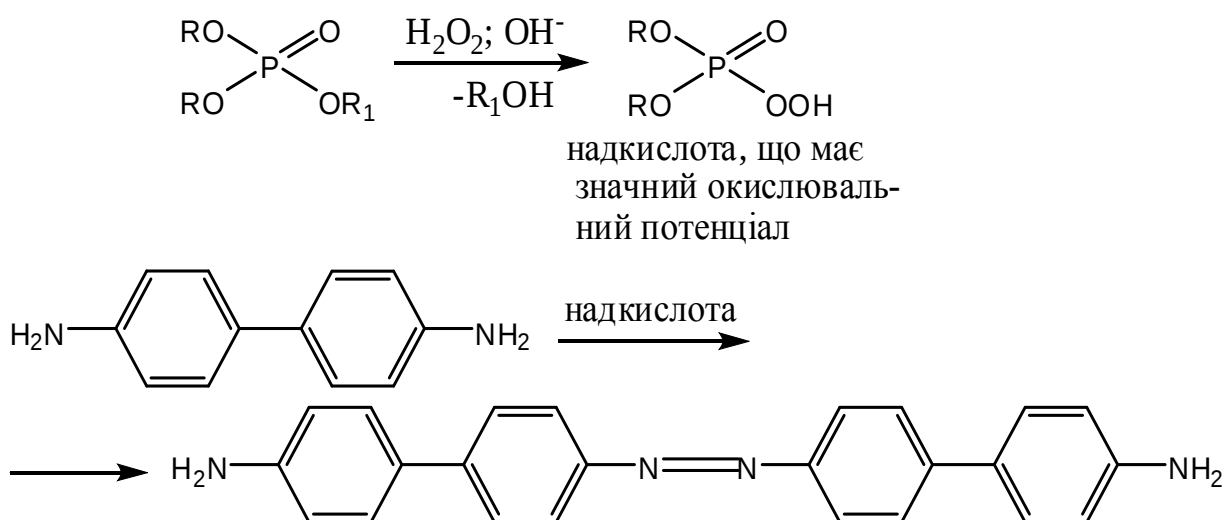
ФОС за фосфором визначають після мінералізації пестицидів до фосфат-іона. Проводять реакцію з амонію молібдатом в присутності відновлювачів – утворюється фосфорно-молібденова синь. Реакція високочутлива і загальна для ФОС.

$\text{H}_7\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6$ – фосфорно-молібденова кислота,

$\text{MoO}_3 \cdot \text{Mo}_2\text{O}_5 + n\text{H}_2\text{O}$ – молібденова синь,

$(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – фосфорно-молібденова синь.

Другою загальною чутливою реакцією на ФОС є гідроперекисна проба, в результаті якої утворюється азобарвник:

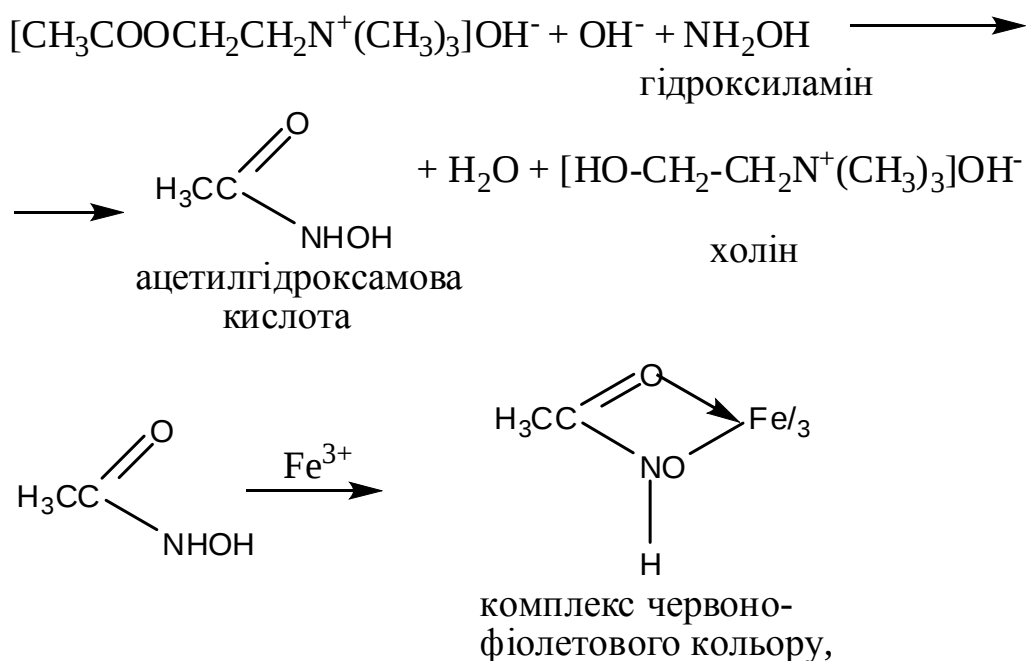


4.5.2. Біохімічний метод

Біохімічний метод використовується для виявлення ФОС за зміною швидкості гідролізу ацетилхоліну (можна взяти інший ефір) до і після контактування з ФОС. Чим більша активність холінестерази, тим швидше йде гідроліз ацетилхоліну (при цьому більше виділяється оцтової кислоти) – тим нижче буде значення рН середовища. На зміну рН середовища реагують індикатори, зокрема, бромтимоловий синій у буферному розчині. Він у присутності оцтової кислоти змінює синє забарвлення на зелене, а потім на жовте. Описано також модифікації вказаного методу. У деяких випадках проводять виявлення не за оцтовою кислотою, а за незруйнованим ацетилхоліном, що залишився. Так поводяться при аналізі ФОС за методом Хестріна при дослідженні крові.

Хімізм процесів, що відбуваються при аналізі крові на ФОС за методом Хестріна, такий:

$$\lambda_{\text{max}} = 520 \text{ нм}$$



Біохімічна проба є загальною для ФОС і високочутливою. Однак вона неспецифічна для зазначених сполук. Цю пробу можуть давати севін та інші речовини, що пригнічують холінестеразу. Пригнічення ферменту може спостерігатися при ряді захворювань: цирозі печінки, анемії тощо.

Аналіз найкраще починати з біохімічного дослідження. У разі негативного результату – дослідження на ФОС припиняють з огляду на високу чутливість проби.

4.5.3 Хроматографічні методи виявлення ХОС і ФОС

Метод ТШХ

Для аналізу пестицидів широко практикують ТШХ-метод. Він доступний, ефективний, дає можливість не тільки встановити належність досліджуваних речовин до ФОС або ХОС, але і зробити їх надійнішу ідентифікацію, включаючи нативні речовини та їх метаболіти.

Розділення ХОС проводять, використовуючи різні системи розчинників і спільний проявник: водно-ацетоновий розчин срібла аміакату і УФ-випромінювання – спостерігаються сіро-чорні плями на хрома-тотрамах. Чутливість виявлення: 0,5–10 мкг в аналізованій пробі.

Як систему для аналізу ФОС найчастіше беруть суміш гексан– ацетон (4:1 або інші співвідношення розчинників). Проявлення хроматограм проводять різноманітними реактивами:

- молібденовим (за фосфором) – утворюються сині плями на білому тлі;
- розчином 2,6-дибром-N-хлор-*n*-хіноніміну в циклогексані – утворюються жовті або коричневі плями при наявності сірковмісних пестицидів.

Застосовуються й інші проявники.

Метод газо - рідинної хроматографії

Даний метод для розділення та виявлення ХОС і ФОС найбільш чутливий і ефективний.

При аналізі пестицидів використовують детектори:

- пламеневі-іонізаційний;
- електронозахоплюючий;
- термоіонний.

При визначенні пестицидів зазначеним методом потрібне ретельне очищення екстрактів від супутніх домішок, інакше колонка хроматографа буде швидко виведена з ладу, а на хроматограмах з'являтимуться додаткові піки.

Метод ГРХ доцільніший для попереднього дослідження на ФОС або ХОС при ненаправленому аналізі, а у спрямованому дослідженні – як основний метод аналізу вказаних пестицидів. При використанні сорбенту хроматон-N-супер і електронозахоплюючого детектора за певних умов можливо визначити 10^{-9} – 10^{-12} г ФОС в аналізованій пробі.

4.5.4. Методи кількісного аналізу ФОС і ХОС

При виявленні пестицидів обов'язково проводиться їх кількісне визначення. Для цього вдаються здебільшого до фізико-хімічних, біохімічних

методів і методу газо-рідинної хроматографії. З фізико-хімічних методів частіше застосовують фотоколориметричний метод, заснований на одержанні комплексу синього кольору з амонію молібдатом в присутності відновника після мінералізації ФОС. Біохімічні методи ґрунтуються на зміні швидкості реакції гідролізу ацетилхоліну до і після контактування з ФОС або визначенні залишку ацетилхоліну, що не гідролізувався, ре реакцією з гідроксиламіном у лужному середовищі і заліза (III) хлоридом. Останній метод високочутливий, але на відміну від хімічного визначення потребує дорогих реактивів. Метод газо-рідинної хроматотрафії для визначення ФОС базується на прямій залежності висоти піка від кількості ефіру в аналізованій пробі. Він високочутливий і специфічний при застосуванні селективних детекторів (на фосфор), але не завжди доступний. Кількісне визначення ХОС проводять об'ємними методами (йодометричним, аргентометричним), методом ГРХ або денситометрично (ТПХ).

Хіміко-токсикологічна оцінка результатів дослідження.

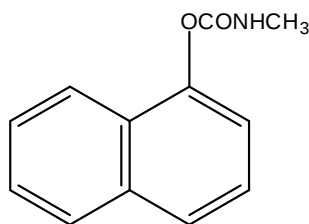
Біохімічне дослідження на ФОС одночасно із ТПХ або ГРХ дає можливість надійно визначити не тільки належність пестициду до певної групи, але й ідентифікувати конкретну речовину в об'єкті дослідження. Негативний результат аналізу не виключає можливість отруєння ФОС у зв'язку з такими явищами, як природне виведення отрути з організму, руйнування отрути під дією вологи, тепла, дезінтоксикаційними засобами тощо.

4.6. Методи хіміко-токсиколопчного аналізу об'єктів біологічного походження на пестициди - похідні карбамінової кислоти

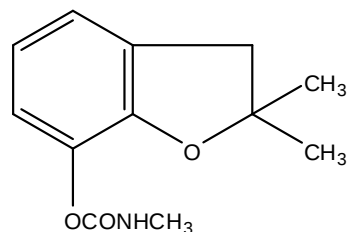
Похідні карбамінової кислоти потрібні в різних галузях народного господарства, передусім як інсектициди, акарициди, гербіциди, фунгіциди і бактерициди.

Найбільше серед арилових ефірів N-метилкарбамінової кислоти відомі карбарил, карбофуран, пропоксур, тиурам D і деякі інші препарати, які

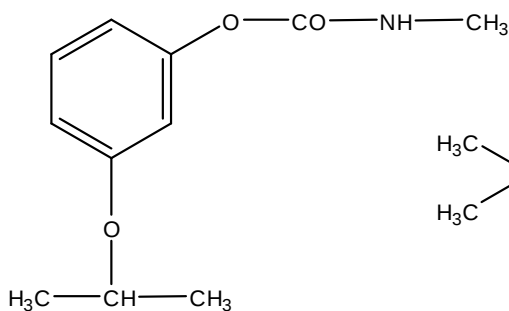
виробляються промисловістю у великих кількостях. Але найширше застосування в народному господарстві знайшов карбарил (севін).



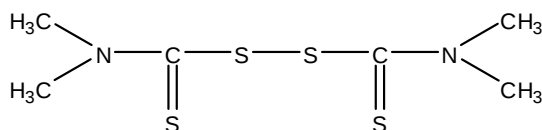
карбарил (севін)



карбофуран



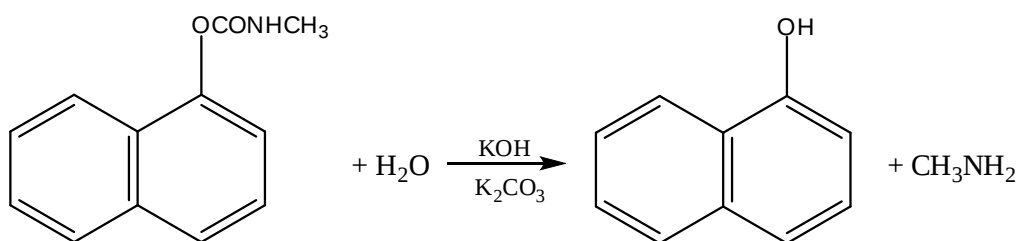
пропексур



турамін D

Характеристика карбарилу. За хімічною будовою карбарил (севін, арилат, ветокс, динаком, карбамат, карботокс, севінокс) – 1-нафтил-М-метилкарбамат.

Карбарил – біла кристалічна сполука (т. пл. 142 °С) слаборозчинна у воді (менше 0,1 % при 20 °С), добре розчиняється у більшості органічних розчинників. При кімнатній температурі стійкий до дії кисню повітря і світла, у лужному середовищі швидко гідролізується:



Поводження карбарилу в організмі. Карбарил швидко всмоктується в шлунку. Через 5 хв. після надходження до шлунка він з'являється у крові, а через 30 хв. спостерігається максимальне накопичення його в органах.

Через 2–3 доби після потрапляння до організму карбарил у біологічному матеріалі не виявляється.

Основні напрями метаболічних перетворень карбарилу – це окислення та гідроліз. Основні метаболіти карбарилу: *o*-(4-гідрокси-нафтил-1)-*m*-метилкарбамат, *o*-(5-гідроксинафтил-1)-*m*-метил-карбамат, *o*-(7-гідроксинафтил-1)-*m*-метилкарбамат, *N*-гідрокси-метил-*o*-(нафтил-1)-карбамат та нафтол-1.

Виділення карбарилу з біологічного матеріалу. З цією метою використовують метод, заснований на настоюванні біологічних об'єктів з бензолом. Після цього органічний розчинник відганяють до сухого залишку, який розчиняють у невеликому об'ємі етилового спирту. Отриманий розчин використовують для ідентифікації та кількісного визначення карбарилу.

Методи виявлення карбарилу. Для виявлення карбарилу використовують кольорові реакції і хроматографічні методи.

Реакція з пікриною кислотою. З 1 %-ним розчином пікринової кислоти карбарил утворює темно-жовті кристали, зібрані у пучки.

Реакція із сумішшю міді (II) хлориду і натрію бромиду. При підлученні розчину карбарилу натрію гідроксидом і подальшому нагріванні розчину в пробірці на водяній бані (55 °C) з повітряним холодильником протягом 10 хв. і подальшому додаванні розчину хлористоводневої кислоти до рН = 5 – 6 та свіжоприготованої суміші міді (II) хлориду і калію бромиду (при нагріванні) – утворюється синьо-фіолетове забарвлення.

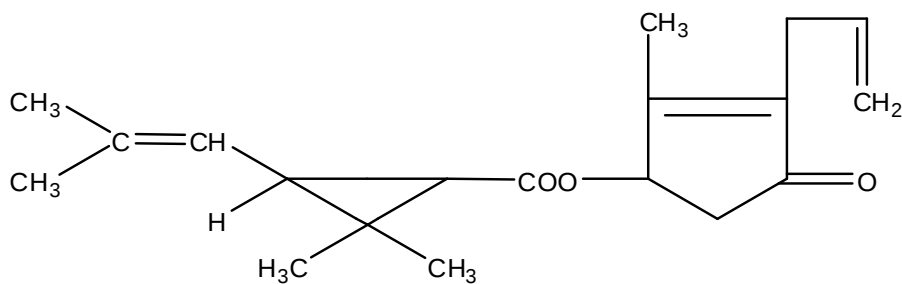
Виявлення карбарилу за допомогою ТШХ. На пластинках карбарил виявляють за реакцією утворення азобарвника (при обробці пластини розчином діазотованої сульфанілової кислоти). Карбарил утворює плями, забарвлені в червоний колір.

Виявлення та кількісне визначення карбарилу методом ГРХ. Нерухома фаза ДС-550 в інтервалі температур від 140 до 160 °C у режимі програмування.

4.7. Хіміко-токсикологічне дослідження біологічних об'єктів на групу аліциклічних карбонових кислот (похідні циклопропан-карбонової кислоти - піретроїди)

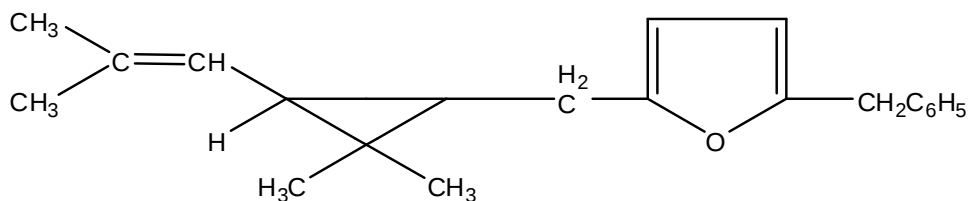
Загальна характеристика піретроїдів. З похідних циклопропанкарбонової кислоти найбільше практичне значення мають природні сполуки – піретрини та їх синтетичні аналоги. Природний піретрин з квітів ромашки далматської складається із суміші шести продуктів, які є складними ефірами хризантемової або піретринової кислот (за карбоксильною групою при С-атомі циклу) та аліциклічних кетоспиртів піретролону, жасмолону та цинеролону.

У промислових масштабах виробляються синтетичні аналоги піретринів (піретроци). Серед них розрізняють піретроїди першого покоління (близькі за будовою до природних, наприклад алетрин),



алетрин

піретроїди другого покоління (похідні хризантемової кислоти, наприклад ресметрин)

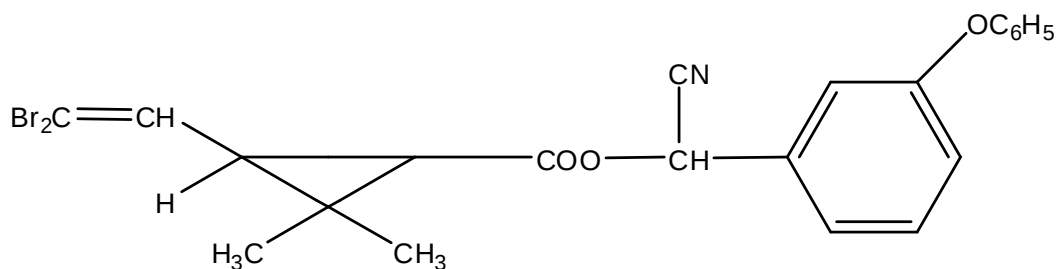


ресметрин

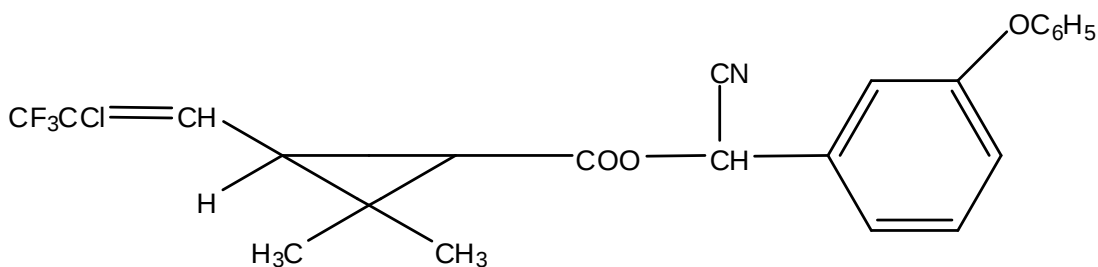
і піретроїди третього покоління (естери кислот 2-дихлоретенил-3,3-диметилциклопропанкарбонової, так званої перметринової кислоти, 2-

диброметенил-3,3-диметилциклопропанкарбонової та арилізовалеріанової).

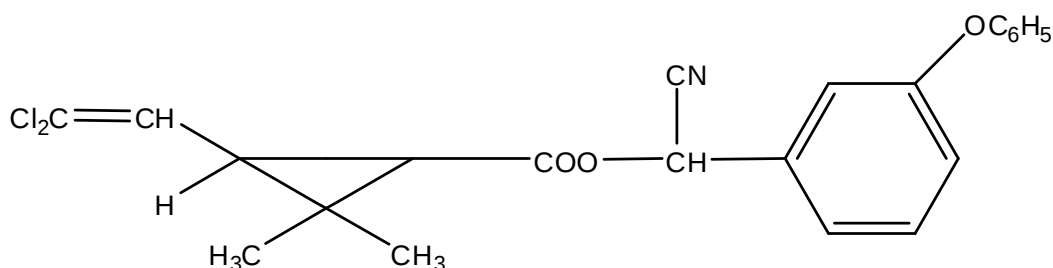
Деякі найважливіші піретроїди третього покоління наведені нижче:



децис (дельтаметрин) *цис*-ізомер



цигалотрин (карате)



цимбуш (циперметрин, рипкорд)

Фізико-хімічні властивості. Піретроїди – тверді речовини, добре розчиняються в органічних розчинниках – ацетоні, хлороформі, гексані, бензолі та ін. Препарати піретроїдів не розчинні у воді.

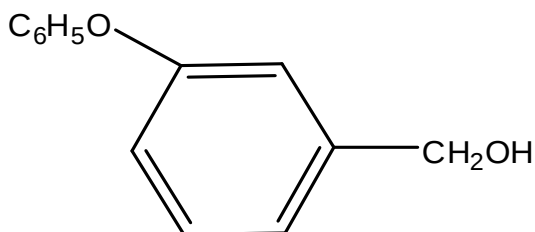
Єдине, що обмежує використання піретринів (особливо ефірів хризантемової кислоти), – їх низька фотохімічна стабільність: під дією світла бічний ланцюжок хризантемової кислоти легко піддається окисленню з утворенням сполук, які не мають інсектицидних властивостей. Підвищену фотохімічну стійкість мають піретроїди третього покоління.

Синтетичні піретроїди третього покоління виявляють високу інсектицидну активність відносно багатьох шкідливих комах, що обумовлює ни-

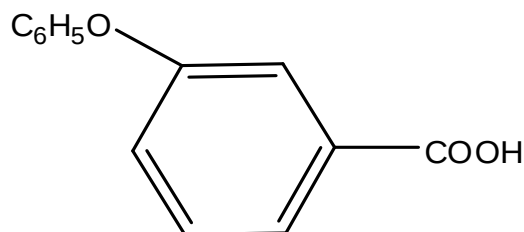
зську норму витрат цих препаратів і досить помірну токсичність для теплокровних тварин.

Основні закономірності поведження в організмі. При введенні до організму тварин піретроїди надходять до жирових відкладень і мозку. З жирових тканин вони виводяться протягом 3–4 тижнів, а з мозку – значно швидше. Чим отруйніший препарат, тим швидше він виводиться з організму тварин.

Метаболізм. Головним метаболітом майже усіх синтетичних піретроїдів третього покоління є *м*-феноксибензиловий спирт та *м*-феноксибензойна кислота.



м - феноксибензиловий спирт



м - феноксибензойна кислота

Механізм токсичної дії піретроїдів в організмі тварин на молекулярному рівні вивчено недостатньо.

Методи виявлення та кількісного визначення піретроїдів. Для ідентифікації цих пестицидів найчастіше використовують метод ТШХ (хроматографія зі «свідками», проявник – розчин срібла нітрату з подальшою обробкою УФ-світлом). Піретроїди виявляються у вигляді плям сіро-чорного кольору.

Для виявлення та кількісного визначення піретроїдів придатний також метод ГРХ (нерухома фаза SE-30, нанесена на хрома-тон N-AW. Рухома фаза – азот особливої чистоти).

4.8. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі

180. Загальні поняття про пестициди та їх значення для народного господарства і охорони здоров'я.

181. Класифікація пестицидів.
182. Методи, які використовуються для ізолювання пестицидів.
183. Ензиматичний метод виявлення ФОС. Його значення для хіміко-токсикологічного аналізу.
184. Фосфорорганічні пестициди (метафос, трихлорметафос, карбофос). Ізолювання з об'єктів рослинного та тваринного походження, очистка, виявлення та кількісне визначення. Антидоти.
185. Хлорофос. Ізолювання хлорофосу та його метаболітів з біологічного матеріалу, очистка, виявлення та хімічний метод кількісного визначення. Оцінка результатів аналізу. Токсикологічне значення.
186. Хлорорганічні пестициди. Особливості ізолювання з об'єктів рослинного та тваринного походження. Токсикологічне значення.
187. Гексахлорциклогексан. Особливості ізолювання з біологічного матеріалу. Очистка, виявлення. Токсикологічне значення.
188. Гептахлор. Особливості ізолювання з об'єктів тваринного і рослинного походження, очистка, виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.
189. Пестициди, похідні карбамінової кислоти. Загальні методи ізолювання. Токсикологічне значення.
190. Севін. Ізолювання з біологічного матеріалу, очистка, якісний та кількісний аналіз. Токсикологічне значення.
191. Меркурієвмісні пестициди в хіміко-токсикологічному відношенні.
192. Класифікація меркурієвмісних пестицидів. Особливості поведінки алкілртутних солей в організмі людей та тварин.
193. Етилмеркурхлорид та його фунгіцидні препарати. Судово-хімічна експертиза отруєнь фунгіцидними препаратами, які вміщують етилмеркурхлорид.

194. Виберіть найбільш відповідний екстрагент (хлороформ, естер, гексан) для фосфоровмісних органічних пестицидів при аналізі об'єктів, багатих на жир. Поясніть вибір екстрагента.
195. Які пестициди будете визначати у витяжці з біологічного матеріалу за умов позитивної біохімічної проби на ФОС?
196. При дослідженні витяжки з біологічного матеріалу одержали позитивну пробу на пригнічення холінестерази, результат аналізу на фосфат-іон негативний. Який можна зробити висновок?
197. Доведіть наявність метокси- та етоксигрупи в естерах фосфорних кислот.
198. Проведіть аналіз витяжок із біологічного матеріалу на хлорофос та трихлорметафос при їх сумісній присутності.
199. Проведіть аналіз витяжок із біологічного матеріалу на карбофос та метафос при їх сумісній присутності.
200. Як проводиться дослідження ФОС за допомогою біохімічного методу. Значення даної реакції для подальших досліджень.
201. Доведіть наявність органічно зв'язаного хлору в гексахлорциклогексані та гептахлорі.
202. Як відрізнити гептахлор від гексахлорциклогексану при сумісній присутності хімічним методом?
203. Як відрізнити гептахлор від гексахлорциклогексану за допомогою методу хроматографії в тонкому шарі сорбенту?
204. Які методи кількісного визначення використовуються при аналізі ХОС і ФОС? Наведіть найбільш чутливий метод.
205. Методи ізолювання пестицидів – піретроїдів з органів трупа, біологічних рідин і продуктів харчування.
206. Характеристика і хіміко-токсикологічний аналіз пестицидів – піретроїдів (перметрин, декаметрин, циперметрин).
207. Негативна дія пестицидів на здоров'я людини і стан навколишнього середовища. Проблема залишкових кількостей пестицидів. Спосо-

би профілактики отруєнь пестицидами.

208. На хіміко-токсикологічний аналіз доставлені кров, сеча та волосся постраждалого. Відомо, що чоловік 28 років, обприскував інсектицидом верхівку яблуні, заходжуючись на дробині. Засобів індивідуального захисту на ньому не було. Оступившись на перекладині дробини, він впав та отримав важку травму хребта. Постраждалий був доставлений в найближчу лікарню, де чергував молодий лікар. В очікуванні спеціалізованої бригади швидкої допомоги лікар, спостерігаючи страждання пацієнта, назначив йому сильнодіюче знеболювальне. За 3 години після цього випадку біорідини постраждалого були передані для проведення хіміко-токсикологічного аналізу (ХТА). По результат ХТА встановлено, що інсектицид (токсикант №1) відноситься до групи поліхлорциклодієнів. Продуктом його метаболізму є сполука, яка має у своїй структурі епоксигрупу. Знеболюючий лікарський препарат – це сіль алкалоїда, аніоном якої хлорид-аніон. УФ-спектр алкалоїда основи: максимум поглинання при 285 нм в 0,1 н . HCl та максимумами поглинання при 205 і 298 нм в 0,1 н NaOH. ІК-спектр солі алкалоїда: смуги поглинання при 1460, 1449, 1444, 1409, 1224, 1076, 787 cm^{-1} . При проведенні тонкошарової хроматографії лікарську речовину можна було виявити за допомогою реактива Маркі – красно-фіолетове забарвлення, реактивом Фреде – фіолетове забарвлення, яке переходить у світло-рожеве, реактивом Манделіна – фіолетове забарвлення, яке переходить у блідно-рожеве. В сечі виявлені 6-моноацетилморфін, морфін, морфін-3-глюкуронід. Вміст морфіну перевищував дозу введеного сильнодіючого знеболювального. Чим це пояснити? Яка речовина явилась токсикантом №2. Наведіть схему ХТА представлених об'єктів.

209. Для проведення ХТА доставлені: кров і сеча, флакон із залишками інсектициду. Обставини справи. Сім'я з дитиною 12 років брала участь в пікніку в горах. Відпочинок супроводжувався застосуванням інсектициду. До вечора пішов сильний дощ, було вирішено повернутися в місто. Несподівано дорогу перегородив невеликий селевий потік. Всім дорос-

лим членам сім'ї довелося розчищати дорогу. Дитина заснула, і її залишили в машині, включивши опалювання. Через 2 г дорослі повернулися і побачили, що дитині погано. Його винесли з машини. У дитини почалися блювота, шлунково-кишкові болі. Повернувшись до машини, хлопчик скаржився на сильний головний біль, надмірне потовиділення, утруднене дихання, нечіткість зору. При в'їзді до міста знепритомніла і була доставлена в лікарню. З моменту виявлення симптомів отруєння минуло близько 2 ч. До цього часу шкіра обличчя була синьо-багрового кольору, а видимі слизові оболонки – малиново-червоного відтінку.

Інформація. У пробах з таніном і фεροціанідом калія кров дитини зберігала рожевий колір (попередня проба на токсикант № 1). Подальші дослідження підтвердили отруєння дитяти токсикантом № 1. За результатами ХТА в крові хлопчика сліди речовини, що інгібує холіноестеразу (токсикант № 2). $T_{1/2}$ токсиканта № 2 для людей не встановлені. У флаконі знаходився інсектицид (токсикант № 2), продуктами окислення і гідролізу якого є: α -нафтол, формальдегід, амоніак, вуглекислий газ. Провести ХТА представлених біооб'єктів.

Розділ 5. ГРУПА РЕЧОВИН, ЯКІ ІЗОЛЮЮТЬСЯ ПОЛЯРНИМИ РОЗЧИННИКАМИ (ПІДКИСЛЕНИМ СПИРТОМ АБО ПІДКИСЛЕНОЮ ВОДОЮ)

5.1. Загальна характеристика групи. Фізичні та хімічні властивості речовин

До групи речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу полярними розчинниками (водою, спиртом), належать лікарські речовини рослинного походження (алкалоїди) і синтетичні препарати (саліцилова кислота та її похідні, барбітурати, похідні піразолону, фенотіазину, 1,4-бензодиазепіну та ін.). Лікарські препарати мають різну дію на організм (наркотичні і не-

наркотичні анальгетики, нейролептики, спазмолітики, анестетики, снодійні речовини тощо).

«Лікарські» отрути посідають одне з перших місць серед токсичних речовин за кількістю смертельних отруєнь, що обумовлено:

- доступністю препаратів в аптечній мережі, в рослинах;
- передозуванням лікарських препаратів;
- самолікуванням хворих;
- індивідуальною несприйнятністю окремих препаратів;
- поєднанням з алкоголем та іншими лікарськими препаратами, що сповільнює метаболізм, потенціює токсичну дію речовин;
- явищами наркоманії і токсикоманії;
- випадками суїциду.

За фізико-хімічними властивостями «лікарські» отрути – це переважно білі чи жовтуваті кристалічні порошки, які характеризуються різною розчинністю, кислотно-основними властивостями.

У полярних розчинниках – воді, спирті – добре розчинні солі речовин кислого й основного характеру (солі алкалоїдів, імідольна форма барбітуратів), які утворюють заряджені іони в розчинах.

В органічних розчинниках – хлороформі, ефірі – добре розчинні лікарські речовини в неіонізованій формі (основи алкалоїдів, імідна форма барбітуратів).

Окремі «лікарські» отрути мають властивість леткості (похідні піридину і піперидину).

«Лікарські» отрути потрапляють в організм:

- через рот (таблетки, порошки, частини рослин);
- дихальні шляхи (нікотин, анабазин – при палінні; кокаїн – при явищі «кокаїнізму»);
- можуть бути введені парентерально, ректально.

Всмоктування, розподіл і локалізація отрут залежать від їх фізико-хімічних властивостей:

- речовини кислого характеру (саліцилова кислота, барбітурати) всмоктуються в шлунку ($\text{pH} = 1$);

- речовини основного характеру (алкалоїди, похідні фенотіазину, *p*-амінобензойної кислоти) всмоктуються в тонкому кишечнику ($\text{pH} = 5,07\text{--}7,07$);

- нікотин і анабазин всмоктуються крізь слизові оболонки рота, у легенях.

Метаболізм «лікарських» отрут відбувається переважно в печінці. Розподіл і локалізація препаратів залежать від складу і функціональних особливостей органів і тканин. Добре розчинні в ліпідах токсичні речовини (барбітурати, похідні фенотіазину) легко проникають крізь мембрани клітин, швидко розподіляються в багатих ліпідами органах і тканинах, що добре забезпечуються кров'ю, – у головному та кістковому мозку.

Локалізація ліків також залежить від характеру отруєння. При гострому отруєнні – у шлунку, кишечнику, печінці, нирках; при хронічному – у головному й кістковому мозку.

Виводяться лікарські препарати в нативному стані й у вигляді метаболітів нирками, кишечником і легеньми.

Оскільки отрути розподіляються в органах і тканинах нерівномірно, знання їх властивостей і поведінки в організмі має велике значення для правильного вибору об'єктів хіміко-токсикологічного аналізу.

5.2. Сучасні загальні та окремі методи ізолювання речовин з біологічного матеріалу. Поділ «лікарських» отрут на підгрупи

Для ізолювання «лікарських» отрут з біологічного матеріалу використовують загальні і часткові методи. До загальних методів ізолювання належать екстракція водою (метод Васильєвої) чи спиртом (метод Стаса–Отто), попередньо підкисленими щавлевою кислотою; екстракція амфіфільними розчинниками – ацетонітрилом (метод Сшедзинського) чи ацетоном (метод Карташова).

Широко впроваджені в практику хіміко-токсикологічного аналізу методи екстракції «лікарських» отрут водою чи спиртом, підкисленими щавлевою кислотою. Методи екстракції амфіфільними розчинниками є перспективними і мають подальший розвиток.

Ізолювання отрут екстракцією полярними розчинниками включає такі етапи:

1. Підготовка зразка до дослідження: подрібнення органів трупа за допомогою ножиць, м'ясорубки, гомогенізатора.

2. Взяття наважки (1 – 100 г залежно від вмісту отруйної речовини в об'єкті і чутливості методів дослідження).

3. 2–3-разова екстракція отрути підкисленим розчинником або розчинником без підкислення.

4. З'єднування, проціжування і центрифугування екстракту.

5. Екстракція отрут із кислої водної фази органічними розчинниками – одержання «кислої» хлороформної витяжки.

6. Екстракція отрут з лужної водної фази органічними розчинниками – одержання «лужної» хлороформної витяжки.

При використанні етанолу як екстрагента передбачено осадження білків абсолютним етанолом з концентрованої спиртової витяжки з наступним фільтруванням витяжки і розведенням водою.

При використанні ацетонітрилу як екстрагента передбачене висолювання отрут, для чого до ацетонітрильної витяжки додається розчин натрію сульфату перед екстракцією отрут неполярними чи малополярними розчинниками (гексаном, ефіром, хлороформом).

При використанні ацетону як екстрагента домішки екстрагуються гексаном після розведення ацетонової витяжки розчином хлористоводневої кислоти. «Лікарські» отрути екстрагуються хлороформом чи ефіром у присутності висолювача – натрію хлориду чи натрію сульфату.

Метод О. О. Васильєвої не прийнятний для аналізу біологічного матеріалу, який піддався гnilісним змінам, у зв'язку з утворенням стійких ему-

льсій на стадії екстракції речовин із водної витяжки органічним розчинником і недостатнім очищенням екстрактів.

Зазначений метод малопридатний для аналізу барбітуратів і інших речовин, погано розчинних у підкисленій воді. Цих недоліків не мають методи Стаса–Отто, Сшедзинського і В.А. Карташова. Однак метод ізолювання підкисленою водою дешевший і безпечніший, ніж методи ізолювання «лікарських» отрут органічними екстрагентами, і застосовується при дослідженні лише свіжих біологічних об'єктів.

Часткові методи ізолювання потрібні при направленому хіміко-токсикологічному аналізі на визначену хімічну групу отрут чи індивідуальні речовини, з огляду на їх фізико-хімічні особливості.

Для ізолювання барбітуратів з біологічних об'єктів застосовують метод Валова (екстракція водним розчином натрію гідроксиду) і метод В. І. Попової (екстракція водою, підкисленою сірчаною кислотою, з подальшим очищенням екстрактів від домішок методом гель-хроматографії).

Для ізолювання алкалоїдів користуються методом В. П. Крамаренка – екстракція водою, підкисленою сірчаною кислотою.

Для ізолювання препаратів – похідних фенотіазину – застосовують метод Є. М. Саломатіна (модифікація методу Стаса – Отто: екстракція спиртом, підкисленим щавлевою кислотою) і модифікація методу Сшедзинського (екстракція ацетонітрилом, підкисленим хлористоводневою кислотою).

Ізолювання метаболітів – похідних 1,4-бензодиазепіну – здійснюють методом Б. М. Ізотова – екстракція бензофенонів сумішшю хлороформу і пентанолу (9:1) з гідролізату.

При застосуванні загальних методів ізолювання всі «лікарські» отрути поділяються на дві підгрупи:

1. Речовини, які екстрагуються органічним розчинником з кислотного середовища – *«кисла» хлороформна витяжка*. У «кислу» хлороформну витяжку потрапляють речовини кислого (саліциловокис-

лота та її похідні, барбітурати), нейтрального (ноксирон, парацетамол), слабоосновного характеру (алкалоїди, похідні пурину, індолу) і частково – середньої основності (похідні піразолону, 1,4-бензодиазепіну), що не дають стійких солей з кислотами.

2. Речовини, які екстрагуються органічним розчинником злужного водного середовища, – *«лужна» хлороформна витяжка*. У «лужну» хлороформну витяжку потрапляють речовини основного характеру (алкалоїди; синтетичні препарати – похідні фенотіазину, 1,4-бензодиазепіну, піразолону, *n*-амінобензойної кислоти).

5.2.1. Фактори впливу на ефективність ізолювання речовин

Ефективність екстракції «лікарських» отрут з біологічного об'єкта залежить від ряду факторів, що на кожній стадії ізолювання впливають на ступінь екстракції отрути і супутніх домішок.

Вибір умов ізолювання визначається кількісним співвідношенням отрути і домішок, тому що значний вміст домішок супроводжується багатостадійним очищенням і втратою аналізованої токсичної речовини.

При загальних і часткових методах ізолювання процес екстракції отрути проводиться:

- у системі *тверде тіло – рідина*, тобто екстракція отрути з біо об'єкта;
- у системі *рідина – рідина*, тобто екстракція отрути з отриманої водної витяжки органічним розчинником.

Процес екстракції отрути з біологічного матеріалу багатостадійний. Основними стадіями цього процесу є:

- проникнення екстрагента в клітини і тканини трупного матеріалу та в інші об'єкти, в яких знаходиться досліджувана речовина;
- розчинення отрути і домішок в екстрагенті або взаємодія з екстрагентом у клітинах і тканинах біологічного матеріалу;

- перенесення розчиненої отрути й домішок крізь оболонки клітин у міжклітинний простір і змішування вилучених із клітин речовин з основною масою екстрагента.

5.2.2. Фактори, що впливають на ступінь ізолювання «лікарських» отрут з біологічного матеріалу

До них належать:

1. Ступінь подрібнення біологічного матеріалу.
2. Значення рН середовища.
3. Природа і властивості рідин, узятих для ізолювання отрут.
4. Природа кислоти, взятої для підкислення екстрагента.
5. Іонна сила розчинів.

При збільшенні **ступеня подрібнення біологічного матеріалу** з використанням ножиць (шматочки 0,3–0,5 см), м'ясорубки (шматочки 0,05–0,1 см), гомогенізатора (шматочки розміром близько 0,01 см) зростає ступінь ізолювання як отрути, так і домішок, що вимагає багатостадійного очищення витяжки з можливою втратою аналізованої речовини.

Хороші результати подрібнення біологічного матеріалу дає заморожування об'єкта з подальшим відтаванням, при цьому відбувається розрив клітин і вивільнення їх вмісту для екстракції.

Оптимальним значенням рН середовища, при якому максимально руйнуються зв'язки «лікарська» отрута–білок і отрути екстрагуються полярними розчинниками, є значення $\text{pH} = 2\text{--}3$. Вибір рН середовища обумовлений ізоелектричною точкою білкових речовин, що залежить від їх природи.

Білкові речовини є амфотерними сполуками. Залежно від рН середовища вони можуть дисоціювати як кислоти і як основи. При певному значенні рН середовища (ізоелектрична точка) кількість позитивних і негатив-

вних зарядів у білку стає однаковою. У цьому разі сумарний заряд білка дорівнюватиме нулю і білок стане нерухомим в електричному полі.

Ізоелектрична точка альбуміну відповідає $\text{pH} = 4,8$; β -глобуліну – $5,2$; γ -глобуліну – $6,4$; фібриногену – $5,4$. При pH , вищому від ізоелектричної точки, білки мають негативний заряд; при pH , нижчому від ізоелектричної точки, – позитивний заряд.

У живому організмі є необхідні умови (pH крові $7,35\text{--}7,40$; pH середовища в тканинах і органах $6,8\text{--}7,2$) для взаємодії «лікарських» отрут і білків.

Створення $\text{pH} = 2\text{--}3$ при екстракції «лікарських» отрут з біологічного об'єкта водою збільшує і кількість білкових домішок у витяжці, що обумовлено підвищенням гідратації молекул білків, пептидів, амінокислот, пігментів і поліпшенням їхньої розчинності у воді.

Природа рідин, узятих для ізолювання отрут, обумовлює їх здатність:

- проникати в клітини і тканини біологічного матеріалу;
- розчиняти отруйні речовини, їх метаболіти, а також їх солі;
- розчиняти щонайменші кількості домішок, які переходять з біологічного матеріалу у витяжки.

При надходженні в організм людини отруйна речовина проникає всередину клітин, розподіляється в позаклітинній рідині і жировій тканині. Якщо після смерті отруйна речовина знаходиться всередині клітин, то для її вилучення використовується екстрагент, що проникає в клітину крізь клітинну мембрану і змішується з внутрішньоклітинною рідиною.

З огляду на те, що до складу плазматичної мембрани клітини входять білки й ліпіди, велике значення має здатність розчинників змішуватися з водою і ліпідами тканин та органів, тобто гідро-ліпофільні властивості, залежно від яких розчинники поділяються на три групи:

1.*Гідрофільні* розчинники, що змішуються з водою і не змішуються з ліпідами (високополярні розчинники – водні розчини кислот, основ, буферні розчини).

2.*Ліпофільні* розчинники, що змішуються з ліпідами і не змішуються з водою (малополярні розчинники – хлороформ, ефір, бензол, гексан та ін.).

3.*Амфіфільні* розчинники, що змішуються як з водою, так і з ліпідами тканин (метанол, етанол, ацетонітрил, ацетон та ін.).

Отже, крізь клітинну мембрану легше проникають амфіфільні розчинники, які подібні і до гідрофільної (білкової), і до гідрофобної (ліпідної) ділянок мембрани. Однак амфіфільні екстрагенти розчинятимуть білкові й жирові ділянки мембран, а також вміст клітин, що значно збільшить кількість домішок у витяжках.

Лікарські речовини кислотного й основного характеру залежно від рН середовища можуть знаходитися в тканинах в іонізованій або в неіонізованій (молекулярній) формі. Для ізолювання речовин в іонізованій формі придатні гідрофільні й амфіфільні розчинники, а для ізолювання речовин у молекулярній формі – ліпофільні й амфіфільні.

Розчинність отрут залежить від діелектричної проникненості розчинників. При зниженні діелектричної проникненості екстрагентів сили тяжіння між молекулами отруйних речовин зростають, що погіршує їх розчинність.

Природа кислоти, взятої для підкислення екстрагента, впливає на ступінь ізолювання алкалоїдів і синтетичних лікарських сполук основного характеру, що обумовлено різною розчинністю солей азотистих основ з різними кислотами.

Наприклад, для ізолювання сильних основ – алкалоїдів – використовують воду, підкислену сірчаною кислотою, що утворює добре розчинні солі.

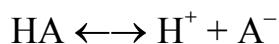
На покращення розчинності отруйних речовин впливає іонна сила розчинів, яка залежить від концентрації електролітів у цих розчинах, – тобто ефект засолювання.

Фактори, що впливають на ступінь екстракції речовин з водних витяжок органічними розчинниками

До них належать:

1. Природа екстрагованої речовини.
2. Значення рН середовища.
3. Природа екстрагента.
4. Температура.
5. Наявність висолювачів.
6. Співвідношення об'ємі водної та органічної фаз.
7. Кількість повторних екстракцій.

Кількість екстрагованої речовини залежить від дисоціації її у водній фазі.



$$K_{a-\text{досл}} = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]},$$

$$\text{p}K_a = -\lg [K],$$

$$\text{p}K_a = -\lg [\text{H}^+] - \lg [\text{A}^-] + \lg [\text{HA}],$$

$$\text{p}K_a = \text{pH} + \lg [\text{HA}] - \lg [\text{A}^-].$$

При екстракції недисоційовані молекули переходять в органічну фазу, а іони, що добре гідратовані молекулами води, залишаються у водній фазі.

При зміні рН водної фази змінюється співвідношення іонізованої та молекулярної форм «лікарських» отрут у водній витяжці, що впливає на екстракцію речовин у неіонізованій формі органічними розчинниками.

Вибір оптимальних умов екстракції: рН середовища, природи органічного розчинника – залежить від фізико-хімічних властивостей отруйних

речовин. Наприклад, максимальна кількість кокаїну екстрагується з водної фази хлороформом при $pH = 7,0-8,5$ (80–83%), мінімальна кількість – диетиловим ефіром при $pH = 8,0-8,5$ (57-62%).

Зміна температури впливає:

- на константу розподілу екстрагованої речовини. При зміні температури неоднаково змінюється розчинність отруту і домішок у водній та органічній фазах, а також змінюється взаємна розчинність фаз;

- на зміну дисоціації й асоціації речовин у відповідній фазі;

- на зміну кількості співекстрактивних домішок. Оптимальна температура для проведення процесу екстракції отруту 25°C , тому що при підвищенні температури зростає кількість домішок.

Наявність висолювачів, таких як NaCl , Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, також збільшує ступінь екстракції отруту і домішок.

Розрахунок кількості повторних екстракцій, ступеня екстракції і константи розподілу необхідних для практично повної витяжки досліджуваних речовин із розчинів, проводиться за формулами, наведеними нижче.

Кількість повторних екстракцій (m):

$$m = \lg \frac{C_B}{[A_m]_B} / \lg(1 + \frac{P_0}{r}),$$

де C_B – початкова концентрація речовини у водному розчині, моль/л;

$[A_m]_B$ – концентрація речовини, що залишилася у водному розчині після m екстракцій, моль/л;

P_0 – константа розподілу;

r – відношення об'єму водної фази до об'єму органічного розчинника (V_B/V_0).

Ступінь екстракції (R):

$$R = \frac{P_0 \cdot 100}{P_0 + r}.$$

Константа розподілу (P_0):

$$P_0 = \frac{R \cdot r}{100 - R}.$$

5.3. Методи очистки витяжок від домішок і концентрування виділених речовин

Для очищення аналізованих сполук від співекстрактивних речовин (білки, жири, пігменти та ін.) існують різні методи:

1. Фільтрування і центрифугування.

2. Осадження білків різними реактивами і способами.

3. Екстракція.

4. Хроматографія – на папері, колонкова, у тонких шарах сорбенту (ТШХ-метод), гель-хроматографія.

5. Електрофорез.

6. Дистиляція з водяною парою.

7. Сублімація.

8. Діаліз.

Фільтрування і центрифугування. Фільтрування дозволяє очистити витяжки від механічних забруднень (дрібних часток біологічного матеріалу). Однак при цьому можлива адсорбція отрути на фільтрі й часткова її втрата, а також неповне очищення витяжки від домішок, обмежене діаметром пор фільтра. Ці недоліки усуваються центрифугуванням.

Осадження білків різними реактивами обумовлене утворенням малорозчинних у воді комплексів (фосфорно-вольфрамова, фосфорно-молібденова, вольфрамова, трихлороцтова, метафосфорна кислоти) або коагуляцією білків (етанол, ацетон).

Для осадження є різні способи: нагрівання, висолювання, зміна рН середовища.

При підвищенні температури понад 40 °С відбувається денатурація білків, знижується їх розчинність.

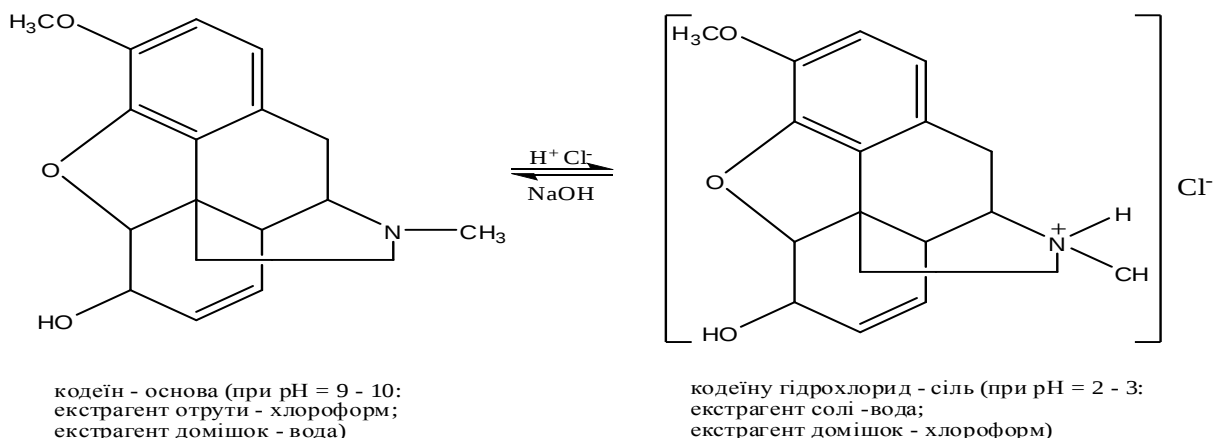
Ефективність висолювання як методу очистки витяжки залежить від концентрації та природи електролітів. При низьких концентраціях електроліти (Na_2SO_4 ; NaCl ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) підвищують розчинність білків, що пояснюється зміною ступеня дисоціації іонізованих ($-\text{COOH}$; $-\text{OH}$; $-\text{SH}$) груп білків. Підвищення концентрації солей (насичені розчини) приводить до перерозподілу молекул води в гідратних оболонках білків і введених іонів Na^+ ; Cl^- ; SO_4^{2-} ; NH_4^+ , що знижує розчинність білків.

Осадження білків з витяжок можливе *при зміні pH середовища* до значення, що відповідатиме ізоелектричній точці білка, в якій білок не несе сумарного заряду. Результатом досягнення зазначеного pH розчину є відсутність електростатичного відштовхування молекул білків, що сприяє утворенню осаду.

Недоліком методів очистки витяжок при осадженні білків є здатність осадів домішок адсорбувати на своїй поверхні аналізовані отрути, що може бути однією з причин їх втрат у ході дослідження.

Екстракційний метод очистки. В основі його лежить закон розподілу речовин між розчинниками, що не змішуються, а також їх здатність розчинятися в органічних розчинниках, а солей, ними утворених, – у воді. Метод простий, доступний і ефективний.

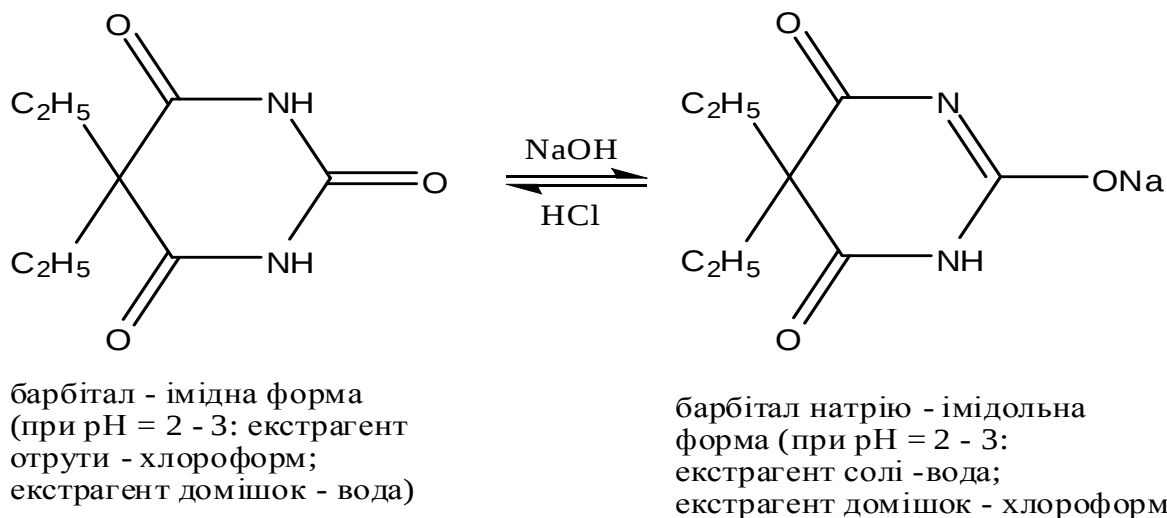
Схема екстракційної очистки отруту основного характеру



Для екстракції домішок із витяжок необхідне встановлення відповідного значення pH середовища і застосування відповідного розчинника.

При неправильному виборі цих факторів разом із домішками можуть також екстрагуватися отрути.

Схема екстракційної очистки отрут кислого характеру



Хроматографія. В основі ТШХ-методу лежить розподіл нанесеної на тверду підкладку отрути між рідкою і твердою фазами. Обирають системи, в яких домішки залишаються на старті або ж рухаються разом із фронтом розчинника. Метод простий, доступний, дозволяє не тільки очистити отрути від домішок, але й одночасно виконати їх визначення.

Для очистки екстрактів, отриманих з об'єктів, що зазнають гнилісних змін, ефективно поєднання екстракційного методу з методом тонкошарової хроматографії.

Очистка екстрактів за допомогою гелі-хроматографії базується на різному поведженні молекул щодо пор гелю: малі молекули отрут проникають у пори і затримуються в них, великі молекули домішок обходять пори або утримуються на поверхні гелю. Метод гелі-хроматографії придатний для очистки водних витяжок. Він трудомісткий, але ефективний.

Електрофорез на папері. В основі лежить розподіл речовин на папері, поміщеному в електроліт, під дією електричного струму. Іони досліджуваної суміші рухаються до електрода протилежного знака. За своєю ефективністю цей метод наближається до ТШХ-методу, але вимагає спеціального обладнання.

Дистиляція з водяною парою і метод сублімації засновані на леткості окремих представників досліджуваної групи отрут (алкалоїди – похідні піридину і піперидину, барбітурати). Цей метод простий, але його використання раціональне при аналізі тільки великих кількостей отрут, що трапляється при проведенні хіміко-токсикологічних досліджень дуже рідко.

Метод діалізу заснований на застосуванні напівпроникних мембран, через пори яких здатні проходити іони, невеликі молекули органічних речовин, у той час як великі молекули (білки, пептиди й ін.) залишаються по інший бік мембран. Метод має обмежене для очистки речовин досліджуваної групи отрут застосування, тому що він довготривалий, можливі також значні втрати аналізованих сполук.

Для проведення аналізу екстракти необхідно сконцентрувати (працювати з великими об'ємами незручно).

Існують різні методи концентрування екстрактів:

- екстракційний;
- випарювання на повітрі при 40 °С;– випарювання під вакуумом;
- адсорбція отрут твердим сорбентом з подальшою десорбцією.

Вибір методу очистки залежить від стану об'єкта і методу ізолювання аналізованої отрути з біологічного матеріалу. До складу методів ізолювання входять окремі етапи очистки, але вони неможуть забезпечити повне видалення домішок (див. табл. 1).

Ізолювання й очистка «лікарських» отрут

№ з/п	Група отрут	Методи ізолювання	Методи очистки від домішок, які є етапами методу ізолювання
	«Лікарські» отрути	Водою, підкисленою щавлевою кислотою (метод О. О. Васильєвої)	Проціджування; центрифугування

	«Лікарські» отрути	Спиртом, підкисленим щавлевою кислотою (метод Стаса – Отто)	Випарювання витяжок до густоти сиропу; осадження білків спиртом; фільтрування
	«Лікарські» отрути	Ацетоном (метод В. А. Карташова)	Центрифугування; фільтрування; екстракція домішок гексаном (pH = 2 – 3)
	Алкалоїди	Водою, підкисленою сірчаною кислотою (метод В. П. Крамаренка)	Проціджування; центрифугування; висолювання домішок за допомогою $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; екстракція домішок ефіром (pH = 2 – 2,5)
	Похідні барбітурової кислоти	Водою, підлуженою натрію гідроксидом (метод Валога)	Проціджування; центрифугування; осадження білків натрію вольфраматом; екстракція домішок ефіром (pH = 2)
		Водою, подкисленою сірчаною кислотою (метод В. І. Попової)	Проціджування; центрифугування; гель-хроматографія
	Похідні фенотіазину	Спиртом, підкисленим щавлевою кислотою (модифікація методу Стаса – Отто за Є. М. Саломатіним)	Випарювання витяжки до густоти сиропу; осадження білків спиртом; фільтрування; екстракція домішок естером (pH = 2-3)
		Ацетонітрилом, підкисленим хлористоводневою кислотою (модифікація методу Сшедзинського за Є. М. Саломатіним)	Фільтрування; висолювання домішок за допомогою Na_2SO_4 ; екстракція домішок ефіром (pH = 2 – 3)

	Похідні 1,4-бензо-діазепіну	Ізолювання метаболітів – похідних 1,4-бензодіазепіну (метод Б. М. Ізотова)	Деструкція тканин органів при проведенні кислотного гідролізу; центрифугування; фільтрування.
--	-----------------------------	--	---

Тому після ізолювання отрут полярними розчинниками для очистки витяжок вдаються до вищевказаних методів, найчастіше виконують екстракційну очистку і тонкошарову хроматографію або застосовують відразу обидва методи.

5.4. Ідентифікація і кількісне визначення речовин, що ізолюються екстракцією полярними розчинниками

Принципова схема аналізу «лікарських» отрут

Вибір схеми аналізу «лікарських» отрут залежить від ряду факторів:

1. Біологічного об'єкту дослідження (органи і тканини, біологічні рідини трупа, біологічні рідини живої людини);
2. Проведення спрямованого або неспрямованого аналізу препаратів;
3. Устаткування судово-хімічної або хіміко - токсикологічної лабораторії (апаратура, розчинники і реактиви).

Залежно від вищезгаданих факторів аналіз «лікарських» отрут проводиться у двох напрямках:

• ***Судово-хімічне дослідження*** біологічного матеріалу, взятого з трупа (аналіз «лікарських» отрут в токсичних і летальних дозах - 10^4 - 10^6 г в пробі);

• ***Хіміко-токсикологічне дослідження*** біологічних рідин живої людини (аналіз «лікарських» отрут в терапевтичних і токсичних дозах - 10^6 - 10^{12} г в пробі).

Оцінка різних методів по чутливості:

1. Хімічні методи - 10^4 - 10^6 г в пробі;

2. Ф методи:

- УФ – спектрометрія – 10^6 - 10^7 г пробі;
- ТШХ – 10^6 - 10^7 г пробі;
- ГРХ – 10^8 - 10^{10} г в пробі;
- ВЕРХ – 10^8 - 10^{10} г в пробі;

3. Імунохімічні методи – 10^{10} - 10^{12} г в пробі.

Схема не спрямованого дослідження «лікарської» отрути в біологічному об'єкті.

ТШХ - скринінг «лікарських» отрут.

Процес ідентифікації невідомої лікарської, яка стала причиною отруєння, складається з двох етапів: попереднього і підтверджуючого.

Попередній етап дозволяє віднести отруту до певної групи хімічних сполук і заснований на використанні методу тонкошарової хроматографії (ТШХ) і системи «скринінгу», тобто системи відбору, просіювання.

Вибір методу тонкошарової хроматографії для пошуку «лікарської» отрути при неспрямованому дослідженні обумовлений багатofункціональністю методу:

- розділення препаратів і їх метаболітів;
- очищення від домішок;
- ідентифікація групи препаратів або індивідуальної речовини;
- кількісна оцінка аналізованого препарату.

Попередній етап складається з двох стадій:

1 стадія – застосовуються загальні системи розчинників, що дозволяють розділити проаналізовані речовини на групи, що локалізуються в певних хроматографічних зонах. В разі позитивного результату при використанні загальних систем розчинників приступають до другої стадії.

2 стадія - застосовуються індивідуальні системи розчинників, що дозволяють ефективно розділити сполуки, що входять в ту або іншу хроматографічну зону.

Підтверджуючий етап - після проведення двох стадій попереднього етапу проводять підтверджуючі дослідження, що включають комплекс хімічних, фізико-хімічних методів, а також фармакологічні проби.

Негативний результат попереднього дослідження навіть на першій стадії свідчить про відсутність токсичних доз лікарських препаратів в екстрактах з біологічного матеріалу.

Попереднє хроматографічне дослідження ефективне за умови аналізу біологічного матеріалу, що не піддався процесам гнильного розкладання.

Умови ТШХ- скринінгу речовин кислого та слаболужного характеру:

- загальна система розчинників - ацетон-хлороформ (1:9);
- хроматографічні пластини із закріпленим шаром сілікагелю;
- довжина пробігу розчинників - 10 см;
- час насичення камери парами розчинника –15-20 хв.

Як стандарт використовується циклобарбітал. Після розвитку хроматограми і висушування пластини проводять проявлення барбітуратів; похідних саліцилової кислоти; піразолону; алкалоїдів - похідних пурину, індолу; похідних 1,4-бенздіазепіну.

В якості проявників використовують:

Для барбітуратів - послідовно 5% розчин HgSO_4 і 0,1% розчин дифенілкарбазону в хлороформі (з'являються синьо-фіолетові або червоно-фіолетові плями - смуги S і A);

Для похідних саліцилової кислоти, піразолону - 5% або 10% розчин FeCl_3 (з'являються синьо-фіолетові або червоно-фіолетові плями - смуга Б);

Для алкалоїдів, похідних 1,4-бенздіазепіну - реактив Драгендорфа модифікований за Мун'є (спостерігаються помаранчеві, помаранчево-коричневі плями - смуга В).

Залежно від значень величин R_f на хроматограммі ділять на три хроматографічні зони:

1. Зона з R_f - 0 - 0,25 - похідні піразолону, алкалоїди;
2. Зона з R_f - 0,31 - 0,41 - барбітурати, похідні 1,4-бенздіазепіну;
3. Зона з R_f - 0,41 - 0,64 - похідні 1,4-бенздіазепіну.

R_s - представляє собою відношення величини R_f аналізованої речовини до величини R_f стандарту (циклобарбіталу). Вибір стандарту здійснюють так, щоб величина R_s знаходилась в межах - 0,5 - 2. Величина R_s малочутлива до впливу випадкових відхилень в умовах експерименту і тому є точнішою оцінкою хроматографічної рухливості, чим R_f .

Шар сорбенту з не проявленої смуги Г, розташований на одному рівні із забарвленою плямою на інших смугах з аналізованим екстрактом, знімають за допомогою скальпеля і елюють досліджувану речовину з:

- хроматографічної зони 1 - метанолом;
- хроматографічних зон 2 і 3 - ацетоном.

Елюат досліджують в часних системах розчинників:

Похідні піразолону, алкалоїди (1 зона) - ацетон-циклогексан (5:1), сорбент – алюміній триоксид;

Барбітурати, похідні 1,4-бенздіазепіну (2 зона) - хлороформ-бутанол-25% розчин амоніаку (70:40:5), сорбент - сілікагель КСК забуферений розчином кислоти борної;

Похідні 1,4-бенздіазепіну (3 зона) - етилацетат-бензол-етанол-25% розчин амоніаку (90:15:5:2,5), сорбент - сілікагель КСК.

Умови ТШХ-скринінгу речовин основного та слабоосновного характеру:

- Загальна система розчинників – хлороформ – діоксан – ацетон - 25% розчин амоніаку (45:47,5:5:2,5);
- Хроматографічні пластини закріпленим шаром сілікагеля;
- Довжина пробігу розчинників – 10 см;

- Час насичення камери парами розчинника - 15-20 хв.

Хроматографічна пластина розділяється на 5 вертикальних смуг.

Як стандарт використовується етаперазин. Після розвитку хроматограми і висушування пластини проводять прояв алкалоїдів, похідних фенотіазину, 1,4-бенздіазепіну, п-амінобензойної кислоти, піразолону.

В якості проявників використовують:

- Для похідних **фенотіазину** - 10% розчин H_2SO_4 в етанолі (з'являються червоні і фіолетові плями - смуги S і A);
- Для похідних - **фенотіазину, піразолону** - 5% або 10% розчин $FeCl_3$ (з'являються синьо-фіолетові або червоно-фіолетові плями - смуга Б);
- Для алкалоїдів, похідних **1,4-бенздіазепіну, п-амінобензойної кислоти** - реактив Драгендорфа модифікований за Мун'є (спостерігаються помаранчеві, помаранчево-коричневі плями - смуга В).

Залежно від значень величин R_f речовини на хроматографі ділять на три хроматографічні зони:

1. Зона з R_f - 0,12 - 0,36 - алкалоїди;
2. Зона з R_f - 0,50 - 0,58- пурини, похідні піразолону, фенотіазину;
3. Зона з R_f - 0,63 - 0,83 – похідні 1,4-бенздіазепіну, фенотіазину, п-амінобензойної кислоти;
4. Зона з R_f - 0,67 - 0,98 - алкалоїди, похідні 1,4-бенздіазепіну, фенотіазину.

Шар сорбенту з не проявленої смуги Г, розташований на одному рівні із забарвленим, п'ятому на інших смугах із аналізованим екстрактом, знімають за допомогою скальпеля і елюють досліджувану речовину з:

- хроматографічної зони 1 - сумішшю метанол - діетиламін (9:1);
- хроматографічних зон 2 - 4 - сумішшю метанол - 25% розчин амоніаку (9:1).

Елюат досліджують в індивідуальних системах розчинників:

- **Алкалоїди (1 зона)** - хлороформ-діетиламін (9:1), сорбент - сіліка-

гель КСК;

- **Пурини, похідні піразолону, фенотіазину:** (2 зона) – хлороформ - етанол (5:1), сорбент – алюміній триоксид;

- **Похідні 1,4-бенздіазепіну, фенотіазину, п-амінобензойної кислоти** (3 зона) – хлороформ – етанол (20:1), сорбент – алюміній триоксид;

- **Алкалоїди, похідні 1,4-бенздіазепіну, фенотіазину** (4 зона) – циклогексан - ацетон (5:1), сорбент - алюміній триоксид.

Результати попереднього хроматографічного дослідження підтверджуються хімічними і методами аналізу.

Хімічні методи дослідження «лікарських» отрут

Для виявлення «лікарських» отрут використовуються хімічні реакції - забарвлення, осадження і мікрокристалоскопічні.

Реакції забарвлення - в основі реакцій забарвлення лежать наступні процеси:

- видалення води (за допомогою H_2SO_4 концентрованої);
- окислення препаратів ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, у присутності H_2SO_4 концентрованої);
- одночасне окислення і видалення води;
- конденсація з альдегідами в присутності речовин, що поглинають воду.

Реакції забарвлення виконуються з сухими охолодженими осадами після видалення хлороформу. При проведенні реакцій фарбування для лікарських отрут використовують наступні реактиви:

- концентровані кислоти (H_2SO_4 , HNO_3 , HCl);
- реактиви:
 - * Маркі (H_2SO_4 конц. і формальдегід);
 - * Фреде (H_2SO_4 конц. і амоній молібдат);
 - * Ерדмана (H_2SO_4 конц. і HNO_3 , конц);
 - * Манделіна (H_2SO_4 конц. і амоній ванадат).

Оцінка результатів реакцій забарвлення:

- можливість виключення окремих лікарських отрут та їх груп, що дозволяє вибрати раціональну схему аналізу хлороформної витяжки;
- можливість виявити наявність окремих отрут і навіть груп отрут (реактив Маркі орієнтує на пошук алкалоїдів похідних ізохіноліну);
- недоліком реакцій забарвлення є не специфічність, невисока чутливість, нестійкість отриманого забарвлення, яке може змінюватися під впливом окислювачів повітря і світла або зникати;
- головною умовою проведення реакцій забарвлення є висока ступінь чистоти хлороформних витяжок, тому що залишки білка під дією кислоти сульфатної обвуглюються, азотною - окислюються, що маскує основний результат.

Реакції осадження - в основі реакцій осадження лежать наступні процеси:

- утворення солей погано розчинних у водному середовищі (при взаємодії алкалоїдів з фосфорномолібденовою кислотою - реактив Зонне-ншейна; з фосфорновольфрамовою кислотою - реактив Шейблера; пікріновою кислотою, таніном і т.д.);
- погано розчинних у водному середовищі комплексів з важкими металами (при взаємодії алкалоїдів з реактивами Драгендорфа, Марме, Майєра).

Оцінка результатів реакцій осадження:

- всі реактиви групового осадження з алкалоїдами, їх синтетичними аналогами і іншими органічними речовинами основного характеру дають аморфні осадки;
- достоїнствами реакцій осадження із загальноалкалоїдними реактивами є їх висока чутливість (найбільшою чутливістю характеризуються

фосфорномолібденова і фосфоровольфрамова кислоти і реактив Драгендорфа, найменшою, - танін);

- недоліком реакцій осадження є неспецифічність, оскільки білки можуть давати аналогічні осади; хіміко-токсикологічне значення реакцій осадження з реактивами групового осадження алкалоїдів має негативний результат.

Мікрокристалоскопічні реакції - засновані на осадженні відповідних реактивів і на визначенні форми кристалів, що утворюються.

Оцінка результатів мікрокристалоскопічних реакцій:

- є те, що форма кристалів, що утворюються, залежить від багатьох чинників, до яких належать: концентрація досліджуваної речовини, концентрація реактиву, співвідношення об'ємів розчинів досліджуваної речовини і реактиву, температура, рН середовища, наявність домішок, поліморфізм кристалів, що утворюються;
- реакції високочутливі і специфічні за умов лабораторії, в якій проводяться дослідження.

Фізико – хімічні методи ідентифікації препаратів

У хіміко-токсикологічному аналізі лікарських отрут переважно використовуються спектральні методи (спектроскопія в УФ- і ІЧ-областях) і хроматографічні методи (ТШХ, ГРХ, ВЕРХ, електрофорез).

Спектральні методи аналізу:

Спектри поглинання у видимій і ультрафіолетовій області, пов'язані з електронними переходами, отримали назву електронних спектрів.

Область електронних переходів охоплює інтервал спектру електромагнітних хвиль від 100 до 800 нм ($10^6 - 10^4 \text{ см}^{-1}$). Ця область підрозділяється на дві: видиму - з інтервалом довжин хвиль від 400 до 800 нм, і ультрафіолетову - з діапазоном від 100 до 400 нм. Остання також ділиться на дві: ближню - від 200 до 400 нм, і далеку (вакуумну) - від 100 до 200 нм.

Електрони, що входять до складу атомів і молекул, розрізняються по своєму енергетичному стану (1s-, 2s-, 2p-електрони і ін.). Для їх збудження потрібне випромінювання з різною довжиною хвилі (енергією).

Найбільша енергія необхідна для «збудження» електронів простого C-С-зв'язку (σ -електрони). Декілька менша енергія потрібна для збудження електронів інших простих зв'язків, наприклад атома вуглецю з атомом, що містить неподілену пару електронів (π -електрони). Молекули органічних речовин, що не містять парних зв'язків, не мають характерного поглинання в робочій зоні в УФ - області (200 - 400 нм). Групи атомів, які містять одну або декілька кратних зв'язків, називають хромофорами, вони викликають вибіркове поглинання електромагнітного випромінювання в УФ -області. Якщо ж є зв'язок (сполучення) хромофорів один з одним або з - електронними системами - ауксохромами (-ОН, -NH₂, -СН-, та ін.), то максимум поглинання речовини зміщується в довгохвильову область (батохромне зрушення).

Максимуми поглинання деяких хромофорів

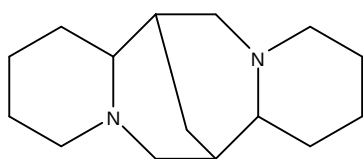
Хромофор	λ_{max} , нм
C=C	165
C=C=C	225
C=C	173
C= N	240-250
-NO ₂	271
C=O	280
-N=N-	340
=C=	620
-N=C	665
Бензол	180, 203, 254
Нафталін	275, 314

Вплив замісників на положення смуг поглинання монозаміщених по-
хідних
бензолу (у етанолі)

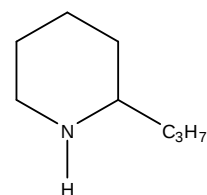
R	Смуга поглинання	
	друга	третя
-H	203	256
-CH ₂	206	225
-Cl	210	264
-OH	211	270
-SH	236	271
-NH ₂	230	280
CH=CH ₂	244	282
-NO ₂	259	-
-OCH ₃	217	269
-COOH	230	279

Залежно від поведінки молекул в УФ - області спектру (робоча зона - 200-400 нм) всі речовини діляться на три групи:

- що не мають характерного поглинання (відсутність хромофорів);

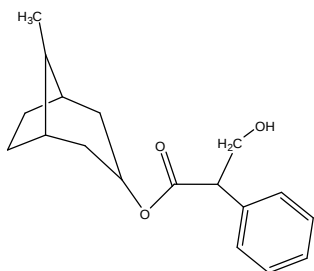


Пахікарпін

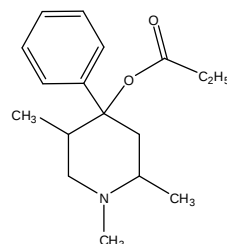


Коніїн

- що мають вибіркове поглинання, незалежне від рН середовища:

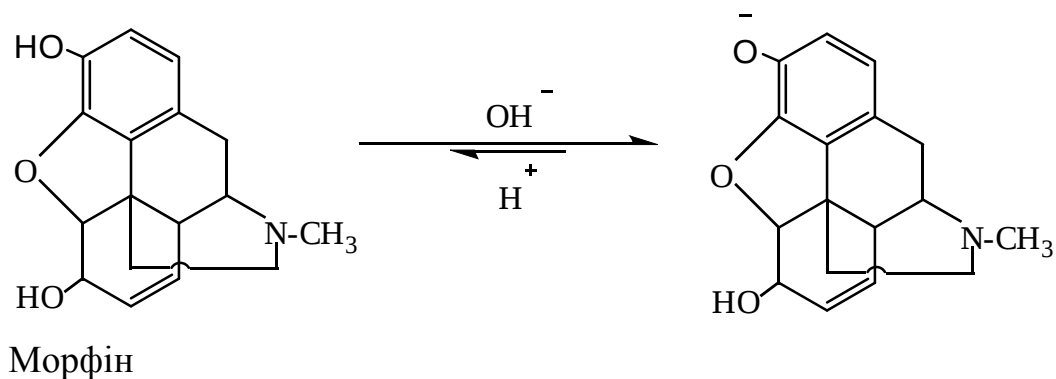


Атропін



Промедол

- що мають вибіркове поглинання, залежне від рН середовища



Молекули останньої групи містять хромофори, зв'язані з ауксохромами, і можуть володіти всіма видами електронних переходів. В іонізації молекули при зміні рН розчинів смуги поглинання змішаються в довгохвильову частину спектру (батохромний) або короткохвильову область (гіпсохромний зсув).

Деякі речовини (барбітурати), що не мають характерного поглинання в кислому середовищі в області робочої зони (200 - 400 нм), при підлученні починають поглинати у зв'язку з появою хромофорного угруповання.

Речовини, що відносяться до групи, які мають вибіркове поглинання в УФ - області, залежні від рН - середовища, представляють найцікавіше коло об'єктів дослідження в хіміко-токсикологічному аналізі.

Метод УФ - спектрометрії чутливий, цікавий для проведення кількісного визначення, досить точний, але вимагає ретельного очищення речовин від супутніх домішок, що не завжди вдається при хіміко-токсикологічному дослідженні об'єктів біологічного походження.

Метод ІЧ-спектроскопії менш чутливий, чим метод УФ-спектрометрії, спектри більш складні для розшифровки, тому при хіміко-токсикологічних дослідженнях використовуються недостатньо широко.

Інфрачервона спектроскопія (ІЧ-спектроскопія), розділ молекулярної оптичної спектроскопії, що вивчає спектри поглинання і електромагнітного випромінювання в інфрачервоній області. У координатах інтенсивність поглиненого випромінювання - довжина хвилі (хвилеве число) інфрачер-

воний спектр є складною кривою з великим числом максимумів і мінімумів.

Метод інфрачервоної спектроскопії є універсальним фізико – хімічним методом, який застосовується в дослідженні структурних особливостей різних органічних і неорганічних сполук. Метод заснований на явищі поглинання групами атомів досліджуваного об'єкту електромагнітних випромінювань в інфрачервоному діапазоні.

Необхідний етап таких досліджень - інтерпретація спектрів, тобто встановлення форми нормальних коливань, розподіли коливальної енергії по ступеням свободи, виділення параметрів, що визначають положення смуг в спектрах і їх інтенсивності. Розрахунки спектрів молекул, що містять до 100 атомів, у тому числі полімерів, виконуються за допомогою ЕОМ.

Інфрачервона спектроскопія має низку переваг перед спектроскопією у видимій і ультрафіолетовій областях, тому що дозволяє прослідити зміну всіх основних типів зв'язків в молекулах досліджуваних речовин. При використанні інфрачервоної спектроскопії для визначення якісного і кількісного складу природних сумішей не відбувається руйнування речовин, що дозволяє застосовувати їх для подальших досліджень.

Позитивною особливістю методу інфрачервоної спектроскопії є те, що смуги поглинання одного і того ж виду коливань атомної групи різних речовин розташовуються в певному діапазоні інфрачервоного спектру (наприклад, $3720-3550\text{ см}^{-1}$ - діапазон валентних коливань груп -ОН; $3050-2850\text{ см}^{-1}$ - груп -СН, -СН₂, -СН₃ органічних речовин). Точне положення максимуму смуги поглинання атомної групи в межах цього діапазону вказує на природу речовини (так, максимум 3710 см^{-1} свідчить про наявність груп -ОН, а максимум 3030 см^{-1} - про присутність груп =С-Н ароматичних структур).

При проведенні хіміко-токсикологічних досліджень спектральний аналіз зазвичай проводиться після хроматографічного скринінгу і є напра-

вленим. Він включає очищення виділеної сполуки і зняття спектрів, найчастіше в УФ - області при різних значеннях рН розчину і в різних розчинниках (при необхідності).

Очищення проводиться головним чином за допомогою хроматографії в тонкому шарі сорбенту, у випадках речовин кислотного-основного характеру - екстракційним методом або поєднанням двох видів очистки.

Газо - рідинна хроматографія

Вживаний при роботі метод газорідинної хроматографії – це метод, найчастіше використовується в аналітичній практиці. Це пояснюється тим, що надзвичайна різноманітність рідких нерухомих фаз дозволяє полегшити вибір селективної для даного аналізу фази, з лінійністю ізотерми розподілу в більшій області концентрацій. А це дає можливість працювати з великими пробами, і з легкістю відтворних по ефективності колонок хроматографа.

Розподіл компонентів в хроматографі між носієм і нерухомою рідкою фазою відбувається за рахунок розчинення їх в рідкій фазі. Селективність залежить від пружності пари визначуваної речовини і його коефіцієнта активності в рідкій фазі. Закон Рауля свідчить, що при розчиненні пружність пари речовини над розчином p_i прямо пропорційна його коефіцієнту активності молярній долі N_i в розчині і тиску пари чистої речовини P_i при даній температурі:

$$p_i = N_i P_i$$

Чим нижча температура кипіння речовини (чим більше P_i), тим слабше вона утримується в колонці хроматографа.

Для розділення в хроматографі речовин, температури кипіння яких однакові, використовують відмінності у взаємодії з нерухомою рідкою фазою: чим сильніше взаємодія, тим менше коефіцієнт активності і більше утримування.

ГРХ застосовують для розділення і аналізу сполук, які можуть бути переведені в пароподібний стан без розкладання, а також для визначення таких фізико - хімічних характеристик речовини, як константа розподілу, константа комплексоутворення, теплота розчинення, коефіцієнт активності і ін.

Високоефективна рідинна хроматографія

Ідентифікація «лікарських» отрут методами ГРХ і ВЕРХ проводиться по параметрах утримування піків.

	ГРХ	ВЕРХ
М.м. речовин проби	До 500	До декількох десятків мільйонів
Умови розділення	Порівняно жорсткі	М'які
Ефективність	5000 теор. тарілок на метр	До 150 000 т.т. на метр
% відомих з'єднань, які можна розділити	10	90

Капілярний електрофорез

Капілярний електрофорез є доповненням або альтернативою високоефективної рідинної хроматографії і значною мірою гель-електрофорезу.

Капілярний електрофорез – це метод аналізу складних сумішей, що використовує електрокінетичні явища – електроміграцію іонів і інших заряджених часток і електроосмос, – для розділення і визначення компонентів. Ці явища виникають в розчинах при внесенні їх в електричне поле, переважно, високої напруги. Якщо розчин знаходиться в тонкому капілярі, наприклад, в кварцовому, то електричне поле, накладене вздовж капіляра, викликає в нім рух заряджених часток і пасивний потік рідини, внаслідок чого проба розділяється на індивідуальні компоненти, оскільки параметри електроміграції специфічні для кожного виду заряджених часток. В той же час, такі фактори як: дифузія, сорбція, конвекція, гравітація і тому подібне,

в капілярі істотно ослаблені, завдяки чому досягаються рекордні ефективності розділень.

Метод капілярного електрофорезу з успіхом застосовується для аналізу різноманітних речовин і об'єктів: катіонів металів, неорганічних і органічних аніонів, амінокислот, вітамінів, наркотиків, пігментів і барвників, білків, пептидів, а також для аналізу фармпрепаратів і харчових продуктів. Для контролю якості води і напоїв, технологічного контролю виробництва, вхідного контролю сировини, в криміналістиці, медицині, біохімії, у тому числі, для цілей розшифровки генетичної коди живих організмів і так далі.

Фармакологічні випробування «лікарських» отрут

Деякі отруйні речовини при дії на організм тварин викликають характерні фізіологічні реакції. Так, наприклад, атропін, введений в око кішки, викликає розширення зіниці. Після нанесення розчину нікотину на спинку жаби вона приймає характерну позу. То ж стосується і стрихніну. При нанесенні його на спинку жаби з'являються титанічні судоми, а потім жаба приймає позу, характерну для дії стрихніну.

Фармакологічні випробування отруйних речовин, виділених з біологічного матеріалу і добре очищених за допомогою відповідних методів, повинні виконувати фахівці - фармакологи, що мають спеціальні пізнання в цій області і володіють технікою експерименту.

Кількісне визначення «лікарських» отрут

Кількісне визначення токсичних речовин, виділених з біологічного матеріалу, є завершальним етапом хіміко-токсикологічного аналізу. Кількісне визначення токсичних речовин проводиться після їх ідентифікації. При ідентифікації можуть бути виявлені токсичні речовини, які були прийняті померлим перед смертю в терапевтичних дозах (з лікувальною метою) і не були причиною отруєння. Дозу отрути, що поступила в організм, можна оцінити лише на підставі результатів кількісного визначення.

В хіміко – токсикологічному аналізі для кількісного визначення токсичних речовин, виділених з біологічного матеріалу і інших об'єктів, за-

стосовуються чутливі фотоколориметричні, спектрофотометричні, газохроматографічні і деякі інші методи.

Зважаючи на малу чутливість гравіметричних і титриметричних методів вони практично не застосовуються в хіміко-токсикологічному аналізі. Виділені з біологічного матеріалу речовини, які піддаються кількісному визначенню мають бути добре очищені від білкових сполук, продуктів їх розкладання і інших домішок.

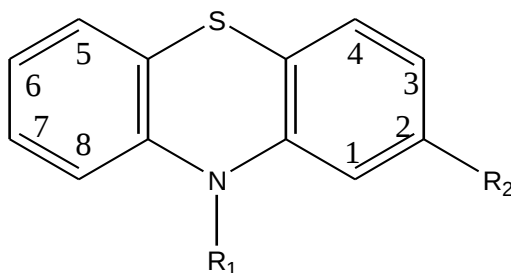
Не дивлячись на велике значення результатів кількісного визначення отруйних речовин, виділених з біологічного матеріалу, для вирішення питання про отруєння у ряді випадків результати цих визначень можуть бути занижені. Це пояснюється рядом причин.

Токсичні речовини в організмі певною мірою піддаються метаболізму. Речовини, що викликали отруєння нерівномірно розподіляються в органах до тканинах організму. У одних органах ці речовини знаходяться у більших кількостях, чим в інших, а в деяких органах і тканинах ці речовини можуть бути відсутніми. Тому результати хіміко-токсикологічного аналізу залежать від правильного вибору органів і тканин, що направляються на дослідження.

Отруйні речовини в організмі зв'язуються з білковими і іншими сполуками. Кількість речовин, що виділяються, перехідних у витяжки з біологічного матеріалу, залежить від використаного методу виділення токсичних речовин з відповідних об'єктів. Кількість токсичних речовин, виділених з біологічного матеріалу, залежить і від гнильного розкладання досліджуваних об'єктів. Вплив вказаних вище чинників на виділення токсичних речовин необхідно враховувати при оцінці результатів кількісного визначення отрут, виділених з біологічного матеріалу в ході хіміко-токсикологічного аналізу.

5.5. Застосування, токсикологічна характеристика, методи виділення з біологічного матеріалу і методи аналізу похідних фенотіазину

Похідні фенотіазину належать до нейролептиків. В основі хімічної будови даної групи сполук лежить кільце фенотіазину:



Різноманіття похідних фенотіазину обумовлене радикалами в положеннях 2 і 10 (табл. 1). З цієї групи сполук найбільше значення в хіміко-токсикологічному відношенні мають аміназин, дипразин, тизерцин та ін.

Таблиця 1

Хімічна будова деяких фенотіазинів

Препарат	Радикали	
	R ₁	R ₂
Аміназин	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—N}\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	—Cl
Дипразин	$\begin{matrix} \text{—CH—CH}_2\text{—N}\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix} \\ \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	—H
Тизерцин	$\text{—CH}_2\text{—CH}\begin{matrix} \\ \text{CH}_3 \end{matrix}\text{—CH}_2\text{—N}\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	—OCH_3

Фізико-хімічні властивості

Основний характер похідних фенотіазину зумовлений наявністю в структурі молекули гетероциклічного атома азоту ($pK_a = 4$) і третинного атома азоту в аліфатичному радикалі ($pK_a = 9,1 - 9,8$).

При взаємодії з кислотами фенотіазини утворюють солі – білі чи кремоваті порошки, розчинні у воді, спирті, хлороформі, але не розчинні в ефірі та бензолі.

Основи являють собою сироподібну масу, не розчинну у воді, але розчинну в спирті, ефірі, хлороформі.

Застосування

Похідні фенотіазину (аміназин, дипразин, тизерцин) справляють седативну дію, снодійний та антигістамінний ефекти. Препарати підсилюють дію наркотичних, снодійних і анальгезуючих засобів.

Похідні фенотіазину призначаються для лікування безсоння, психічних захворювань, алергій, дерматозів.

Токсична дія

Препарати характеризуються нейротоксичним ефектом, викликають психічні порушення; порушення діяльності серцево-судинної системи, диспептичні явища, порушення гемодинаміки.

При вживанні *терапевтичних доз* можливі ускладнення: падіння артеріального тиску, почастищення серцебиття, сухість у роті, світлобоязнь, сонливість.

При *гострих отруєннях* похідними фенотіазину настає коматозний стан, який характеризується розширенням зіниць, зниженням температури тіла; відбувається різке пригнічення дихального і судиннорухового центрів; з'являються тахікардія, ниткоподібний пульс. Смерть настає при легенево-серцевій недостатності.

Смертельна доза аміназину (для дорослих) 5–10 г.

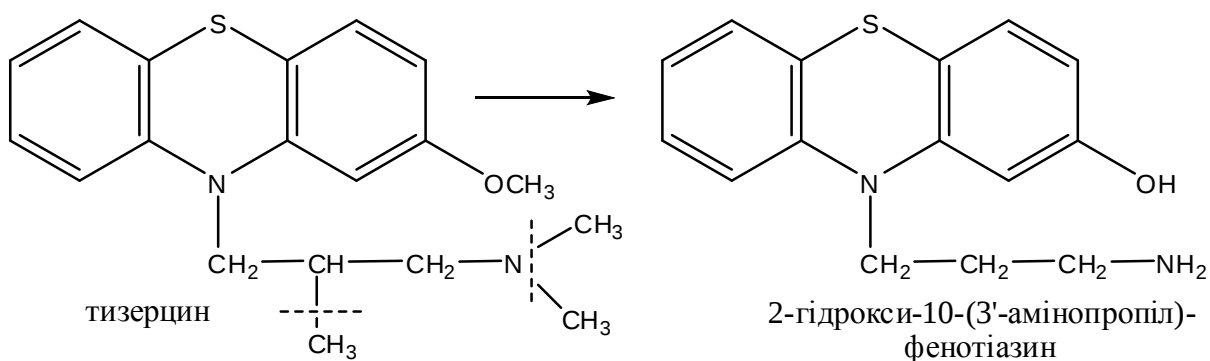
Поводження в організмі

Похідні фенотіазину як речовини основного характеру переважно всмоктуються в кишечнику, активно зв'язуються з білками, що зумовлює їхню здатність до кумуляції в організмі.

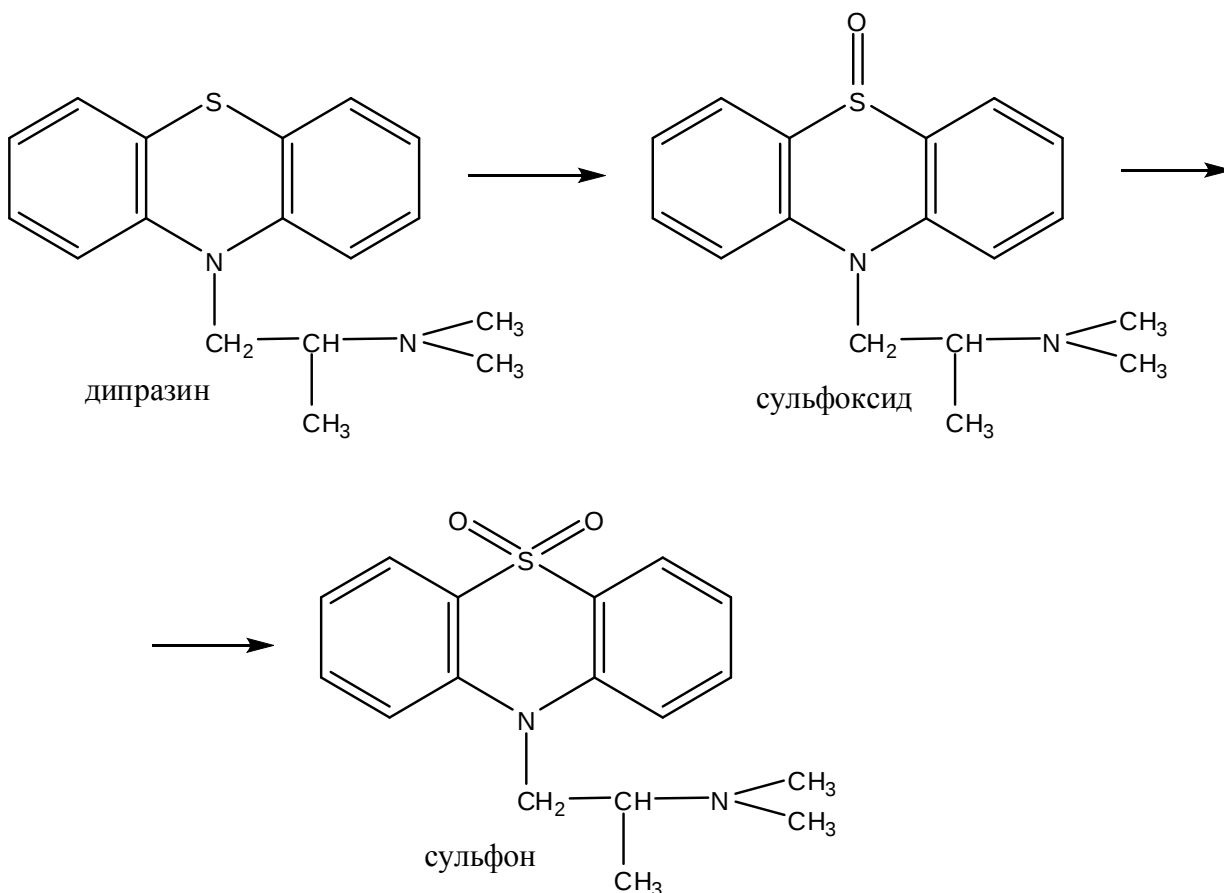
Препарати локалізуються в мозку, печінці, нирках. Виводяться нирками, у сечі виявляються переважно у вигляді метаболітів.

Метаболізм похідних фенотіазину відбувається в таких напрямках:

а) деметилювання:



б) окислення гетероциклічного атома сірки в сульфоксид і сульфон:



в) ароматичне гідроксилування в положеннях 3 і 6 з подальшою кон'югацією із глюкоуроною кислотою

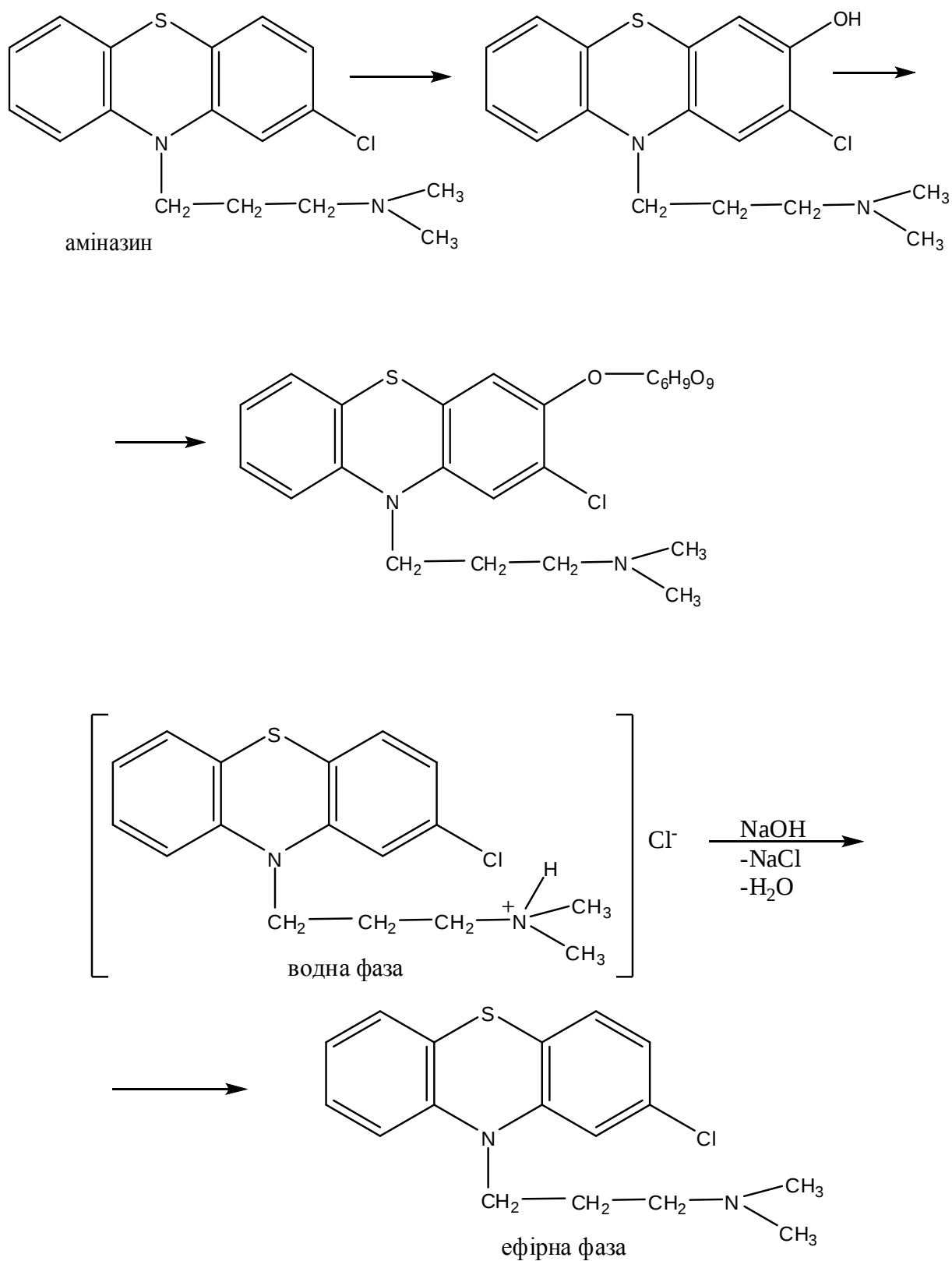
Направлений хіміко - токсикологічний аналіз на похідні фенотіазину

Об'єкти дослідження. Мозок, печінка, нирки, шлунок із вмістом, промивні води, легені, сеча.

Ізолювання препаратів проводиться за методами Є. М. Саломатіна – модифікованим методом Стаса – Отто (1) і Сшедзинського (2) з урахуванням фізико-хімічних властивостей похідних фенотіазину і стану біологічного матеріалу.

Методи характеризуються використанням амфіфільних розчинників – етанолу (1) и ацетонітрилу (2), що припускає наявність великої кількості супутніх домішок. Для руйнування зв'язку отрута – білок ($\text{pH} = 2-3$) застосовуються щавлева (1) і хлористоводнева (2) кислоти. При виділенні з біологічного матеріалу у водну фазу основи фенотіазину утворюють солі, які добре розчинні у воді, хлороформі, але погано розчинні в естері, що використовується для очистки витяжки від домішок. Крім екстракції домішок ефіром, очистку витяжок проводять осадженням білків 96%-вим спиртом, фільтруванням (1), а також висолюванням домішок за допомогою розчину Na_2SO_4 (2).

Враховуючи, що фенотіазини – сильні основи, їх переведення з водної в ефірну фазу проводиться при $\text{pH} = 13$, для чого водні витяжки підлужують розчином NaOH :



Для додаткового очищення проводиться реекстракція препаратів 0,5%-вим розчином H_2SO_4 , у який переходять солі фенотіазинів із сірчаною кислотою, а домішки залишаються в ефірній фазі.

ТШХ - скринінг проводиться в загальній системі розчинників хлороформ–діоксан–ацетон–25%-вий розчин амоніаку (45:47,5:5:2,5); сорбент – силікагель КСК; проявники – концентровані кислоти (H_2SO_4 , HNO_3 , HCl), а також розчини окислювачів HClO_4 і NaNO_2 ; реактиви Маркі, Манделіна.

Наявність плям рожевого і бузкового кольорів у 3-й зоні ($R_f = 0,63\text{--}0,83$) вказує на можливість присутності у витяжці похідних фенотіазину.

Отруту із сорбенту силікагелю виділяють елюентом метанол – диетиламін (9:1) з подальшим проведенням підтверджуючого етапу в частковій системі розчинників хлороформ – етанол (20:1) і циклогексан – ацетон (5:1); сорбент – алюмінію окис основний.

Як «свідки» використовуються хлороформні розчини препаратів даної групи. Для проведення наступного етапу аналізу фенотіазини екстрагують з хроматограми елюентом метанол – диетиламін (9:1).

Очистка. Етап скринінгу методом тонкошарової хроматографії дозволяє паралельно проводити якісну очистку від біогенних домішок, що локалізуються на хроматографічних пластинах у межах $R_f < 0,2$ і $R_f > 0,8$.

Однак у елюаті можлива присутність залишків домішок, які вилучають з використанням методів: екстракційного; гель-хроматографії; електрофорезу; поєднанням екстракційного і ТШХ-методів.

Підтверджуючі дослідження елюату включають найбільш чутливі хімічні та фізико-хімічні методи аналізу похідних фенотіазину.

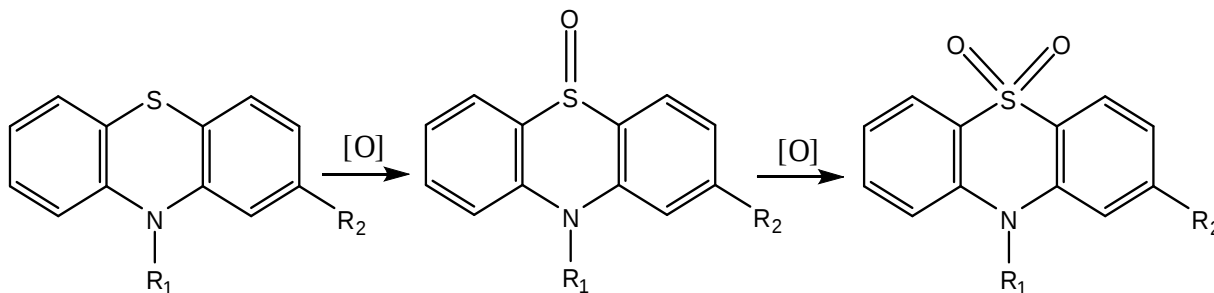
Хімічні реакції:

1. *Реакції осадження* із загальноалкалоїдними осадковими реактивами (пікринова кислота, сіль Рейнеке, реактиви Драгендорфа, Марме, Майєра, Зонненшейна та ін.).

Аморфні або кристалічні осадки з нехарактерною формою часток вказують на наявність гетероциклічного атома азоту в препаратах. Реакції високочутливі, неспецифічні.

2. *Реакції забарвлення* засновані переважно на хімічних процесах окислення, дегідратації, конденсації з альдегідами з використанням концент-

рованих кислот H_2SO_4 , HNO_3 , HCl , HClO_4 ; реактивів Фреде, Манделіна, Маркі; розчинів солей FeCl_3 , NaNO_2 .



Продукти реакцій забарвлені в червоно-фіолетовий, синювато-червоний кольори. Реакції забарвлення чутливі, неспецифічні.

3. *Мікрокристалоскопічні реакції* – більшість фенотіазинів утворюють характерні кристалічні осади із сіллю Рейнеке, однак диференціація окремих представників цієї групи за формою кристалів складна.

Фізико-хімічні методи аналізу:

1. *УФ - спектри похідних фенотіазину та продуктів їх окислення.*

Абсорбція похідних фенотіазину в УФ - області спектра характеризується наявністю двох максимумів:

а) $\lambda_{\text{max}}^{\text{I}} = 250 - 260 \text{ нм};$

б) $\lambda_{\text{max}}^{\text{II}} = 300 - 315 \text{ нм}.$

Порівняння УФ-спектрів солей похідних фенотіазину зі спектрами їх основ показує, що вони практично ідентичні. Отже, їхні УФ-спектри відбивають тільки електронну структуру фенотіaziнової частини молекули (аміназин, дипразин). Виняток становлять ті похідні, які у положенні 2 містять радикали з вільними π -елекtrонами (тизерцин).

Сульфоксиди фенотіазинів мають на відміну від нативних сполук чотири максимуми в УФ - області: $\lambda_{\text{max}} = 230, 265, 285 \text{ і } 400 \text{ нм}.$

2. *ІЧ-спектри* основ похідних фенотіазину (диск з калію бромідом) використовуються для підтвердження результатів дослідження в комплексі з хроматографічними та іншими спектральними методами.

3. Розподіл та ідентифікацію похідних фенотіазину проводять *ГРХ-і ВЕРХ-методами* за параметрами утримування (час і обсяг утримування).

Кількісний аналіз похідних фенотіазину в хіміко-токсикологічних дослідженнях проводять із застосуванням спектральних і хроматографічних методів.

Спектральні методи. *Фотометрія у видимій області спектра* заснована на вимірюванні поглинання забарвлених продуктів реакції похідних фенотіазину. Найширше застосовується метод фотоелектроколориметрії за реакцією з концентрованою сірчаною кислотою.

Недоліками методу є:

- можливість обвуглювання співекстрактивних речовин, особливо при використанні гнилісного біологічного матеріалу;
- нестабільне забарвлення з невідтворюваними значеннями оптичної густини.

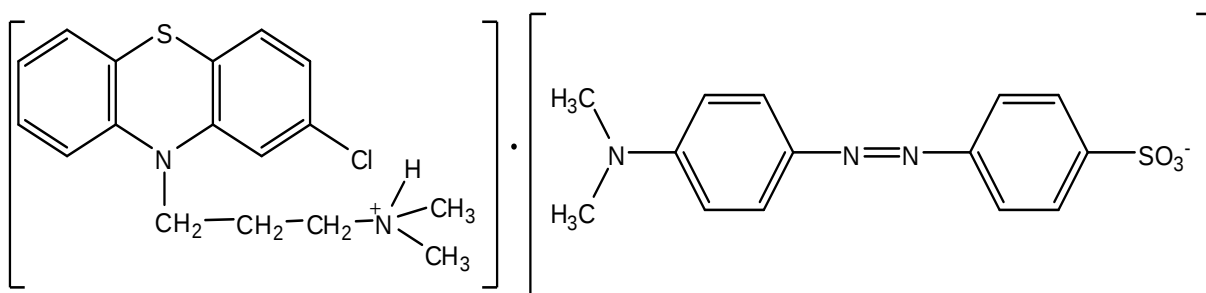
Фотометрія в УФ - області спектра – високочутливий метод, що вимагає ретельної очистки витяжок, використовується в поєднанні з ТШХ.

Виміри оптичної густини проводиться при $\lambda_{\max} = 250\text{--}255$ нм у 0,5%-вому розчині сірчаної кислоти.

Екстракційна фотометрія заснована на екстракції хлороформом іонних асоціатів фенотіазинів з кислотним індикатором (метилловим помаранчевим) із подальшим вимірюванням оптичної густини забарвленого органічного шару.

Метод чутливий, не вимагає високого ступеня очистки від домішок.

Приблизний склад іонного асоціату аміназину і метилового оранжевого:



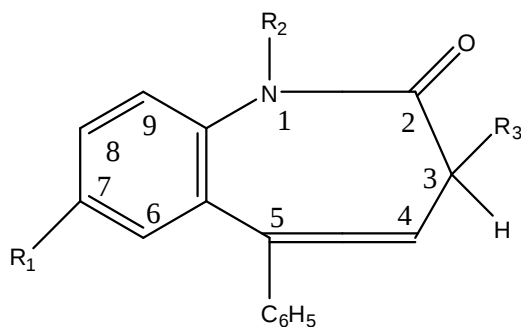
Хроматографічні методи. ГРХ- і ВЕРХ-методи (кількісна оцінка вмісту фенотіазинів проводиться за висотою або площею піка відповідної отрути).

ТІХХ - метод (кількісна оцінка вмісту фенотіазинів проводиться за інтенсивністю забарвлення плями або її площі).

Хіміко-токсикологічний аналіз похідних фенотіазину оцінюється за сукупністю результатів хімічних та фізико-хімічних методів.

5.6. Застосування, токсикологічна характеристика, методи виділення з біологічного матеріалу і методи аналізу похідних 1,4-бензодіазепіну

Похідні 1,4-бензодіазепіну належать до транквілізаторів, тобто до речовин заспокійливої дії.

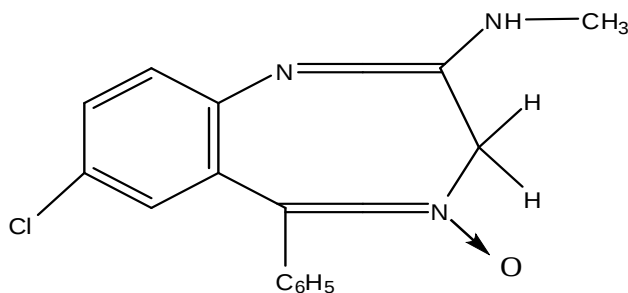


Найбільший хіміко-токсикологічний інтерес становлять хлордіазепоксид, діазепам, нітразепам, оксазепам та ін. (табл. 2).

Таблиця 2

Препарат	R ₁	R ₂	R ₃
Діазепам (сибазон)	—Cl	—CH ₃	—H
Нітразепам (радедорм)	—NO ₂	—H	—H
Оксазепам (тазепам)	—Cl	—H	—OH

Формула хлордіазепоксиду (хлосепіду, еленіуму):



Фізико-хімічні властивості

1,4-бензодіазепіни є слабкими основами. Основність сполук збільшується за наявності основних замісників. Так, хлордіазепоксид дає стійкі солі з сильними кислотами, виступаючи в ролі однокислотної основи. При введенні в ядро 1,4-бензодіазепінів різних груп ($-\text{NO}_2$; $-\text{OH}$) основність сполук знижується.

1,2-дигідропохідні 1,4-бензодіазепіну (оксазепам, нітразепам) виявляють також слабокислі властивості завдяки наявності в молекулі амідної групи.

Введення замісників у положення 1 і 3 знижує основність сполук переважно внаслідок стеричного екранування атома азоту в положенні 4 і утруднює його протонізацію.

Похідні 1,4-бензодіазепіну – кристалічні речовини білого або яскраво-жовтого кольору. Хлордіазепоксид добре розчинний у воді, а діазепам і оксазепам розчинні в спирті і хлороформі. Нітразепам практично нерозчинний в етиловому спирті і хлороформі. Найбільша розчинність похідних 1,4-бензодіазепіну спостерігається в апротонних розчинниках – диметилформаміді і диметилсульфоксиді.

Застосування

Похідні 1,4-бензодіазепіну справляють заспокійливу дію на ЦНС, мають протисудомну активність, сприяють нормалізації сну, зменшують почуття страху, підсилюють вплив снодійних і анальгезуючих речовин.

Препарати застосовуються при лікуванні невротичних станів, неврозах, міозитах, шизофренії, епілепсії, депресивних станах, при безсонні вна-

слідок нервового розладу, при захворюваннях шкіри, що супроводжуються свербінням тощо.

Токсична дія

Вибіркова токсична дія – психотропна, нейротоксична, що обумовлено гальмуванням ЦНС, нейронів спинного мозку і таламуса (міорелаксація).

При вживанні *терапевтичних доз* можливі ускладнення: розлад травлення, серцево-судинні, нервово-психічні порушення, алергічні реакції.

Легкий ступінь отруєння характеризується млявістю, загальмованістю, сонливістю, розширенням зіниць, зниженням м'язового тону.

При отруєнні *середнього ступеня* зазначені вище симптоми більш виражені, а також спостерігаються гіперемія обличчя, сухість шкіри, тахікардія. У ряді випадків відзначається ейфорія, м'язова гіпотонія.

Важка форма отруєння характеризується плутаною свідомістю, появою клонічних судом, галюцинаторного синдрому. Смерть настає у зв'язку з дихальною і серцево-судинною недостатністю – судинний колапс, зупинка дихання, набряк легень.

Смертельна доза хлордіазепоксиду 1–2 г. Токсична концентрація в крові – 5–20 мг/л, смертельна – понад 50 мг/л.

Поводження в організмі

Препарати всмоктуються в шлунку і тонкому кишковому. Механізм всмоктування – проста дифузія. Потрапляючи в кров, похідні 1,4-бензодіазепіну на 80–95 % зв'язуються з білками плазми.

Максимальна концентрація в крові при вживанні через рот досягається за 2–5 год. після введення терапевтичних доз препаратів. Концентрація їх у крові зберігається впродовж 2 год. на одному рівні, надалі починає повільно знижуватися.

Найбільший вміст похідних 1,4-бензодіазепіну відзначається в ШКТ, тканинах мозку, печінки і нирках.

Метаболізм препаратів відбувається в печінці.

Виводяться бензодіазепіни переважно нирками у вигляді нативних сполук і метаболітів.

Направлений хіміко - токсикологічний аналіз на похідні 1,4-бензодіазепіну

Об'єкти дослідження. Шлунок і тонкий кишковик із вмістом, головний мозок, печінка, нирки, кров, сеча.

Аналіз біологічного матеріалу на похідні 1,4-бензодіазепіну та їхні метаболіти виконується за двома напрямками:

напрямок I – за продуктами гідролізу – 2-амінобензофенонами (метод Б. М. Ізотова);

напрямок II – за вмістом в об'єктах дослідження нативних сполук разом із метаболітами.

Перевага дослідження похідних 1,4-бензодіазепіну за продуктами гідролізу – 2-амінобензофенонами – полягає в можливості сумарно визначати нативні сполуки і метаболіти. Аналіз за напрямом I має негативне судово-хімічне значення. При позитивному результаті необхідно продовжувати дослідження за напрямом II (за нативними сполуками і метаболітами), що дозволить точніше встановити природу отрути (особливо при наявності хлордіазепоксиду та оксазепаму, що мають ряд загальних метаболітів і гідролізуються до 2-аміно-5-хлорбензофенону).

Ізолювання за напрямом I

Ізолювання за методом Б. М. Ізотова проводиться після деструкції гомогенізату органа 6M розчином хлористоводневої кислоти.

В результаті гідролізу об'єкта в колбі зі зворотним холодильником на гліцериновій бані ($t = 140\text{--}145^{\circ}\text{C}$) протягом 60 хв. відбуваються руйнування зв'язку білок – отрута і розрив азепінового циклу нативних отрут з утворенням бензофенонів.

Гідролізат очищають центрифугуванням і фільтруванням.

Враховуючи, що бензофенони характеризуються основними властивостями, їх переводять в іонізований стан при підлучуванні водної фази розчином NaOH і екстрагують сумішшю хлороформ – пентанол (9:1).

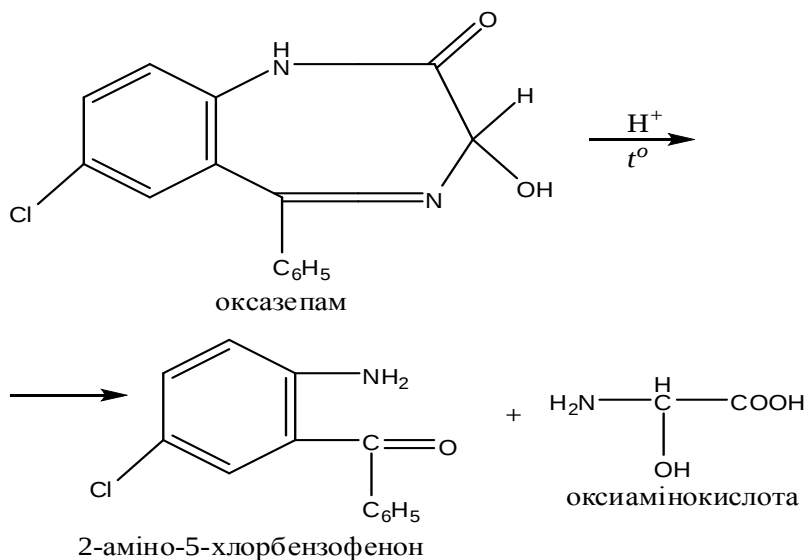
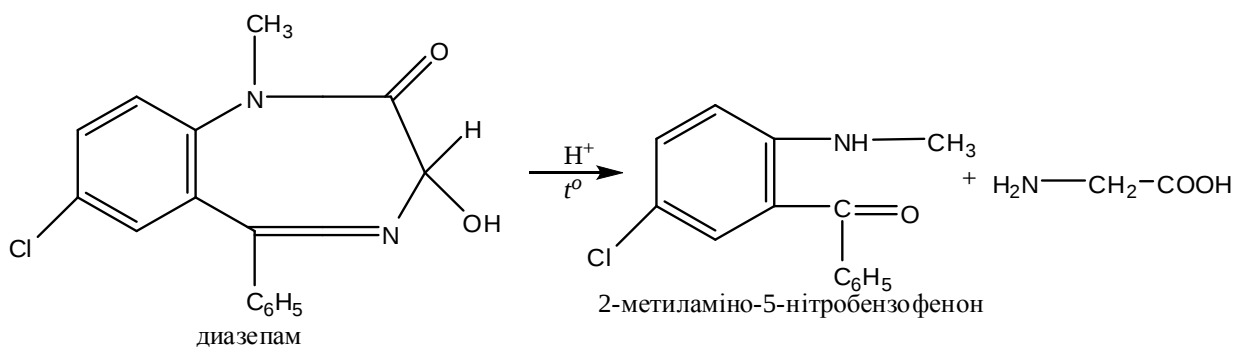
Ізолювання за напрямом I можна проводити полярними розчинниками:

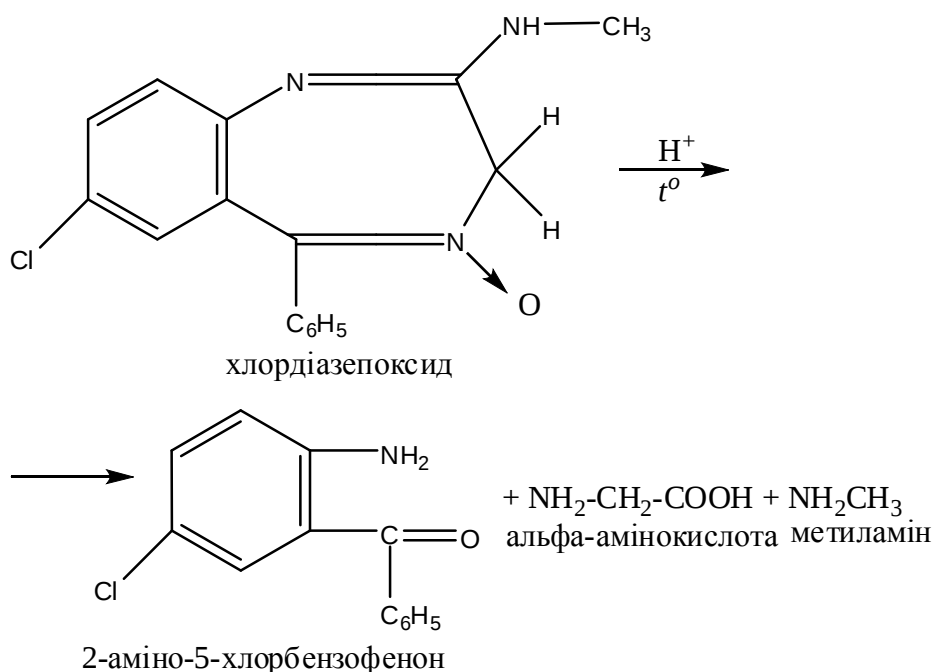
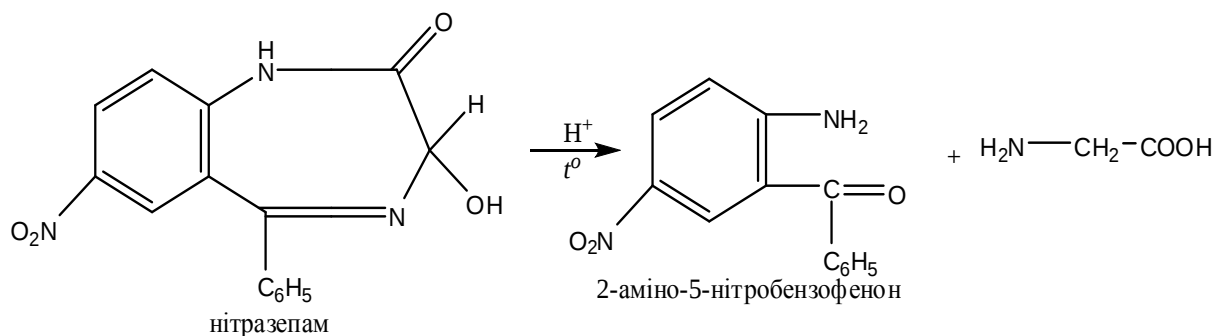
– за методом О. О. Васильєвої – водою, підкисленою щавлевою кислотою;

– за методом Стаса – Отто – спиртом, підкисленим щавлевою кислотою. Похідні 1,4-бензодиазепіну екстрагують хлороформом з водної фази при $\text{pH} = 2-3$ і $\text{pH} = 9-10$ або адсорбують на полімерних сорбентах з подальшим елююванням хлороформом.

Після відділення органічної фази залишок розчиняють у 6M розчині HCl і проводить гідроліз при 120°C упродовж 20 хв.

Схеми кислотного гідролізу похідних 1,4-бензодиазепіну:





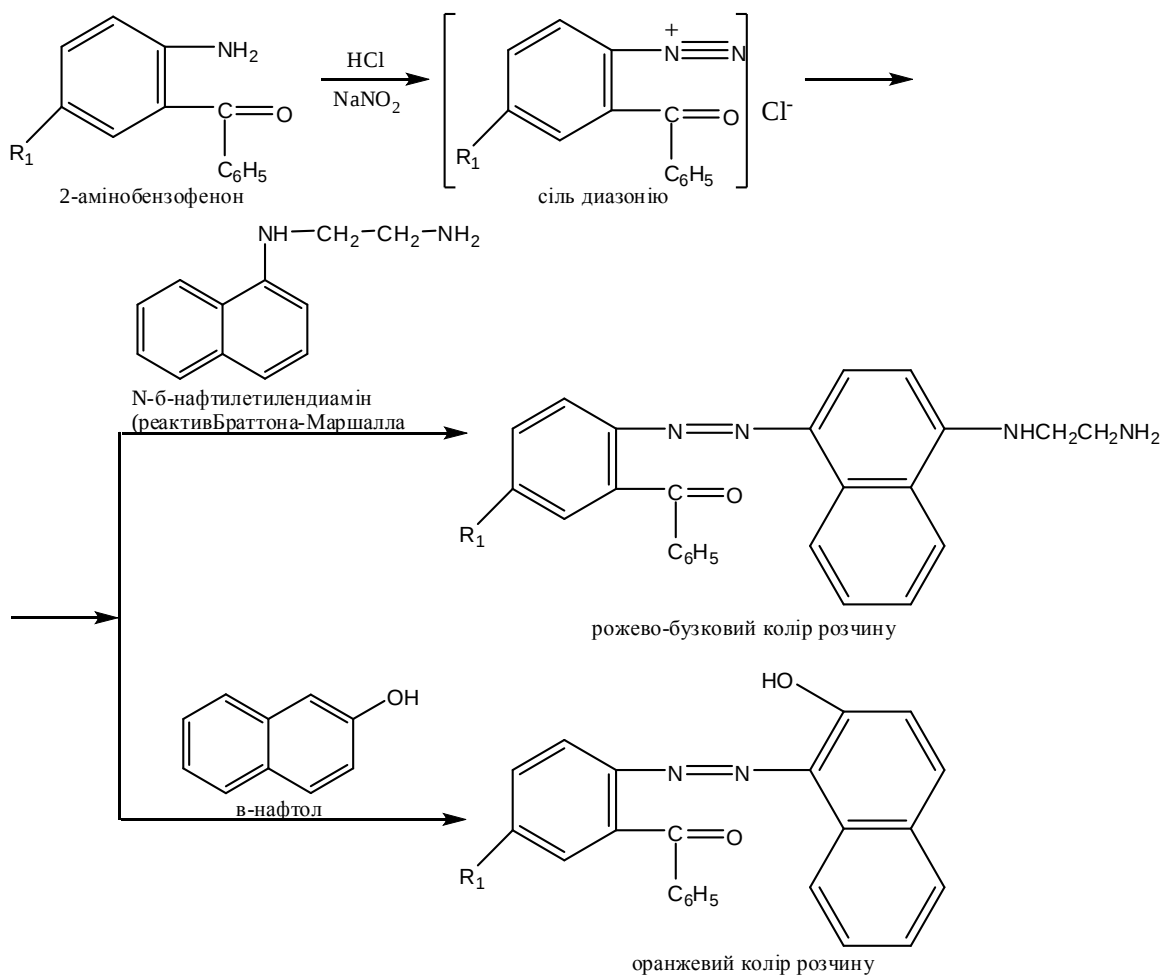
ТШХ - скринінг. 1-й етап – у загальній системі розчинників хлороформ–діоксан–ацетон–25%-вий розчин амоніаку (45:47,5:5:2,5); сорбент – силікагель КСК. Виявлення бензофенонів проводиться за власним жовтим забарвленням плям; за реакцією утворення азобарвника (2-амінобензофенони) з β - нафтолом (помаранчеві плями) або з N- α -нафтилетилендіаміном (рожево-бузкові плями). Бензофенони ($R_f = 0,63–0,70$) із сорбенту елюють бензолом.

2-й етап – у часній системі розчинників хлороформ – етанол (20:1); сорбент – алюміній окис основний; $R_f = 0,60–0,63$; елюент – бензол.

Очистка від співекстрактивних домішок проводиться методами тонкошарової хроматографії, електрофорезу, гель-хроматографії, екстракційним методом.

Виявлення бензофенонів проводять за допомогою:

реакції забарвлення – утворення азобарвника:



P

реакції чутливі, неспецифічні;

УФ-спектрів бензофенонів:

- а) при $\text{pH} < 5 - \lambda_{\text{max}} = 265 \text{ нм};$
- б) при $\text{pH} > 7 - \lambda_{\text{max}} = 235, 390 \text{ нм}.$

Кількісна оцінка бензофенонів проводиться фотометрично у видимих межах спектра, в УФ - області спектра, екстракційно - фотометрично, з кислотними барвниками.

Хроматографічні методи ГРХ і ВЕРХ застосовуються для ідентифікації і кількісного аналізу продуктів гідролізу похідних 1,4-бензодиазепіну в біологічних витяжках після очистки від домішок.

Ізолювання за напрямом II

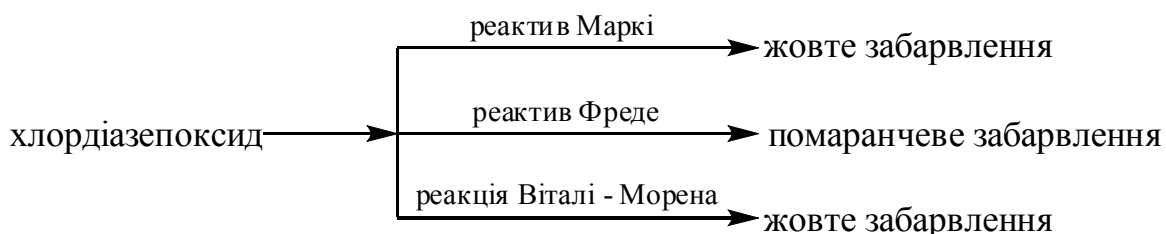
Ізолювання проводиться полярними розчинниками (загальні методи). Після екстракції хлороформом бензодиазепінів та їх метаболітів з підкисленої і підлуженої водних фаз проводять **ТШХ - скринінг** у загальній системі розчинників (для речовин основного характеру); проявник – реактив Драгендорфа за Муньє (помаранчево-коричневі плями з $R_f = 0,63-0,77$).

Речовини елюють розчинниками метанол–25%-вий розчин амоніаку (9:1) і хроматографують у часткових системах розчинників хлороформ – етанол (20:1). Після проявлення плям реактивом Драгендорфа ідентифікують нативні речовини, порівнюючи їх зі «свідками», з подальшим елюванням отрут (елюент метанол–25%-вий розчин амоніаку (9:1)) і проведенням **підтверджуючих досліджень**.

Хімічні методи:

1. *Реакції осадження*. Через наявність у молекулах третинних атомів азоту похідні 1,4-бензодиазепіну утворюють осадки із загально-алкалоїдними осадковими реактивами Драгендорфа і Бушарда, пікриновою кислотою, сіллю Рейнеке та ін. Діазепам і хлордiazепоксид з нінгідрином дають жовто-коричневе забарвлення.

2. *Реакція забарвлення на нативні речовини:*



Діазепам і хлордiazепоксид з нінгідрином мають жовто-коричневе забарвлення.

3. *Реакції забарвлення на метаболіти* (продукти гідролізу) – 2-амінобензофенони, утворені при гідролізі хлордiazепоксиду, нітразепаму,

оксазепаму, дають реакцію утворення азобарвника (за винятком 2-метиламінобензофенону).

Фізико-хімічний метод. *УФ-спектрометрія.* В електронних спектрах похідних 1,4-бензодіазепіну утворюються три смуги поглинання з $\lambda_{\max}$ у межах:

- 1) 200 - 215 нм;
- 2) 220 - 240 нм;
- 3) 290 - 330 нм.

Дві перші смуги відповідають збудженню ароматичних хромофорів. Третю, довгохвильову смугу відносять до азометинового зв'язку, з'єднаного з фенольною групою.

За характером поглинання в УФ - області 1,4-бензодіазепіни належать до сполук, абсорбція яких змінюється залежно від величини значень рН:

– у кислому середовищі – завдяки протонуванню атома азоту в положеннях 1 (хлордіазепоксид) і 4 (1,2-дигідропохідні 1,4-бензодіазепіну – нітразепам, оксазепам, діазепам);

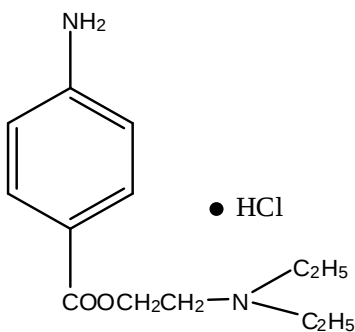
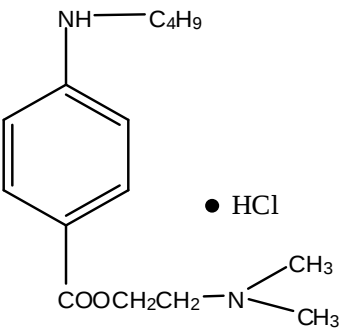
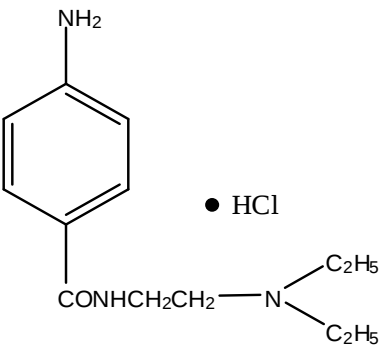
– у лужному середовищі в молекулі 1,2-дигідропохідних 1,4-бензодіазепіну спостерігається зміна хромофорної системи, тобто збільшення сполуки завдяки лактим - лактамній таутомерії азометинового зв'язку в положеннях 1–2 (нітразепам, оксазепам).

Дослідження нативної сполуки і метаболітів дає можливість провести ідентифікацію похідних 1,4-бензодіазепіну всередині групи і підтвердити результати аналізу за бензофенонами.

5.7. Застосування, токсикологічна характеристика, методи виділення з біологічного матеріалу і методи аналізу похідних *n*-амінобензойної кислоти (ПАБК)

Похідні *n*-амінобензойної кислоти (новокаїн, новокаїнамід, дикаїн та ін.) широко застосовуються в медичній практиці, характеризуються токсичними ефектами, що обумовлює їх хіміко-токсикологічне значення .

Похідні ПАБК

Препарат	Хімічна формула	Хімічна назва
Новокаїн		бета-диетиламіноетилового ефіру <i>n</i> -амінобензойної кислоти гідрохлорид
Дикаїн		бета-диетиламіноетилового ефіру <i>n</i> -бутиламінобензойної кислоти гідрохлорид
Новокаїнамід		бета-диетиламід <i>n</i> -амінобензойної кислоти гідрохлорид

Фізико-хімічні властивості

Препарати мають основні властивості. Значення величин $pK_a = 4,6$ (аміногрупа) і $9,24$ (третинний атом азоту).

У медицині використовуються солі похідних ПАБК, які мають вигляд білих або жовтуватих кристалічних порошків, розчинних у воді, етанолі, малорозчинних у хлороформі і нерозчинних у диетиловому ефірі.

Оптимально екстрагуються основи похідних ПАБК із водних розчинів органічними розчинниками (диетиловий ефір, хлороформ) при $pH = 11$.

Застосування

Лікарські засоби новокаїнамід, новокаїн, дикаїн мають місцеву анестезуючу дію.

Новокаїн після всмоктування в кров знижує збудливість периферичних холінореактивних систем, при цьому спостерігаються зменшення спазмів гладкої мускулатури, зниження збудливості м'яза серця і деяких відділів головного мозку.

Дикаїн застосовується для анестезії гортані при інтубації та бронхографії, в офтальмології.

Новокаїнамід характеризується здатністю знижувати збудливість і провідність серцевого м'яза і застосовується як антиаритмічний засіб.

Токсична дія

Препарати спричиняють нервово-психічні та серцево-судинні розлади.

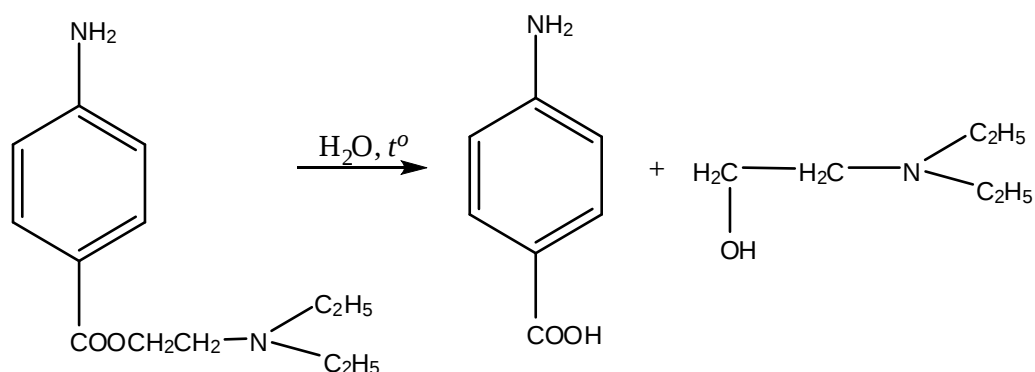
У терапевтичних дозах вони викликають алергічні ускладнення (висипи на шкірі), запаморочення, диспептичні явища, набряк шкіри, слизових оболонок, бронхоспазм.

У токсичних дозах спричиняють порушення, а згодом параліч центральної нервової системи. Клінічна картина характеризується психомоторними порушеннями, тоніко-клонічними судомами, втратою свідомості, зниженням артеріального тиску, брадикардією.

За токсичністю дикаїн перевершує новокаїн (летальна доза 1 г) і новокаїнамід (летальна доза 1,5 г).

Поводження в організмі

Новокаїн застосовується в основному для ін'єкцій. Потрапляючи в кров, він швидко гідролізується до *n*-амінобензойної кислоти і диетиламіноетанолу:



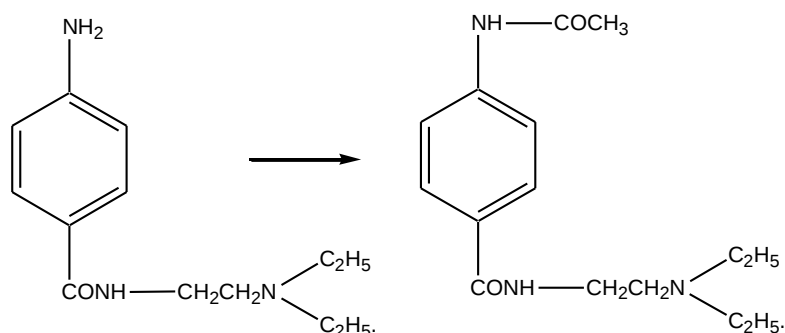
Тільки 2% від введеної внутрішньовенно дози новокаїну виводиться в незміненому стані протягом перших 24 год, а 90% виводиться у вигляді *p*-амінобензойної кислоти, що виявляється в крові частково у вільній, частково в кон'югованих формах.

Диетиламіноетанолу у вільному стані виводиться близько 33%, кількість, що залишилася, метаболізує далі.

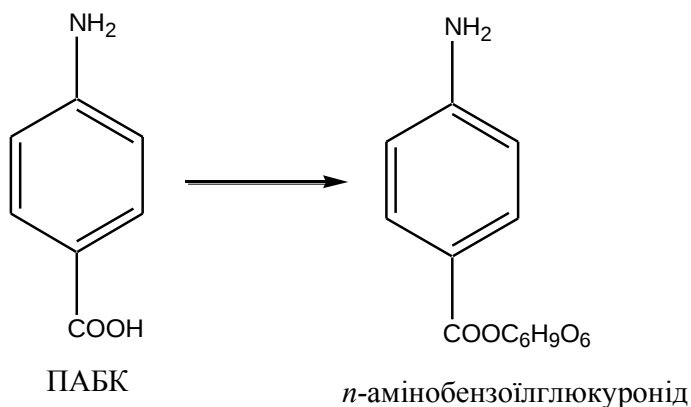
Дикаїн в організмі метаболізується з утворенням *p*-амінобензойної кислоти.

Новокаїнамід при оральному введенні швидко і майже повністю абсорбується з травного тракту. Максимальна концентрація сполуки в плазмі людини виявляється через 15–60 хв. після введення.

Тільки 14% від загального вмісту новокаїнаміду в крові знаходиться у зв'язаному стані з альбумінами. Тому він у великих кількостях може бути виявлений в інших органах і тканинах (50–60% від введеної кількості новокаїнаміду виводиться із сечею за 24 год. в незміненому стані). Основним метаболітом є *N*-ацетилновокаїнамід, який фармакологічно активний і може бути присутнім у плазмі в більш високих концентраціях, ніж нативна сполука.



2–10 % новокаїнамід у метаболізується до *n*-амінобензойної кислоти, яка виявляється як у вільній, так і в кон'югованій формах.



Направлений хіміко - токсикологічний аналіз на похідні ПАБК

Об'єкти дослідження. Печінка, нирки, кров, сеча.

Ізолювання препаратів – похідних *n*-амінобензойної кислоти – з біологічних об'єктів (тканин органів) проводиться водою, підкисленою до рН = 2–3 хлористоводневою кислотою, при цьому солі препаратів добре розчиняються у воді. З водної фази препарата у вигляді основ екстрагуються хлороформом при рН = 11 (підлужування водної фази проводять розчином NaOH). Домішки залишаються у водній фазі.

При проведенні **ТШХ - скринінгу** похідні *n*-амінобензойної кислоти на 1-му етапі – у загальній системі розчинників для речовин основного характеру – виявляються в 3-й зоні ($R_f = 0,63–0,83$). Після елюювання препаратів системою розчинників метанол – 25%-вий розчин амоніаку (9:1) проводять ТШХ - скринінг на 2-му етапі – у частковій системі хлороформ – етанол (20:1), сорбент – алюмінію окис основний. Для проявлення препаратів на пластинках використовують реактив Драгендорфа за Муньє (оранжево-коричневі плями) або ідентифікують за реакцією утворення азобарвника з β -нафтолом (оранжеві плями).

Після елюювання при необхідності вдаються до поєднання ТШХ - методу з екстракційним (для очистки екстракту від домішок) і проводять підтверджуючі дослідження.

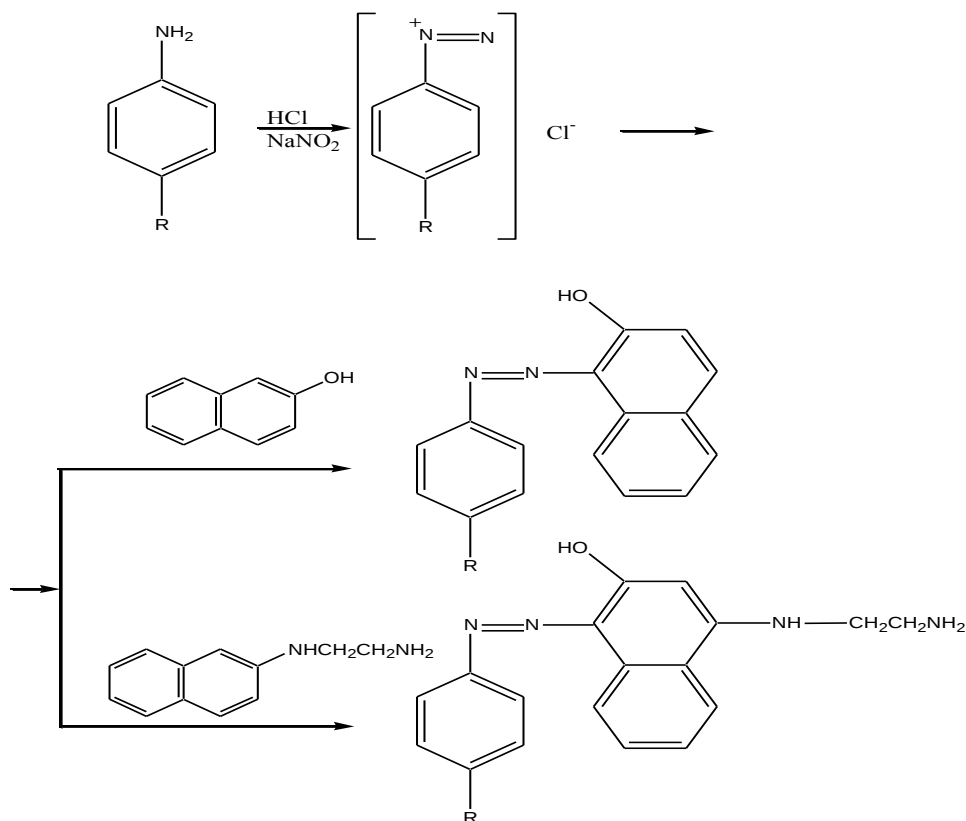
1. Реакції осадження із загальноалкалоїдними осадовими реактивами, в результаті яких утворюються кристалічні або аморфні осади. Реакції високочутливі, неспецифічні.

2. Мікрокристалоскопічні реакції – високочутливі, специфічні:

- з реактивом Драгендорфа – кристали у вигляді тонких голок, зібраних у пучки (новокаїн) або ромбовидні пластинки (новокаїнамід);
- з розчином бромистого золота – кристали у вигляді пластинок і голок (новокаїн);
- з розчином хлорної платини – щільні розетки (новокаїнамід);
- з розчином натрію нітриту – призми, роздвоєні на кінцях (дикаїн).

3. Реакції забарвлення (хромогенні):

- реакція Віталі – Морена: помаранчево – жовтий колір розчину (новокаїн); жовто-коричневий колір розчину (новокаїнамід); криваво-червоний колір розчину (дикаїн). Реакція неспецифічна;
- реакція утворення азобарвника: з β -нафтолом (червоно-оранжеве забарвлення) або з N- α -нафтилетилендіаміном (рожево-бузкове забарвлення) – для новокаїну і новокаїнаміду.



Для підтвердження наявності похідних *n*-амінобензойної кислоти використовуються фізико-хімічні методи – УФ- та ІЧ-спектрометрія, ТШХ-, ГРХ-, ВЕРХ-методи.

УФ-спектри похідних *n*-амінобензойної кислоти характеризуються наявністю трьох максимумів поглинання в розчині сірчаної кислоти за $\lambda_{\max}$ у межах:

- 1) 228-230 нм;
- 2) 272-281 нм;
- 3) 279-312 нм.

Кількісне визначення проводиться спектральними і хроматографічними методами.

5.8. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі

210. Сучасні загальні та окремі методи ізолювання отруйних та сильнодіючих речовин полярними розчинниками Характеристика та порівняльна оцінка.

211. Схема аналізу «кислого» хлороформного витягу з речовин, які ізолюється з біологічного матеріалу полярними розчинниками.

212. Схема аналізу «лужного» хлороформного витягу з речовин, які ізолюється з біологічного матеріалу полярними розчинниками

213. Екстракція алкалоїдів та інших токсичних речовин з витяжок. Фактори, які визначають ефективність екстракції «отрут» на різних етапах ізолювання.

214. Виявлення та кількісне визначення отруйних речовин, що ізолюються підкисленою водою або підкисленим етиловим спиртом.

215. Барбаміл. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

216. Барбітал. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

217. Фенобарбітал. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

218. Амобарбітал. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

219. Етамінал-натрій. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

220. Тіопентал-натрій. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

221. Гексенал. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

222. Похідні ксантину (кофеїн та ін.). Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

223. Кислота саліцилова та її похідні (кислота ацетилсаліцилова, феніл саліцилати, метилсаліцилат, саліциламід). Історія відкриття та застосування. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

224. Фенацетин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

225. Парацетамол. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

226. Антипірін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

227. Амідопірін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

228. Анальгін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

229. Бутадіон. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

230. Наркотин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

231. Меконова кислота та меконін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

232. Ноксирон. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

233. Хінін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

234. Морфін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

235. Кодеїн. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

236. Папаверин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

237. Дротаверін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

238. Галантамін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

239. Анабазин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

240. Нікотин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

241. Ареколін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

242. Коніїн. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

243. Атропін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

244. Скополамін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

245. Кокаїн. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

246. Стрихнін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

247. Бруцин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

248. Резерпін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

249. Пахікарпін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

250. Секуринін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

251. Ефедрин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

252. Псевдоефедрин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

253. Фенілпропаноламін. Токсикологічне значення. Катіон. Мет-катіон.

254. Аконітин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

255. Серцеві глікозиди. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

256. Карденоліди. Загальна схема судово-хімічного дослідження.

257. Новокаїн. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

258. Дикаїн. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

259. Новокаїнамід. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

260. Ізоніазид. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

261. Фтивазид. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

262. Аміназин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

263. Дипразин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

264. Тизерцин. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

265. Хлордіазепоксид. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

266. Діазепам. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

267. Нітразепам. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

268. Оксазепам. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

269. Амітриптилін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

270. Азафен. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

271. Баклофен. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

272. Мідокалм. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

273. Апоморфін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

274. Дионін. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

275. Героїн. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

276. Промедол. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

277. Гашиш. Токсикологічне значення, закономірність поведінки в організмі, метаболізм. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення. Оцінка результатів аналізу.

278. Характеристика і хіміко-токсикологічний аналіз похідних імідазоліну. Клофелін.

279. Які методи ізолювання використовуються при проведенні цілеспрямованого дослідження на барбітурати? Поясніть вибір методів та їх особливості.

280. Які методи ізолювання використовуються при проведенні цілеспрямованого дослідження на похідні фенотіазину? Поясніть вибір методів та їх особливості.

281. Які методи ізолювання використовуються при проведенні цілеспрямованого дослідження на похідні 1,4-бенздіазепіну? Поясніть вибір методів та їх особливості.

282. Після випарювання органічного розчинника («лужної» хлороформної витяжки) відмічали наявність залишку бурого кольору. Як проведете наступне дослідження?

283. Який метод ізолювання використовують при проведенні цілеспрямованого дослідження на алкалоїди? Поясніть вибір методу та його особливості.

284. При дослідженні "кислого" хлороформного екстракту з сечі за допомогою ТШХ-скринінгу хроматографічні пластинки обробляють 5% розчином ферум (III) хлориду, при цьому утворювалась пляма синьо-фіолетового кольору з $R_f=0,20 \pm 0,01$. Виконайте подальше дослідження екстракту.

285. При дослідженні "лужного" хлороформного екстракту з промивних вод шлунку за допомогою ТШХ-скринінгу після обробки хроматограми 10% розчином кислоти сульфатної та під дією УФ-світла зазначили наявність плями з голубою флуоресценцією. Виконайте підтверджуючі реакції на цю речовину.

286. При дослідженні "лужного" хлороформного екстракту з крові за допомогою ТШХ- скринінгу в загальних системах розчинників після обробки хроматограм реактивом Драгендорфа утворювалась оранжево-коричнева пляма. З іншими реактивами забарвлених та флюоресцюючих плям не знайдено. Які групи речовин можна виключити з подальшого дослідження ? Надайте пояснення.

287. Наведіть схему виявлення похідних пурину в "кислій" хлороформній витяжці.

288. Наведіть схему виявлення барбамілу в "кислій" хлороформній витяжці.

289. При дослідженні "кислої" хлороформної витяжки за допомогою ТШХ-скринінгу в системі розчинників ацетон - хлороформ (1:9) після обробки хроматограми дифенілкарбазидом і меркурій сульфатом утворилась пляма зі значенням величини R_f - 0,4 (зона 2). Яка схема подальшого дослідження, що може підтвердити результати попереднього етапу хроматографічного аналізу?

290. Виберіть метод кількісного визначення барбіталу в екстрактах з сечі: фотоколориметричний, пряма спектрофотометрія, диференційна спектрофотометрія. Поясніть свій вибір.

291. Проведіть виявлення фенобарбіталу в присутності кофеїну в екстрактах з сечі.

292. На хроматограмі після проведення аналізу на барбітурати проявились плями з різним значенням R_f . Як в подальшому ідентифікувати кожний з барбітуратів?

293. Із обставин справи відомо, що постраждалий приймав снодійне – ефект сна не спостерігався. Виділена з біологічного матеріалу речовина дала позитивну реакцію на барбітурати з аміачним розчином кобальт ацетату. Наявність якого барбітурату можна передбачити?

294. Знайдено труп жінки 52 років, поряд - конвалюти з-під фенобарбіталу. Проведіть хіміко-токсикологічний аналіз внутрішніх органів.

295. Покажіть можливість виявлення анальгін у присутності найближчих аналогів (амідопін, антипін).

296. На хроматограмі після проведення ТШХ-скринінгу та обробки її розчином ферум (III) хлориду не утворилось забарвлених плям. Які ваші дії по відношенню дослідження похідних піразолону?

297. При нанесенні проби екстракту на лігнін утворилось лимонно-жовте забарвлення. Складіть подальший план хіміко-токсикологічного аналізу.

298. При дослідженні "кислої" хлороформної витяжки за допомогою ТШХ-скринінгу були виявлені похідні піразолону. Потрібно чи ні проводити аналіз «лужної» хлороформної витяжки на вказані речовини?

299. При дослідженні "кислої" хлороформної витяжки за допомогою ТШХ-скринінгу в загальній системі після обробки хроматограми розчином утворилось синьо-фіолетове забарвлення в першій хроматографічній зоні. Проведіть підтверджуючі дослідження з екстрактом або елюатом з хроматограми.

300. В результаті хроматографічного дослідження (рухомий розчинник – бензол) екстракту з гідролізату тканин органів одержана пляма зі значенням R_f , яка відповідає 2-аміно-5-хлорбензофенону. Дайте вірне заключення.

301. В результаті хроматографічного дослідження (рухомий розчинник – бензол) екстракту з гідролізату тканин органів одержана пляма зі значенням R_f , яка відповідає 2-аміно-5-нітробензофенону. Дайте вірне заключення.

302. При дослідженні гідролізату з тканин органів на бензофенони була одержана на хроматограмі одна пляма, яка світиться в УФ- області спектра (254-360 нм), але при подальшому проведенні реакції Браттона - Маршалла азобарвник не утворився. Дайте вірне заключення.

303. При хромагографуванні зі «свідком» (рухомий розчинник - бензол) екстракту з гідролізату тканин органів утворилась жовта пляма на рі-

вні 2-метиламіно-5-нітробензофенону. Підтвердіть наявність відповідного 1,4-бенздіазепіну, згідно схеми дослідження.

304. Зафіксовано гостре отруєння жінки 42 років. За словами родичів, хвора зловживала таблетками радедорма. Проведіть направлене хіміко-токсикологічне дослідження з метою підтвердження діагнозу - отруєння радедормом.

305. Проведіть хіміко-токсикологічне дослідження таблеток на похідні 1,4-бенздіазепіну, які були знайдені серед речей померлого. Розробіть схему аналізу на похідні 1,4-бенздіазепіну.

306. Знайдено труп чоловіка 60 років, поряд – конвалюти з-під еле ніума. Проведіть хіміко-токсикологічний аналіз внутрішніх органів.

307. Відбулося гостре отруєння дитини. Серед дитячих іграшок була знайдена пуста упаковка з-під аміназину. Проведіть хіміко-токсикологічне дослідження для підтвердження клінічного діагнозу - отруєння аміназином.

308. З метою суїциду був прийнятий левомепромазин. Проведіть хіміко-токсикологічне дослідження сечі.

309. Відмічено смертельне отруєння хворого, який знаходився на обліку в психоневрологічному диспансері з діагнозом захворювання на шизофренію. Проведіть хіміко-токсикологічне дослідження тканин органів на похідні фенотіазину.

310. При проведенні ТШХ- скринінгу «лужної» хлороформної витяжки з сечі після обробки хроматограми спиртовим розчином сульфатної кислоти забарвлених плям не спостерігали. Які ваші подальші дії по відношенню дослідження похідних фенотіазину?

311. Чи достатньо реакцій забарвлення при направленому аналізі екстракту з біологічного матеріалу на стрихнін? Які випробування необхідно виконати додатково?

312. За якими метаболітами проведете дослідження на новокаїн та седуксен?

313. Виберіть органи трупа жінки для дослідження на хінін та пахікарпін. Поясніть свій вибір.

314. Розділіть морфін та кодеїн екстракційним методом при сумісній присутності в екстракті з біологічного матеріалу.

315. Запропонуйте методи кількісного визначення хініну.

316. Чи необхідно проводити дослідження на ефедрин, коли при обробці хроматограми (ТІІХ- скринінг) реактивом Драгендорфа забарвленої плями не одержали?

317. Виберіть один з нижчеописаних об'єктів для дослідження на ефедрин: промивні води шлунку, сеча, кров, слина та змиви з ротової порожнини. Дайте пояснення своєму вибору.

318. При проведенні підтверджуючих реакцій на ефедрин виявилось, що з реактивом Драгендорфа та сіллю Рейнеке утворились осад, а з розчином нінгідрину забарвлення не було. Який потрібно зробити висновок? Обґрунтуйте заключення або подальшу дію.

319. В лікарню поступила дитина з ознаками отруєння тропановими алкалоїдами. Проведіть хіміко-токсикологічне дослідження промивних вод, сечі, крові.

320. Зафіксовано отруєння алкалоїдами. Проведіть хіміко-токсикологічне дослідження внутрішніх органів на анабазин.

321. Знайдено труп чоловіка, який багато часу знаходився на обліку у зв'язку з застосуванням наркотиків. Проведіть дослідження внутрішніх органів на морфін та кодеїн.

322. Зроблено кримінальний аборт пахікарпіном з летальним кінцем. Проведіть хіміко-токсикологічне дослідження внутрішніх органів.

323. При дослідженні "лужної" хлороформної витяжки в загальній системі розчинників тільки з реактивом Драгендорфа утворилась забарвлена пляма. При проведенні хроматографічного дослідження в частковій системі зі "свідком" - новокаїном, останній дав пляму після проявлення зі значенням R_f , близьким до R_f досліджуваного екстракту. Але після елюю-

вання плями з необробленої зони і проведенні уточнюючих досліджень (реакції утворення азобарвника, Віталі-Морена) елюат не дав позитивного результату. Поясніть ситуацію.

324. При виконанні хіміко-токсикологічного аналізу на новокаїн хімік-експерт взяв на дослідження 100 мл сечі для проведення кількісного визначення. При повторній експертизі було одержано більш низький результат вмісту новокаїну в сечі. Яку помилку допустив хімік-експерт, з чим це зв'язано, що його перший результат аналізу був завищеним?

325. Складіть один з варіантів схеми хіміко-токсикологічного дослідження печінки трупа людини на новокаїн в присутності новокаїнаміду.

326. Проаналізуйте, які речовини можуть запобігати проведенню мікрокристалоскопічних та кольорових реакцій на новокаїн?

327. Запропонуйте схему дослідження біологічного матеріалу на присутність кислоти 4-амінобензойної та новокаїну.

328. На судово-хімічну експертизу (СХЕ) доставлені: внутрішні органи, кров, сеча, волосся трупа, посуд з-під медового десерту «Веселка» і залишки десерту «Веселка».

Обставини справи. У одному з селищ Запорізької області сталася трагедія: загинув господар будинку громадянин С. в невмотивованої агресії молодій жінки і її супутника. Молоді люди працювали разом на фармацевтичній фірмі і приїхали у гості до свого колеги, який декілька днів був відсутній на роботі. Господар будинку запросив їх випити каву і запропонував на десерт своє фірмове блюдо «Веселка» – гриби з медом. Незвичайний десерт дуже сподобалося гостям. Трагічні події сталися приблизно за годину після того, як молоді люди випили каву.

З матеріалів слідства: результати огляду на стан наркотичного і алкогольного сп'яніння затриманих показали наявність в їх сечі (0,005 і 0,004 – мкг/мл) і волоссі (16 і 17 нг/мг) наркотичної речовини D, в крові – наркотичних речовин D (0,01 і 0,02 мкг/мл), A і його ефіру з кислотою фосфатною в концентрації, яка відповідала прийомній дозі галюциногена (6–8 мі-

ліграм). Десерт «Веселка» містив наркотичну речовину А і його ефір з кислою фосфатною. Огляд трупа давав підставу припустити, що постраждалий зловживав наркотичною речовиною С: перфорована носова перегородка, «крековий палець», виразки на яснах, ерозія зубної емалі, розширені зіниці, знижена маса тіла та ін.

Наркотична речовина А - це 4-оксидиметилтриптамін.

При використанні наркотичної речовини А існує небезпека загострення прихованих психічних захворювань. Відомо немало випадків, коли регулярне вживання цієї речовини може провокувати напади невмотивованої агресії і навіть привести до суїциду.

D-ізомер наркотичної речовини D є однією з найактивніших психотропних речовин, відомих людині в теперішній час, серед як синтетичних, так і природних сполук.

Наведіть схему ХТА представлених біооб'єктів.

Розділ 6. ГРУПА РЕЧОВИН, ЩО ІЗОЛЮЮТЬСЯ ЕКСТРАКЦІЄЮ ВОДОЮ ІЗОЛЮВАННЯ, ВИЯВЛЕННЯ І ВИЗНАЧЕННЯ РЕЧОВИН ПІСЛЯ ЇХ ЕКСТРАКЦІЇ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДІАЛІЗОМ (ЕКТСРАКЦІЄЮ ВОДОЮ)

До групи речовин, що ізолюються за допомогою діалізу, відносяться мінеральні кислоти - сульфатна, хлоридна, нітратна; луги – натрій гідроксид, калій гідроксид, водний розчин амоніаку і лужні солі, з яких нині мають токсикологічне значення головним чином натрій нітрит (рідше калій нітрит), натрій та амоній нітрати (рідше калій нітрат), калій хлорат.

Дослідження на ці речовини проводяться тоді, коли попередні випробування дають позитивний результат або матеріали справи вказують на можливість отруєння зазначеними речовинами.

Об'єктами дослідження на наявність цієї групи речовин являються вміст шлунку, блювотні маси, залишки їжі, фрагменти одягу та ін. При дослідженні на солі до перерахованих об'єктів слід віднести також печінку.

6.1. Ізолювання кислот, лугів, солей отруйних кислот

Досліджуваний об'єкт змішують з невеликою кількістю дистильованої води до утворення густої кашки, здатної фільтруватися і суміш через 1-2 години фільтрують. Для швидкості фільтрування, що є дуже важливим, зручно використовувати воронку з пористим дном і водострумний насос. Для відділення білкових речовин суміш (навіть до фільтрування) або фільтрат піддають діалізу.

Діаліз проводиться 2-3 рази по 4-6 годин. Злиті разом діалізати випаровують на водяному ogrівнику до об'єму, рівного 5-10 мл, і досліджують на наявність кислот, лугів і солей. Перспективним для цієї мети є електродіаліз.

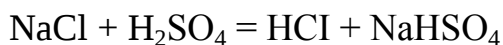
6.2. Дослідження діалізату

Мінеральні кислоти

Загальні вказівки на можливість присутності мінеральних кислот хімік отримує при дослідженні об'єкту або водної витяжки з нього реакціями на лакмус, конго, інші індикатори, універсальний індикаторний папір.

Ці випробування і ведуть до необхідності дослідження на окремі кислоти. Дослідження на кислоти полягає не у виявленні аніону кислот, оскільки ці іони є нормальною складовою частиною організмів, а в знаходженні їх у зв'язку з іонами водню, тобто у виявленні вільних кислот, що може бути здійснене лише перегонкою їх. Зважаючи на те, що деякі з кислот переганяються при дуже високій температурі, часто застосовують їх відновлення в більш легкі сполуки. Так, кислоту сульфатну переводять в сульфідну, летку у вигляді ангідриду SO_2 , кислоту нітритну - в нітроген оксид.

За наявності вільної кислоти сульфатної при простій перегонці внаслідок постійної присутності хлоридів з об'єкту дослідження переганяється гідроген хлорид:



Тому дослідження на наявність кислот необхідне починати з кислоти сульфатної.

Кислота сульфатна

Якісне виявлення. Характерною ознакою кислоти сульфатної концентрованої є її здатність обуглювати вуглеводи.

Додавання до кислої рідини розчину солі барію призведе до утворення осаду барій сульфату, що вказує на наявність іона сульфату, але не доводить присутності вільної кислоти сульфатної.

Для відгону вільної кислоти рідину поміщають у колбу відповідного розміру та вносять до неї купрум. Колбу герметично з'єднують зігнутою трубкою з холодильником, забезпеченим аллонжем, кінець аллонжу опускають в приймач, в якому знаходиться розчин йоду в калій йодиді. Колбу нагрівають на огрівнику з мінеральним маслом або на піщаному огрівнику до температури взаємодії купруму з кислотою. Якщо розчин йоду швидко обезбарвлюється, його додають додатково. Коли колір розчину йоду перестане змінюватися, приймач відділяють, рідину підкисляють кислотою хлоридною розведеною і нагрівають до видалення йоду. При подальшому додаванні розчину барій хлориду випадання осаду барій сульфату вкаже на наявність кислоти сульфатної.

Кількісне визначення. Аліквоту водного екстракту титрують 0,1 м розчином натрій гідроксиду у присутності метилового помаранчевого. Потім в певній частині екстракту визначають кількість сульфатів ваговим способом. Знайдені кількості кислоти сульфатної співставляють.

Результати визначення мають лише відносне значення.

Кислота нітратна

Якісне виявлення кислоти нітратної. Вільна кислота нітратна при достатній концентрації фіксується білками, забарвлюючи їх в жовтий колір, перехідний від амоніаку в помаранчевий (ксантопротейнова реакція). Частину досліджуваної рідини випаровують з шерстяними нитками, при цьому шерсть (білкова речовина) забарвлюється в жовтий колір, який переходить при додаванні розчину амоніаку в помаранчевий (вільна кислота нітратна). Окрім кислоти нітратної, шерсть забарвлює в жовтий колір також кислота пікринова. Відмінністю останньою являється забарвлення самої рідини в жовтий колір, а також забарвлення шерсті при кип'яченні з розведеними розчинами.

Краплю досліджуваної рідини змішують з 2-3 краплями розчину дифеніламіну в кислоті сульфатній концентрованій - з'являється синє забарвлення. Таке ж забарвлення дають солі нітратної та азотистої кислот, а також інші окислювачі.

У колбу, з'єднану з холодильником, кінець якого опускають в колбу з водою, поміщають досліджувану рідину і купрумні ошурки. Колбу нагрівають на ogrівнику з мінеральною олією або на піщаному ogrівнику і рідину випаровують майже насухо. При достатній концентрації кислоти нітратної відбувається відновлення її купрумом в нітроген оксид, який з киснем повітря утворює нітроген (IV) оксид (помаранчеві пари). Остання, розчиняючись у воді, дає кислоти нітратну та нітритну.

Кислота хлоридна

Якісне виявлення. Водний екстракт, або діалізат, досліджують реакцією на Cl^- . Утворення осаду аргентум нітрату вказує на необхідність проведення подальшого дослідження на вільну кислоту хлоридну. Частину водного екстракту поміщають в колбу, з'єднану з холодильником і приймачем. Колбу нагрівають (краще на піщаному ogrівнику). Спочатку відганя-

ється вода; потім при підвищенні вмісту гідроген хлориду до 10% останній починає переганятися, тому рідина має бути випарена по можливості вся.

Дистилят досліджують на наявність гідроген хлориду: а) реакцією з розчином аргентум нітрату (виявлення Cl^-); б) по виділенню хлору при нагріванні з калій хлоратом:



Кількісне визначення. Певну частину водного екстракту піддають перегонці випаровувавши вміст колби насухо. У дистиляті визначають кількість гідроген хлориду титруванням по Фольгарду або ваговим шляхом, зважуючи аргентум хлорид. В разі присутності в дистиляті гідроген сульфід у осад, що утворився, фільтрують, розчиняють на фільтрі в 10% розчині амоніаку, потім отриману рідину підкисляють кислотою нітратною, а аргентум хлорид, що виділився при цьому, фільтрують і визначають кількісно.

Токсикологічне значення. При гострих отруєннях кислотами, вжитими перорально, спостерігається паління і сильний біль в роті, глотці, стравоході, шлунку, блювота, інколи з домішкою крові. Блювотні маси можуть мати колір кави унаслідок перетворення гемоглобіну на гематин і можуть містити плівки слизистої оболонки стравоходу або шлунку. Можливий опік шкіри особи. Слизиста оболонка рота, зіву, глотки зазвичай яскраво-червона, набрякла, з сіруватими або жовтуватим плівками тканини, що омертвіла, місцями кровоточить. Може розвинутися больовий шок. Смерть при отруєнні кислотами може настати в перші дні від шоку або перфорації шлунку, а пізніше - від різних ускладнень.

Їдкі луги

Для виявлення їдких лугів (при лужній реакції на лакмус) до витягу додають декілька крапель спиртового розчину фенолфталеїну, а потім надлишок барій хлориду: збереження рожевого забарвлення спостерігається у присутності їдких лугів – NaOH , KOH , NH_4OH і Ca(OH)_2 . Необхідно заздалегідь переконатися, що лабораторний посуд лужно-стійкий.

Амоніак

Якісне виявлення. Посиніння лакмусового папірця від пари витягу є основним випробуванням. Витяг поміщають в колбу з пробкою, до нижньої поверхні якої прикріплено три папірці: 1 - лакмусовий; 2 - змочений розчином купрум сульфату; 3 – змочений лужним розчином плюмбум ацетату. Посиніння 1 і 2 папірців вказує на наявність амоніаку. Почорніння «плюмбумного» папірця вказує на наявність гідроген сульфід у, отже, на процес гниття; останнє робить вже неможливим відкриття введенного в організм амоніаку. Утворення амоніаку може відбуватися також за наявності їдких лугів (NaOH, KOH), що виділяють амоніак з його солей і білкових речовин.

Токсикологічне значення. Водний розчин амоніаку широко застосовується в різних областях промисловості і в побуті. Неодноразово мали місце отруєння при прийнятті розчину амоніаку всередину як в результаті нещасного випадку, так і з метою самоотруєння. Обставини справи в таких випадках зазвичай бувають настільки ясні не лише для лікаря, але і для слідчих органів, що необхідності в проведенні хімічного дослідження не виникає. Гострі отруєння амоніаком на виробництві можуть бути пов'язані з аваріями апаратури, трубопроводів і т. п.; коли амоніак потрапляє в робоче приміщення.

Гранично допустима концентрація амоніаку в повітрі 0,02 мг/л.

Натрій гідроксид (калій гідроксид)

Про кількість їдкого лугу дає вказівку титрування певної частини водного витягу об'єкту після осадження карбонатних лугів барій хлоридом. Для вирішення питання про катіон (Na^+ , K^+ або Ca^{2+}) порівнюють кристали випавших осадів від калій піросурм'янокислого, кислоти тартратної і амоній оксалату. Кількісне визначення в біологічних об'єктах утруднене.

Токсикологічне значення лугів. По частоті отруєнь на першому місці стоїть натрій гідроксид (каустична сода), що має широке вживання в тех-

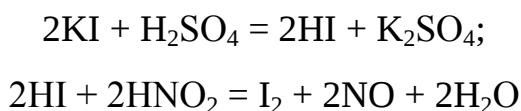
ніці і побуті. Розчини натрій гідроксиду неодноразово був причиною отруєнь. Отруєння калій гідроксидом зустрічається рідко. Негашене і гашене вапно, не дивлячись на їх доступність, рідко зустрічаються як отрути.

Лужні солі

Нітрити

Якісне виявлення. Дослідження водного витягу. До частини витягу додають розчини кислоти сульфанілової, або п-нітроаніліну, кислоти хлоридної і збовтують. Через 10 хвилин рідину підлужують натрій гідроксидом і додають свіжоприготований лужний розчин. Перегонка водного витягу. У колбу, з'єднану з холодильником, кінець якого опущений в розведений розчин натрій гідроксиду, поміщають витяг, підкисляють розведеною кислотою ацетатною і, пропусканням з апарату Кіппу карбон (IV) оксиду, відганяють ангідрид кислоти нітритної.

Частину дистиляту підкисляють і додають розчин калій йодиду, що підкисляють розведеною кислотою сульфатною і змішаною з крохмальним клейстером, - за наявності кислоти нітритної негайно спостерігається синє забарвлення:



Такий шлях дослідження є єдино можливим при аналізі внутрішніх органів трупа, тому що більш чутливий спосіб привів би до виявлення слідів нітриту, розповсюджених майже всюди: у слині, частинах рослин, землі, а отже, і в пилу. Сліди кислоти нітритної завжди перебувають і в повітрі лабораторій, тому необхідно дотримуватися особливої обережності і разом з основним дослідженням ставити сліпий дослід.

Дослідження солі. До солі додають кислоту ацетатну - виділяються нітроген оксиди у вигляді помаранчевої пари.

Проводять реакцію утворення азобарвника і виділення йоду.

Проводять реакції на іони Na^+ і K^+ . До розчину солі додають розчин калія піросурм'янокислого ($\text{K}_2\text{H}_2\text{Sb}_2\text{O}_7$) – з'являється кристалічний осад. До 1-2 мл 5-10% розчину солі (при незнаходженні нітриту попередніми реакціями) додають в надлишку 30% розчин натрій нітриту і кислоту тартратну до кислої реакції. В присутності K^+ рідина утворює муть або осад.

Кількісне визначення. Визначення невеликих кількостей кислоти нітритної зручно проводити колориметричним методом. Для приготування стандартних розчинів користуються аргентум нітридом. Для цього розчин аргентум нітрату срібла з розчином натрій нітриту, що не містить хлоридів і карбонатів. Кристалічний осад, що виділився, фільтрують, промивають холодною водою, перекристалізують з гарячої води, вільної від слідів нітриту, і висушують до постійної ваги в ексикаторі над кальцій хлоридом в захищеному від світла місці. Відважують 0,405 г аргентум нітриту, розчиняють в гарячій воді, додають 0,2–0,3 г натрій хлориду і об'єм доводять в мірній колбі ємністю 1 л до мітки; 100 мл розчину, що відстоявся, поміщають в літрову колбу і знову розводять водою до об'єму 1 л; 1 мл розчину містить 0,01 мг ангідриду кислоти нітритної (N_2O_3). З цього розчину готують стандартні розчини з різним вмістом N_2O_3 в об'ємі. Додають певні кількості реактиву Грісса. Забарвлення випробовуваної рідини порівнюють із забарвленням стандартних розчинів.

Токсикологічне значення. Використання натрій нітриту для приготування азобарвників (діазотування) робить його доступним, у зв'язку з чим створюється можливість отруєння. Такі отруєння періодично мали місце у зв'язку з застосуванням натрій нітриту замість натрій хлориду в їжу.

6.3. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі

329. Загальна характеристика групи речовин, що ізолюються екстракцією водою. Роль та спосіб визначення рН - середовища об'єкту.

330. Мембранна фільтрація та діаліз. Застосування діалізу для очистки водних екстрактів, які вміщують мінеральні кислоти, їдкі луги, нітрати, нітроти.

331. Кислота хлоридна. Особливості хіміко-токсикологічного аналізу.

332. Нітрати та нітроти. Методи ізолювання з біологічного матеріалу. Виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.

333. Кислота нітратна. Особливості ізолювання з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.

334. Кислота сульфатна. Ізолювання з біологічного матеріалу, виявлення та кількісне визначення. Токсикологічне значення.

335. Їдкі луги та амоніак. Методи виявлення та кількісного визначення у біологічному матеріалі. Токсикологічне значення.

336. На одязі потерпілого виявлено чорні обвуглені плями. Запропонуйте схему хіміко-токсикологічного дослідження вказаного об'єкта.

337. Ротова порожнина та стравохід трупа людини, що загинула мають чорний колір. Запропонуйте схему хіміко-токсикологічного аналізу органів трупа.

338. Ротова порожнина, стравохід, слизова оболонка шлунку трупа мають жовтий колір. Запропонуйте схему хіміко-токсикологічного аналізу органів трупа.

339. В яких випадках недоцільно проводити дослідження органів трупа на амоніак?

340. На яку речовину попередньо проводять дослідження аналізом органів трупа на саліцилову кислоту і чому?

341. Реакції діалізату з кислотою сульфаніловою та з реактивом Грісса давали слабо червонуватий колір. Які Ваші подальші дії щодо хіміко-токсикологічного дослідження на можливу речовину?

342. Водні витяжки з гнилісного біологічного матеріалу мали ясно виражену лужну реакцію. На які речовини доцільно проводити хіміко-токсикологічний аналіз вказаного об'єкта?

Розділ 7. ГРУПА РЕЧОВИН, ЯКІ ПОТРЕБУЮТЬ ОСОБЛИВИХ МЕТОДІВ ІЗОЛЮВАННЯ

7.1. Фтористі солі (фториди)

Вільна кислота фторидна як речовина, малодоступна широким верстам населення, не має хіміко-токсикологічного значення. Солі її – NaF та CaF_2 є предметом хіміко-токсикологічного дослідження.

Ізолювання. Ретельно подрібнені внутрішні органи трупа, вміст шлунку, харчові продукти та інші об'єкти в кількості 25 г підлужують надлишком натрій гідроксиду, змочують розчином амоній нітрату або кислоти нітратної концентрованої, висушують і прожарюють при температурі не вище 500° до повного спалювання.

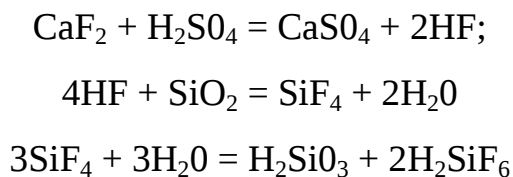
Необхідна проведення сліпого досліду. Всі реактиви в тих же кількостях обробляють в тій же чашці, в якій проводиться випарювання. Після висушування залишок прокалюють і досліджують на фтор.

Якісне виявлення: Частину залишку в платиновому (або свинцевому) тиглі змочують декількома краплями води і обливають невеликою кількістю кислоти сульфатної концентрованої, тигель швидко закривають годинниковим склом, нижня поверхня якого покрита воском або парафіном. Частину шару воску або парафіну заздалегідь видаляють, роблячи умовний напис за допомогою вістря голки. Тигель залишають на добу, захисний шар воску або парафіну видаляють і спостерігають труєння скла.

Реакція володіє значно більшою чутливістю, якщо її проводити при нагріванні; при цьому скло замість воску або парафіну покривають лаком. Чутливість реакції труєння при нагріванні в 2–3 рази більше, ніж без нагрівання.

Частину золи змішують з SiO_2 (піском), поміщають в пробірку і підливають кислоту сульфатну концентровану. У отворі пробірки тримають скляну паличку з краплею води. В разі наявності гідроген фториду крапля каламутніє.

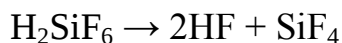
Пари силіцій фториду можна за допомогою скляної трубки пропустити в іншу вологу пробірку, при цьому стінки пробірки покривають кислотою силікатною:



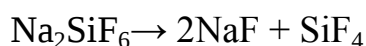
Невелику кількість золи вносять до короткого коліна реактивної трубки, заповненої 2% розчином $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ в кислоті сульфатній концентрованій, перемішують і спостерігають за появою незмочуваності стінок трубки в короткому коліні – реакція заснована на здатності HF руйнувати скло і робити його гідрофобним (незмочуваним). Реакція чутлива (2–5 мкг F- – в пробі) і специфічна, але їй заважають жири, силіційорганічні сполуки та інші гідрофобні речовини.

Фторосилікати

Натрій фторосилікат (Na_2SiF_6). При випаровуванні вільна кислота фторосилікатна розкладається на частини:



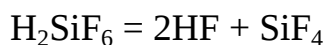
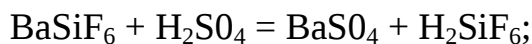
Сухі фторосилікатні солі розкладаються при нагріванні:



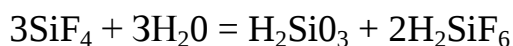
З солей важко розчині BaSiF_6 (1:3731 при 17°C) і K_2SiF_6 (1 :833 при 17°C).

Якісне виявлення: До розчину фторосилікату додають розчин барій хлориду. Кристалічний осад фільтрують і висушують на повітрі.

Суху сіль (барій фторосилікату) поміщають в платиновий тигель і обливають кислотою сульфатною концентрованою:

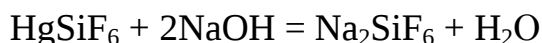
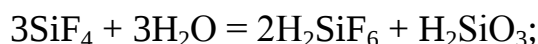


Труєння скла вказує на наявність гідроген фториду, а помутніння піднесеної на паличці краплі води - на фторосилікати:



Реакцію проводять в платиновому тиглі, тому що в скляній пробірці утворення фториду кремнію може мати місце за наявності фторидів.

Додавання до розчину солі розчину натрій гідроксиду викликає випадання осаду кислоти силікатної:



Токсикологічне значення. Токсикологічне значення має головним чином натрій фтори (NaF) та натрій фторсилікат (Na_2SiF_6). Солі кислоти фторидної застосовуються в будівельній техніці як консервант деревини, в сталеварінні, скловарінні, в сільському господарстві як інсектициди і засоби дератизації.

Отруєння похідними кислоти фторидної в більшості випадків обумовлені помилковим вживанням їх в побуті замість інших солей. Незрідка спостерігалися отруєння тварин. Токсична доза для людини 0,012 г, летальна - 10 г.

Діагностика отруєнь фторидами важка, оскільки клініка і патологоанатомічна картина нехарактерні. Спостерігаються лише місцеві запальні явища.

7.2. Отруйні газоподібні речовини

Карбон (II) оксид

З отруйних газоподібних речовин особливий токсикологічний і судово-медичний інтерес представляє карбон (II) оксид, здатний фіксуватися гемоглобіном крові з утворенням карбоксигемоглобіну, що і веде до отруєння.

Об'єктами дослідження на СО є головним чином кров з трупа і повітря, що містить карбон (II) оксид, являється повітря виробничих підприємств.

Виявлення карбон (II) оксиду в крові. А. Спектроскопічний метод. У основу спектроскопічного (і мікроспектрального) аналізу покладена властивість гемоглобіну і його похідних поглинати хвилі світла певної довжини. Тому при проходженні променя світла через розчини, що містять гемоглобін або його похідні, в спектрі з'являються темні смуги поглинання, розташовані в певній частині спектру для кожного похідного гемоглобіну.

Оксигемоглобін має у видимій частині спектру дві смуги поглинання при $\lambda_{\text{до}} 589\text{--}577$ і $\lambda_{\text{до}} 556\text{--}536$ нм, відновлений гемоглобін при $\lambda_{\text{Х}} 596\text{--}543$ нм, карбоксигемоглобін $\lambda_{\text{Х}}\text{--}579\text{--}564$ і $\lambda_{\text{Я}} 536\text{--}523$ нм.

Кров для дослідження розбавляють водою до тих пір, поки не будуть видні при спектроскопічному дослідженні дві смуги поглинання по жовтому та зеленому частинам спектру, між лініями Фраунгофера D і E. Ці смуги відповідають оксигемоглобіну. При додаванні до рідини свіжо приготованого амоніаку відбувається відновлення оксигемоглобіну в зредукований гемоглобін; через деякий час замість двох смуг поглинання з'являється одна ширша смуга, лежача між двома раніше колишніми смугами. При спектроскопічному дослідженні крові, що містить карбон (II) оксид, також видно дві смуги поглинання, належні карбоксигемоглобіну. При порівнянні із спектром оксигемоглобіну виявляється, що ці смуги по своєму розташуванню не цілком збігаються із смугами оксигемоглобіну. Додавання амоній сульфідів не викликає відновлення і дві смуги карбоксигемоглобіну не

зникають. При отруєннях не відбувається повного насичення крові карбон (II) оксидом, оскільки смерть настає раніше, чим воно станеться. Через це в крові трупа разом з карбоксигемоглобіном є деяка кількість оксигемоглобіну. Після додавання амоній сульфід у при двох смугах карбоксигемоглобіну, що збереглися, між ними з'являється більше або менше затемнення – смуга відновленого гемоглобіну.

Хімічний метод. Досліджувану кров і паралельно з нею контрольну кров з печінки тварини в кількості 2-5 мл розбавляють 100 мл води. При цьому кров, яка містить карбоксигемоглобін, має яскраво-червоний колір. Контрольна кров набуває бурого відтінку.

До розбавлених в співвідношенні 1:100 пробам випробовуваної і нормальної крові додають рівні об'єми 30% розчину натрій гідроксиду: кров, що містить карбон (II) оксид, зберігає рожеве забарвлення, а контрольна приймає зеленувато-чорне забарвлення.

До розбавлених в співвідношенні 1:4 пробам досліджуваної і контрольної крові додають приблизно по три об'єми 1% розчину таніну і збовтують: кров, що містить карбон (II) оксид, зберігає рожевий колір; контрольна кров приймає сіре забарвлення.

До розбавлених в співвідношенні 1:20 пробам контрольної і випробовуваної крові додають рівні об'єми 20% розчину калій фероціаніду і 2 мл розведення 1:2 кислоти ацетатної: кров, що містить карбон (II) оксид, зберігає рожеве забарвлення, а контрольна кров буріє.

Контрольна кров, змішана з 5 частинами розчину основного плюмбум ацетату, приймає брудно-зелене забарвлення. Кров з карбон (II) оксидом зберігає свій колір.

Контрольна кров після розбавлення формаліном через короткий час приймає брудно-буре забарвлення. Кров, що містить карбон (II) оксид, зберігає червоний колір протягом декількох тижнів. Реакції можна також виробляти, змочивши розведеною кров'ю білий фільтрувальний папір, а

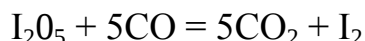
потім наносячи на неї реактиви. Всі ці випробування поступаються по чутливості спектроскопічному методу.

Для перевірки може бути застосоване витіснення карбон оксиду з крові током повітря і поглинання її знов розведеною кров'ю, що не містить карбоксигемоглобін:

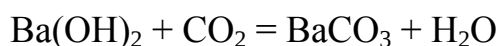
Повільне пропускання повітря виробляють протягом 3–4 годин. Між склянками Дрекслея, що містять кров з карбон (II) оксидом і без карбоксигемоглобіну (контрольна проба), ставлять склянки Тіщенко з суспензією ферум (II) оксиду для поглинання надлишку оксигену.

Таке ж витіснення застосовують і для кількісного визначення карбон (II) оксиду в крові.

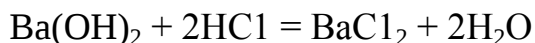
Кількісне визначення карбон (II) оксиду в повітрі. Метод заснований на окисленні карбон (II) оксиду йоднуватим ангідридом і визначенні карбон (IV) оксиду, що утворився. Реакція протікає по рівнянню:



Карбон (IV) оксид поглинається розчином барій гідроксиду:



Надлишок барій гідроксиду відтитровують кислотою хлоридною:



Токсикологічне значення. Отруєння карбон (II) оксидом зустрічаються часто. Передчасне закриття печей, чавунні печі, пропускаючи в розжареному стані карбон (II) оксид, каміни, жаровні - звичайні джерела отруєння карбон (II) оксидом в побуті.

Карбон (II) оксид, що викликає професійні отруєння, може вийти шляхом відновлення карбон (IV) оксиду при проходженні його через розжарене вугілля, що має місце в доменних печах, ливарних майстернях і інших виробництвах:



Вміст CO у водяному газі може доходити до 50%.

При розкладанні піроксиліну, що має місце при вибуху артилерійних снарядів, мін, утворюються гази, що містять до 30% карбон (II) оксиду, що може спричинити масові отруєння.

У зв'язку з розвитком автомобільного транспорту необхідно враховувати надходження в повітря вміст значних кількостей карбон (II) оксиду.

Гідроген сульфід

Токсична дія гідроген сульфіду настає вже при вмісті його в повітрі в кількості 0,06%. При великих концентраціях (1,2–1,8 мг в 1 л повітря), можуть наставати смертельні отруєння.

Хімічне виявлення у внутрішніх органах трупа гідроген сульфіду, що викликає отруєння, звичайно не може бути проведено внаслідок освіти його при розкладанні білків. У винятково свіжих випадках відсутність амоніаку при присутності великої кількості гідроген сульфіду є ознакою, яка вказує на можливість отруєння гідроген сульфідом.

Виявлення гідроген сульфіду в біологічному матеріалі. При хімічному дослідженні внутрішні органи трупів поміщають в колбу, отвір якої закривають пробкою, до нижньої поверхні її прикріплюють 2 папірці: змочені лужним розчином плюмбум ацетату і лакмус для виявлення аміаку і доказу процесу гниття, що настав. При спектроскопічному дослідженні крові, насиченої повітрям, крім двох смуг оксигемоглобіну, може спостерігатися нова смуга в червоній частині спектру між лініями C і D.

Спектроскопічне дослідження доказове лише тоді, коли смерть сталася під час вдихання гідроген сульфіду, а дослідження робиться лише після декілька годин після смерті, тому що потім характерний спектр зникає. При малих кількостях гідроген сульфіду може і не спостерігатися описаного спектру крові.

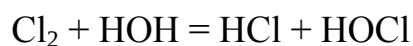
Кількісне визначення гідроген сульфїду в повітрі засноване на отриманні і визначенні аргентум сульфїду (Ag_2S). Залежно від кількості аргентум сульфїду розчин приймає більш менш інтенсивне буре забарвлення.

Галогени

З галогенів газом є лише хлор. Бром являє собою надзвичайно летку рідину, тому отруєння звичайно викликають його пари. Йод є кристалічною речовиною. Застосовується зазвичай у вигляді спиртового розчину. Отруєння можуть бути викликані як розчином так і парами йоду.

Хлор

Вільний хлор має широке застосування в техніці. Вступаючи в реакцію із складовими частинами організму, хлор утворює соль кислоти хлоридної (іони хлору), що є нормальною складовою частиною організму. Вода діє на хлор дуже повільно, але у присутності речовин, що легко окислюються, відбувається швидкий гідроліз хлору, що зумовлює процес окислення.



У зв'язку з цим виявлення вільного хлору у внутрішніх органах трупів неможливе. Що спостерігається інколи протягом 2 днів запах хлору від трупа обумовлюється, ймовірно, продуктами гідролізу хлору, слідами кислоти гіпохлоридної, що володіє запахом хлору. Ці проміжні продукти - гіпохлорити - швидко зникають.

Для виявлення кислоти гіпохлоридної, що має місце і при отруєннях хлорним, або білильним вапном, досліджуваний об'єкт подрібнюють, поміщають в колбу. Отвір колби закривають пробкою з двома трубками, з яких одна доходить до дна колби і сполучена з двома промивними склянками апарату Кіппа для отримання карбон (IV) оксиду. У першу склянку наливають воду, а в другу розчин аргентум нітрату. Інша трубка, що закінчується під пробкою, з'єднуються з двома склянками Дрекслея, що містять

підкислений розчин калій йодид, змішаний з крохмальним клейстером. Слабо нагріваючи колбу з об'єктом на водяному огрівнику, повільно пропускають струм карбон (IV) оксиду. Відсутність посиніння вказує на відсутність кислоти гіпохлоридної, а також хлору, брому і йоду. При появі посиніння струму карбон (IV) оксиду пропускають знову у воду, що містить кислоту сульфїтну. Після закінчення пропускання рідину слабо нагрівають до видалення надлишку кислоти сульфїтної і в розчині виявляють іон хлору за допомогою аргентум нітрату, порівнюючи колір осаду (або муті) з кольором осаду (або муті) аргентум хлориду. Кисень, що вивільняється окислює кислоту сульфїтну в сульфатну.

Бром

Гострі отруєння парами брому зустрічаються рідше, ніж отруєння хлором, і мають місце переважно при необережному поводженні з ним в хімічних лабораторіях. Хронічних отруєнь бромом не спостерігалось, можливо, унаслідок меншої його отруйності, а головним чином із-за меншої розповсюдженості робіт з бромом.

У частинах внутрішніх органів трупів вільний бром зустрічається рідко. Хоча солі брому є складовою частиною організму, їх кількість не перевищує десятих долей мг. Це дозволяє визначати солі брому в частинах внутрішніх органів трупів після отруєння або прийому їх як лікарських засобів. Дослідження на присутність бромідів проводиться лише при відповідних запитах медичних установ і судово-слідчих органів у зв'язку з обставинами справи.

Якісне виявлення. Пари брому витісняють повітрям з подальшим поглинанням їх: 1) розчином калій йодиду, що містить крохмальний клейстер - за наявності брому відбувається витіснення йоду, що викликає посиніння крохмалю. Таке ж явище може бути викликане хлором, йодом, нітроген оксидами. Реакція має значення лише при негативному результаті; 2) роз-

чином фенолу - бром викликає утворення білого осаду або муті трибромфенолу.

Для виявлення бромідів у внутрішніх органах трупів, сечі і інших об'єктах їх сильно підлужують натрій гідроксиду, випаровують, висушують і спалюють при можливо низькій температурі. Золю екстрагують гарячою водою. Витяжку концентрують випарюванням до невеликого об'єму.

Частину розчину змішують з 5–10 мл хлорної води і хлороформом. Шар хлороформу забарвлюється в жовтий колір (або жовто-бурий при великих кількостях броду).

Частину розчину випаровують до об'єму 1 мл, поміщають в пробірку, змішують з 1 г розтертого калій біхромату і з ділильної воронки обережно додають по краплям 10 мл концентрованої сульфатної кислоти. Пробірку закривають смужкою фільтрувального паперу, змоченого розведеним лужним розчином флюоресцеїну утворюється рожеве або червоне забарвлення (утворення еозину).

Для кількісного визначення пари броду в повітрі можуть проводити так само, як при визначенні хлору.

Йод

Якісне виявлення. При смертельних отруєннях вільний йод можна виявити попередніми пробами лише у виняткових випадках. Кращим об'єктом для дослідження в цих випадках є свіжі блювотні маси. Пари вільного йоду можна витіснити з об'єкту током повітря при слабкому нагріванні, а потім поглинати розведенням крохмальним клейстером. Посиніння розчину вкаже на наявність йоду.

Вільний йод легко вступає в реакцію білками і лугами. Для виявлення солей йоду в біологічному матеріалі його підлужують натрій гідроксидом і спалюють. Золю після спалювання екстрагують гарячою водою, розчин фільтрують, концентрують до невеликого об'єму, додають розчин натрій ніт-

риту, підкислюють розведеною кислотою сульфатною і нагріванням відгонять йод в розчин крохмального клейстеру або в хлороформ. Крохмальний клейстер поміщають в дві склянки Дрекслея; друга склянка служить для контролю поглинання. Поглинений крохмальним клейстером йод титрують 0,1 н. або 0,01 н. розчином натрій тіосульфату, а при малих кількостях визначають колориметрично, порівнюючи з відповідними розчинами йоду.

Нормально йод міститься в щитовидній залозі і в незначних кількостях в інших органах. При отруєннях йодом виявляються йодиди в кількості, що перевершує природний вміст в нормі.

Дослідження плям на вільний йод. При отруєннях йодом і при підозрі на них, об'єктами дослідження можуть бути бурі плями на білизні, шкірі і так далі. Плями, викликані йодом, зникають від амоніаку, натрій гідроксиду, натрій тіосульфату і синіють при змочуванні крохмальним клейстером.

Виявлення йодидів в сечі. 20–100 мл сечі підкислюють розведеною кислотою сульфатною, додають натрій нітрит і збовтують з малою кількістю хлороформу - з'являється фіолетове забарвлення. Для більшої чутливості реакції сечу заздалегідь концентрують до можливо малого об'єму і після підлучення випаровують, залишок спалюють і роблять, як при дослідженні внутрішніх органів трупів.

7.3. Питання до контрольних робіт і ситуаційні задачі

343. Сполуки фтору. Хіміко-токсикологічне значення та аналіз в біологічних об'єктах. Оцінка результатів хіміко-токсикологічного аналізу.

344. Хлор. Хіміко-токсикологічне значення.

345. Хлорамін. Хіміко-токсикологічне значення.

346. Бром. Хіміко-токсикологічне значення.

347. Йод. Хіміко-токсикологічне значення.

348. Сірководень. Ізолювання, якісне виявлення, токсикологічне значення.

349. Гострі отруєння карбон (II) оксидом (чадним газом). Методи виявлення та кількісного визначення карбоксигемоглобіну.

350. Наявність яких елементів (іонів) необхідно довести в об'єкті дослідження при аналізі на фосфід цинку? Які реакції при цьому використовують?

351. Наведіть схему якісного та кількісного визначення йоду при його виявленні в органах трупа?

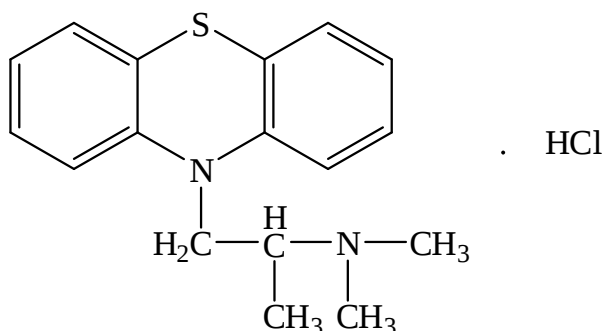
ТЕМИ КУРСУ ДЛЯ САМОСТІЙНОГО ЗАСВОЄННЯ СТУДЕНТАМИ

1. Класифікація отрут і отруєнь на основі закономірностей токсикокінеки.
2. Закономірності біотрансформації отрут в організмі людей і тварин.
3. Визначення "металевих" отрут дробним методом.
4. Хіміко-токсикологічне випробування дистилятів на "леткі" отрути.
5. Газо-хроматографічне визначення етанолу в крові та сечі.
6. Хіміко-токсикологічний аналіз лікарських речовин кислого, нейтрального та слабоосновного характеру.
7. Хіміко-токсикологічне визначення лікарських речовин лужного характеру, які ізольовані з біологічного матеріалу підкисленою водою.
8. Випробування біологічних рідин (кров, сеча, промивні води шлунку) на барбітурати та алкалоїди (хінін, кодеїн), саліцилову кислоту та ацетилсаліцилову кислоту, фенацетин, п-амінофенол, похідні 1,4-бенздіазешну, фенотіазину та ін.
9. Кількісне визначення (ФЕК- і УФ-спектрофотометричні методи) лікарських речовин (похідні барбітурової кислоти, фенотіазину, тропану), яке застосовується до екстракції з біологічних рідин.
10. Визначення карбоксигемоглобіну в крові.
11. Ненаправлений аналіз біологічного матеріалу та біологічних рідин по знаходженню лікарських сполук.
12. Хіміко-токсикологічне дослідження екстрактів з біологічного матеріалу на фосфоровмісні пестициди.
13. Ізолювання, очистка, виявлення та кількісне визначення сульфатної, нітратної, хлоридної кислот, їдких лугів, солей нітратної та нітритної кислот.
14. Особливості ізолювання з біологічного матеріалу та дослідження фторидів.

ПРИКЛАДИ РОЗВ'ЯЗУВАННЯ СИТУАЦІЙНИХ ЗАДАЧ

Приклад 1. Відбулося гостре отруєння дитини. У дитячих іграшках була знайдена пуста упаковка з-під дипразину. Виконайте хіміко-токсикологічний аналіз для підтвердження клінічного діагнозу - отруєння дипразином.

Відповідь



Дипразин або (2RS)-N,N-диметил-1-(10H-фенотіазин-10-іл)-пропан-2-аміну гідрохлорид (піпольфен, прометазин) - білий дрібнокристалічний порошок, легко розчинний у воді, етиловому спирті, хлороформі, майже нерозчинний у диетиловому ефірі. Гіркий на смак. Він викликає тимчасову втрату чутливості язика, на повітрі синіє. Його розчин під впливом світла синіє.

Вибір об'єктів хіміко-токсикологічного аналізу обумовлений шляхами проникнення, розподілу, концентрування та виведення отрути з організму - це шлунок із вмістом, кишечник; печінка з жовчним міхуром; нирки, мозок; кров, сеча.

Схема спрямованого аналізу біологічних об'єктів на дипразин (похідне фенотіазину)

Об'єкти дослідження: Органи трупу, біологічні рідини.

Ізолювання: 1) Метод Е.М. Саломатіна (видозмінений метод Стаса-Отто).

2) Метод Е.М.Саломатіна (видозмінений метод Сшедзинського).

ТШХ-скринінг: 1). В загальній системі розчинників: хлороформ – діоксан - 25% розчин амоніаку (45:47,5:5:2,5).

Сорбент – сілікагель.

Проявник: 1) $\text{HClO}_4 + \text{NaNO}_2$;

2) Реактив Маркі;

3) H_2SO_4 конц.;

4) 5% розчин FeCl_3 .

Елюент: метанол - диетиламін (3:1)

2) В окремих системах розчинників: хлороформ - етанол (20:1) та циклогексан -ацетон (5:1).

Сорбент – алюміній оксид основний.

Елюент: метанол - диетиламін (9:1).

Очистка: екстракція, ТШХ-метод, гель-хроматографія, електрофорез.

Підтверджуючі дослідження елюату

Хімічні

Осадів

1. Реакції із загальноалкалоїдними осадовими реактивами - *неспецифічні, високочутливі*. Реактиви: Драгендорфа; кислота фосфорно-молібденова; реактиви Бушарда; Марме; Майера.

Спостереження: аморфні або кристалічні осад.

2. Реакції забарвлення – неспецифічні, чутливі.

а) Реактиви: H_2SO_4 конц.; HNO_3 конц.; HCl конц.; реактиви Маркі, Манделіна.

Спостереження: пурпурно-червоний колір.

б) Реакція Віталі-Морена - неспецифічна.

Спостереження: фіолетове забарвлення.

Мікрокристалоскопічні реакції

Дипразин з 5% розчином кислоти золотохлористоводневої утворює кристалічний осад. З сіллю Рейнеке дипразин також утворює кристалічний осад, але від інших похідних фенотіазину його відрізнити неможливо.

Хроматографічні

1. ТШХ-метод- по R_f або R_s плями.
2. ГРХ та ВЕРХ - за часом утримання, об'ємом утримання.

Спектральні

1. УФ-спектри - максимуми поглинання у суміші вода - спирт (1:1)
 $\lambda_{\max}$ 252 нм; 301 нм; у 0,01н. НС1 – $\lambda_{\max}$ 249 нм, 300 нм.
2. ІК-спекри (диск з КВГ) - піки при 1459,1222 та 757 см^{-1} .

Кількісне визначення

1. Спектральні методи

- а) Фотометрія - визначення оптичної густини забарвлених розчинів;
- б) УФ-спектрофотометрія;
- в) Екстракційна фотометрія з кислотними індикаторами (метилоранж, бромтимоловий синій);

2. Хроматографічні методи

- ТШХ-метод:
 - а) за площею плями (планіметрія);
 - б) за інтенсивністю забарвлення плями (денситометрія);
- ГРХ та ВЕРХ - за висотою та площею піка (метод "внутрішнього стандарту").

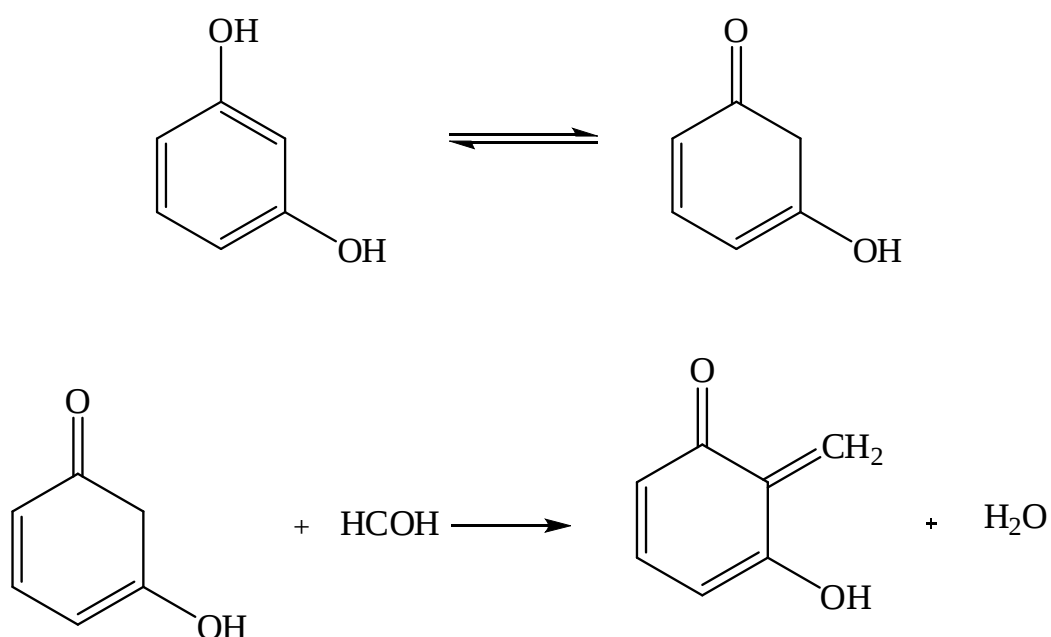
3. Хімічні методи

- а) аргентометрія;
- б) неводне титрування.

Приклад 2. Результати реакцій дистилляту з лужним розчином резорцину та з реактивом Неслера позитивні. Які отрути, що ізолюються перегонкою з водяною парою, визначають при такому дослідженні?

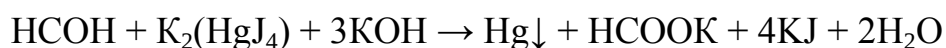
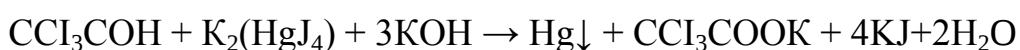
Відповідь

Реакція з резорцином у лужному середовищі чутлива, неспецифічна, тому що цю реакцію дають формальдегід, хлоралгідрат, хлороформ, тетра-хлорометан.



У результаті реакції спостерігається рожевий або червоний колір розчину.

З реактивом Неслера взаємодіють формальдегід та хлоралгідрат, при цьому спостерігається утворення червоного осаду, який потім стає брудно-зеленим.



Реакцію з реактивом Неслера не дають хлороформ, тетрахлорометан. Ця реакція – неспецифічна, тому що її дають деякі відновлювальні речовини.

Приклад 3. При судово-токсикологічному дослідженні пахікарпіну кількісний вміст отруйної речовини в біологічних екстрактах визначають екстракційно-фотометричним методом за реакцією з бромфеноловим синім. Для побудови градувального графіка та визначення границь підпорядкування світлопоглинання забарвлених розчинів продукту реакції закону Бугера–Ламберта–Бера проводили фотометрування стандартних розчинів пахікарпіну на фотоколориметрі КФК-2, світлофільтр жовтий з $\lambda_{\text{ef}} = 590$ нм, кювета з товщиною шару 10 мм. Отримані результати наведено в таблиці:

С, мкг/мл	75	150	250	350	500	600	750	900	1000
А	0,075	0,160	0,260	0,370	0,510	0,620	0,760	0,940	1,00

Розрахуйте питомий та молярний коефіцієнти світлопоглинання забарвлених розчинів та визначте границі підпорядкування світлопоглинання закону Бугера–Ламберта – Бера (М. м. пахікарпіну дорівнює 362,30 г/моль). Наведіть метрологічні характеристики одержаних результатів.

Розв'язання

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{A}{l \cdot C}$$

де $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ – питомий коефіцієнт світлопоглинання;

А – оптична густина;

l – товщина кювети, см;

С – концентрація, %.

$$\epsilon_M = E_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot M / 10,$$

де ϵ_M – молярний коефіцієнт світлопоглинання;

М – молярна маса досліджуваної речовини, г/моль.

Розраховані значення $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ та ϵ_M заносимо в таблицю:

С, мкг / мл	А	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	Метрологічні характеристики	ϵ_M	Метрологічні характеристики
75	0,075	10,10	$\bar{X} = 10,27$ $S = 0,20$ $S_{\bar{X}} = 0,19$ $\Delta X = 0,41$ $\epsilon = 4,04 \%$	362,30	$\bar{X} = 371,96$
150	0,155	10,33		374,26	$S = 7,17$
250	0,26	10,40		376,79	$S_{\bar{X}} = 6,76$
350	0,37	10,57		382,95	$\Delta X = 15,61$
500	0,51	10,20		369,55	$\epsilon = 4,19 \%$
600	0,62	10,33		374,25	
750	0,76	10,13		367,01	
900	0,94	10,44		378,24	
1000	1,00	10,00		362,30	

Світлопоглинання забарвлених розчинів підпорядковане закону Бугера–Ламберта–Бера в межах концентрацій, при яких значення $E_{1\text{см}}^{1\%}$ та ϵ_M є сталою величиною. Згідно з отриманими даними, закон Бугера–Ламберта–Бера виконується в межах концентрацій від 75 до 1000 мкг/мл, відносна помилка визначень – 4,04 %.

Приклад 4. Межа виявлення пахікарпіну за мікрокристалоскопічною реакцією з реактивом Бушарда становить 3,5 мкг у пробі. Розрахуйте граничне розведення для цієї реакції.

Розв'язання

$$C = V \cdot 106/m,$$

де C – граничне розведення, мл;

V – об'єм проби, мл;

m – межа виявлення, мкг.

Враховуючи, що об'єм проби (крапля) дорівнює 0,05 мл, обчислюємо C :

$$C = 0,05 \cdot 106 / 3,5 = 14\,286 \text{ мл.}$$

Граничне розведення становить 1 : 14 286 (тобто в гранично розведеному розчині на 1 г пахікарпіну припадає 14 286 мл розчинника).

ГЛАВА II. ПРАКТИЧНА РОБОТА СТУДЕНТІВ

Розділ 1. ВИМОГИ ДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ.

ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ В УЧБОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Студенти до входу в учбове приміщення повинні одягати халати.

Кожен студент повинен працювати на закріпленому за ним місці. Перехід на інше місце без дозволу викладача не дозволяється.

Робоче місце потрібно тримати в чистоті, не загромождувати його посудом та сторонніми предметами, по закінченні роботи прибрати всі прилади в шафу.

Прилади і установки загального використання (терези, прилади для визначення температури плавлення, кипіння, установки для перегонки та ін.) встановлюються окремо.

Робоче місце забороняється загромождувати склянками з реактивами, непотрібними в даний момент приладами, посудом і сторонніми предметами.

Під час роботи в лабораторії потрібно дотримуватись тиші, порядку і чистоти, не допускати поспішності, безпорядку та неохайності.

Забороняється відвідування студентів, працюючих в лабораторії сторонніми особами, а також відволікання студентів сторонніми справами або розмовами.

Студентам забороняється працювати в лабораторії у відсутності викладача або лаборанта, а також в невстановлений час без дозволу викладача.

Категорично забороняється виконувати в лабораторії експериментальні роботи, не пов'язані з виконанням учбового практикуму.

До виконання роботи студенти можуть приступити тільки після проходження інструктажу по техніці безпеки і дозволу викладача.

Починаючи роботу необхідно:

- ✓ з'ясувати методику роботи;
- ✓ перевірити правильність збору приладу чи установки;
- ✓ перевірити відповідність взятих речовин згідно з методикою роботи.

Після закінчення роботи необхідно:

- ✓ вимикати електроенергію, виключати газ, воду;
- ✓ прибрати в шафу реактиви, чистий посуд;
- ✓ поставити металеві штативи на встановлене місце на столі;
- ✓ віднести брудний посуд для миття;
- ✓ витерти поверхню столу ганчіркою.

Прилади та установки загального використання (терези, прилади для визначення температури плавлення, кипіння і т.д.) після заняття потрібно прибрати з робочого місця в відведене місце для зберігання.

На початку кожного заняття викладач проводить короткий інструктаж про міри безпеки при роботі з препаратами, приладами, інструктаж фіксується в журналі.

Робота з отруйними та сильнодіючими речовинами

До роботи з отруйними та сильнодіючими речовинами допускаються тільки особи, які пройшли спеціальний інструктаж з техніки безпеки.

1. Склянки та іншу тару з отруйними та сильнодіючими речовинами забороняється ставити в ящики робочих столів, для роботи з цими речовинами виділяються спеціальні місця.

2. Наповнювати посудину з отруйними та сильнодіючими речовинами потрібно сифонами або спеціальними піпетками з гумовою грушею.

3. Розсипану отруйну або сильнодіючу речовину потрібно негайно зібрати, а ділянку, на яку вона попала, знешкодити і ретельно промити водою.

4. Використані при роботі проби, продукти дезактивації та промивні води потрібно зливати в спеціальну тару; зливати ці речовини в каналізацію забороняється.

5. Отруйні та сильнодіючі речовини, які використовуються в лабораторії, а також розчини зберігаються у спеціальному ящику під замком і пломбою.

6. У всіх випадках отруєння отруйними та сильнодіючими речовинами викликається швидка медична допомога.

Робота з їдкими лугами та кислотами

7. Мінеральні кислоти небезпечні тим, що вони викликають локальні хімічні опіки. Концентровані кислоти, крім того, можуть виділяти їдкий пар, викликаючи роздратування дихальних шляхів.

8. Луги при попаданні на шкіру і слизові оболонки чинять некротичну дію.

9. Для попередження опіків при різних роботах з їдкими речовинами (кислотами та лугами) всі працюючі в лабораторії повинні користуватись охоронними окулярами (з шкіряною або гумовою оправою) і гумовими рукавицями, в окремих випадках – гумовими фартухами.

10. Виконання робіт з кислотами і лугами без охоронних окулярів забороняється! Робота з концентрованими кислотами та паровиділяючими лугами (аміачний розчин та ін.) виконуються тільки під тягою (у витяговій шафі).

11. Бутилі з кислотами необхідно зберігати в покладжених корзинах чи обрешітках, переносити вдвох або перевозити на спеціальному візку, попередньо перевіривши покладження тари.

12. Переливати кислоти та луги з банки в дрібну тару необхідно з допомогою сифона або ручного насоса різної конструкції.

13. Для приготування розчинів кислот необхідно кислоту повільно лити у воду тонким струменем при безперервному помішуванні. Лити воду в кислоту забороняється!

14. Використовувати сірчану кислоту в вакуум-ексикаторах в якості водопоглинаючого засобу забороняється.

15. Робота з плавиковою кислотою потребує особливої обережності. Попадання кислоти на шкіру, в особливості на нігті, викликає сильний біль і тяжко заживаючі рани. Вдихання парів плавикової кислоти викликає запалення верхніх дихальних шляхів та псування зубів.

16. Рідини, які викликають опіки або отруєння, забороняється набирати ротом або через піпетки.

17. Розчиняти луги необхідно шляхом повільного добавлення до води невеликих шматочків речовин при безперервному помішуванні. Шматочки лугу брати тільки щипцями. Великі шматки їдких лугів необхідно розколювати на дрібні шматочки в спеціально відведеному місці, попередньо накривши шматки, які розбиваємо, густим матеріалом (бельтингом).

18. Розлиті кислоти та луги необхідно засипати піском, промити після цього місця, куди була пролита кислота чи луг, водою. Пісок збирається пластмасовою лопаткою або совком в смітник для відходів.

19. При опіках кислотою уражене місце обмивають великою кількістю води, потім розчином гідрокарбонату натрію та змащують маззю від опіків.

20. При попаданні кислоти в очі необхідно рясне промивання.

21. При попаданні лугу на шкіру потрібно терміново промити уражене місце великою кількістю води, потім – однопроцентним розчином оцтової кислоти і помазати маззю від опіків.

22. При попаданні лугу в очі спочатку промивають очі великою кількістю води, потім – двохпроцентним розчином борної кислоти і знову водою.

23. При попаданні броду на шкіру потрібно терміново обмити уражену ділянку шкіри органічним розчинником: бензолом, бензином чи етанолом. Можна використовувати гліцерин та мазь від опіків.

1.1. Орієнтовні дії при підготовці до виконання лабораторних робіт

При підготовці до виконання лабораторної роботи студенти зобов'язані:

- ✓ відновити знання та вміння, необхідні для вивчення теми, отримані на попередніх курсах;
- ✓ підготуватись до заняття у відповідності із завданням для самостійної підготовки;
- ✓ здійснювати самоконтроль підготовки до заняття по пропонуємих питанням;
- ✓ освоїти основні правила техніки безпеки при виконанні конкретного завдання.

При виконанні лабораторної роботи:

- ✓ виконати навчальне завдання;
- ✓ оформити в лабораторному журналі проведені дослідження і отримані результати по нижчеприведеній схемі;
- ✓ виконати ситуаційні задачі.

1.2. Оформлення лабораторного журналу

На титульному аркуші журналу студенти вказують назву практикуму, прізвище, ініціали, номер групи та курсу.

Оформлення протоколу лабораторних робіт проводять в такій послідовності:

1. Дата, тема та мета заняття.
2. Досліджуємих об'єкт.

3. Назва реакції або операції (ізолювання, очищення та ін.).
4. Методика проведення реакції (операції).
5. Хімізм реакції.
6. Спостереження.
7. Хіміко-токсикологічна оцінка отриманих результатів. Записи проводять чітко, охайно, без скорочень.

1.3.Складання акту хіміко-токсикологічної експертизи

Акт хіміко-токсикологічної експертизи складається на основі записів у робочому журналі.

При написанні акту забороняється скорочення окремих слів, використання хімічних символів. Докладно описується методика та спостереження.

В розділі «Обставини діла» вкажіть – учбова задача, а «Зовнішній огляд» – номер задачі, тару, об'єкт (мінералізат, дистилят, вміст шлунку та ін.) і його зовнішній вигляд (колір, запах, консистенція, рН середовища та ін.).

1.4. Практична робота студентів

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 1. Група речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу мінералізацією

Зверніть увагу на техніку безпеки при роботі з концентрованими сульфатною та нітратною кислотами, газовими горілками.

Для виконання практичної роботи скористуйтеся описаними методиками.

Вивчить мінералізацію біологічного матеріалу за допомогою суміші концентрованих сульфатної та нітратної кислот по стадіям (деструкція, мінералізація, закінчення мінералізації) на демонстраційному досліді, представленому викладачем. Після закінчення мінералізації проведіть денітрацію отриманого мінералізату формаліном.

Після цього отримайте готовий мінераліват (задача), опишіть його зовнішній вигляд, при наявності осаду відокремте його, обробіть відповідним способом і проведіть дослідження на катіони барію та плюмбуму.

Для виявлення катіонів барію використовуйте реакції перекристалізації з концентрованою сульфатною кислотою; відновлення сульфату барію з наступним виявленням катіону барію по реакції з йодатом калію.

Для виявлення катіонів плюмбуму використовуйте реакцію з дитізоном.

При виявленні плюмбуму з дитізоном проведіть реекстракцію катіонів плюмбуму і визначте на основі реакцій з йодатом калію; хроматом калію; сірководневою водою; сульфатною кислотою.

В частині фільтрату після відокремлення осаду визначте катіони марганцю та хрому.

Для виявлення катіону мангану використовуйте реакції з амоній персульфатом і калій перйодатом, а для виявлення катіонів хрому – з дифенілкарбазидом.

Запишіть результат досліджень в робочий журнал.

Керуючись, продовжіть дослідження мінералізату (після відокремлення та аналізу осаду). Виконайте виявлення іонів арсену, купруму, миш'яку, бісмуту та цинку.

Для виявлення катіонів аргентуму використовуйте реакції з дитізоном, натрій хлоридом, тіосечовиною та калій пікратом;

- для іонів купруму:

- ✓ з плюмбум диетилдитіокарбамінатом ,
- ✓ піридиновим реактивом,
- ✓ калій (II) гексацианофератом;

- для іонів бісмуту:

- ✓ з 8-оксихіноліном,
- ✓ тіосечовиною;

-для іонів цинку:

- ✓ з дитізоном,
- ✓ калій (II) гексацианофератом,
- ✓ натрій сульфідом;

- для іонів арсену:

- ✓ реакцію Зангер-Блека,
- ✓ випробування в апараті Марша (демонстрація).

Ознайомтесь з деструкцією біологічного матеріалу. Виконайте якісні реакції на іони ртуті та кількісне визначення екстракційно-фотоколориметричним методом (демонстрація).

Виконані дослідження та отримані результати відобразіть в робочому журналі.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 2. Група речовин, які ізолюються методом дистиляції водяною парою

Отримайте об'єкт дослідження (сеча, кров, дистилят). Обробіть пробу для визначення етанолу методом газорідинної хроматографії. Під керівни-

цтвом викладача проведіть дослідження підготовленого об'єкту на газовому хроматографі.

Наявність етанолу визначте по часу утримання, кількісне визначення зробіть по представленому викладачем калібровочному графіку, побудованому в координатах: відношення висот піків етилнітриту до пропілнітриту від кількості етанолу в пробі в промилях.

Для роботи отримайте зразки «летких» отрут у чергового лаборанта або викладача. Виконайте реакції виявлення «летких» отрут:

- на кислоту ціанідну:

✓ утворення берлінської блакиті;

- на формальдегід:

✓ з кислотою фуксинсульфатною,

✓ з кислотою хромотроповою,

✓ кодеїном та концентрованою кислотою сульфатною,

✓ лужним розчином резорцину,

✓ реактивом Фелінга;

- на хлороформ, хлоралгідрат, вуглець чотирьоххлорний, дихлоретан:

✓ по хлорид-іону після нагрівання з розчином лугу,

✓ утворення ізонітрілу,

✓ з лужним розчином резорцину,

✓ з реактивом Фелінга,

✓ з реактивом Несслера,

(спостереження узагальніть у вигляді таблиці);

- на спирт етиловий:

✓ утворення йодоформу,

✓ утворення оцтовоетилового ефіру,

✓ утворення ацетальдегіду;

- на спирт метиловий:

✓ утворення метилсаліцилату,

✓ окислення до формальдегіду з наступним виявленням продукту реакції вищевказаними реакціями;

- на спирт ізоаміловий:

- ✓ з саліциловим альдегідом,
- ✓ 4-диметиламінобензальдегідом,
- ✓ утворення ізоамілацетату,
- ✓ окислення до кислоти ізовалеріанової;

- на фенол:

- ✓ з бромною водою,
- ✓ з ферум (III) хлоридом,
- ✓ утворення індофенолу;

- на кислоту ацетатну:

- ✓ з ферум (III) хлоридом,
- ✓ утворення етилацетату.

Результати роботи запишіть у робочий журнал.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 3. Група речовин, які ізолюються з біологічного матеріалу підкисленим спиртом або підкисленою водою

Пам'ятайте про правила техніки безпеки при роботі з отруйними та сильнодіючими речовинами, концентрованими кислотами, газовими горілками та ін.

Отримайте у лаборанта або викладача хлороформні розчини саліцилової кислоти, барбітуратів, кофеїну та по описаним методикам виконайте кольорові та мікрокристалічні реакції:

- на кислоту саліцилову:

- ✓ утворення трибромфенолу,
- ✓ з розчином ферум (III) хлориду,
- ✓ утворення метилсаліцилату;

- на барбітурати:

✓ з спиртовим розчином кобальт нітрату або ацетату з амоніа-
ком,

✓ виділення кислотної форми,

✓ з хлорцинкйодом,

✓ залізойодидним комплексом,

✓ міднойодидним комплексом,

✓ спиртовим розчином калій йодиду,

✓ міднопіридиновим реактивом;

- на кофеїн:

✓ утворення мурексиду,

На барбітурати виконайте дослідження за допомогою методу хрома-
тографії в тонкому шарі сорбенту.

Отримайте у лаборанта або викладача хлороформні розчини алкалої-
дів та синтетичних речовин лужного характеру та по описаним методикам
виконайте мікрокристалічні та кольорові реакції:

на нікотин та анабазін:

✓ утворення йодбісмутатів алкалоїдів,

✓ утворення нікотин пікрату,

✓ отримання рейнекатів алкалоїдів;

- на пахікарпін:

✓ з розчином йоду в калій йодиді,

✓ родамідним комплексом кобальту,

✓ окислення бромом (реакція Коча);

- на атропін, скополамін:

✓ реакція Віталі-Морена,

✓ з сіллю Рейнеке (атропін, скополамін),

✓ бромною водою (атропін),

✓ кислотою пікриновою (атропін),

✓ утворення кокаїн перманганату;

- на хінін:

- ✓ реакцію флюоресценції,
- ✓ отримання еритрохініну,
- ✓ утворення талейохину,
- ✓ з амоній тіоціанатом;
- на *кодеїн*:
- ✓ з реактивом Маркі,
- ✓ реактивом Фреде,
- ✓ реактивом Манделіна,
- ✓ розчином кадмій йодиду,
- ✓ з сіллю Рейнеке,
- ✓ розчином меркурій (II) хлоридом;
- на *стріхнін*:
- ✓ з калій біхроматом в концентрованій кислоті сульфатній,
- ✓ реактивом Манделіна,
- ✓ кислотою пікриною;
- на *ефедрин*:
- ✓ з 2,4-динітрохлорбензолом;
- на *антипін, амідопін, анальгін*:
- ✓ з хлоридом ферум (III) хлоридом,
- ✓ отримання нітросантипірину,
- ✓ з розчином йоду в кислоті хлоридній (амідопін);
- на *хлордіазепоксид, діазепам, нітразепам, оксазепам*:
- ✓ утворення азобарвника;
- на *новокаїн, новокаїнамід*:
- ✓ утворення азобарвника,
- ✓ з реактивом Драгендорфа;
- на *аміназін, дипразин, тізерцин*:
- ✓ з концентрованою кислотою сульфатною,
- ✓ концентрованою кислотою нітратною,
- ✓ реактивом Маркі,

- ✓ концентрованою кислотою хлоридною.

Ознайомтесь з методами ТШХ-«скринінга» для попереднього виявлення отруйних речовин вивчаємої групи (демонстрація). Опишіть спостереження в робочому журналі.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 4. Група речовин, які ізолюються екстракцією органічними розчинниками (пестициди)

Пам'ятайте про техніку безпеки при роботі з пестицидами, органічними розчинниками, кислотами та ін.

Виконайте виявлення хлорофосу у витягу з біологічного матеріалу реакціями, загальними для фосформістких органічних пестицидів:

- ✓ біохімічною пробою,
- ✓ реакцією Шенемана,
- ✓ по фосфат-іону після мінералізації органічних речовин.

Ідентифікуйте хлорофос методом хроматографії в тонкому шарі з «свідком».

Опишіть спостереження в робочому журналі.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 5. Група речовин, яка визначається безпосередньо в біологічному матеріалі, карбон (II) оксид

Ознайомтесь з спектроскопічним методом виявлення вуглецю (II) оксиду в крові (демонстраційний дослід). Опишіть спостереження в робочому журналі.

ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ НАВЧАЛЬНОЇ ТА НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Обов'язкова

1. Белова А.В. Руководство к практическим занятиям по токсикологической химии. – М.: Медицина, 1976. - 232 с.
2. Вергейчик Т.Х. Токсикологическая химия. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 400 с.
3. Крамаренко В.П. Токсикологічна хімія. - К.: "Вища школа", 1995. – 423 с.
4. Крамаренко В.Ф. Токсикологическая химия. - К.: "Вища школа", 1989. – 447 с.
5. Крамаренко В.Ф. Химико-токсикологический анализ. – К.: "Вища школа", 1982. – 272 с.
6. Крамаренко В.Ф., Туркевич Б.М. Анализ ядохимикатов. - М.: "Химия", 1975.
7. Лужников Е.А., Костомарова В.Л. Острые отравления. - М.: "Медицина", 1989.
8. Парк Д. Биохимия чужеродных соединений. - М.: Медицина, 1973. - 288 с.
9. Руководство по судебно-медицинской экспертизе отравлений / Под ред. Р.В. Бережного. - М.: "Медицина", 1980. – 421 с.; М.: "Медицина", 1981. – 416 с.
10. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: учебное пособие под ред. Проф. Н.И. Калетиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.-1016 с.
11. Швайкова М. Д. Токсикологическая химия. - М.: Медицина, 1975. - 376 с.

Додаткова

1. Альберт А. Избирательная токсичность. - М.: Мир, 1989. - Т. 1,2.

2. Бабко А.К., Пилипенко А.Т. Фотометрический анализ. - М. : Химия, 1968. - 388 с.
3. Байерман К. Определение следовых количеств органических веществ. - М.: Мир, 1987. - 462 с.
4. Бережной Р.В. Судебно-медицинская экспертиза отравлений техническими жидкостями. - М.: Медицина, 1977. - 208 с.
5. Бок Р. Методы разложения в аналитической химии. - М.: Химия, 1984. - 432с.
6. Васильев А.Н. Теоретические основы хроматографических методов в биохимическом анализе. – К.: Вища школа, 1977. – 44 с.
7. Виноградова Р.П., Цудзевич Б.А., Храпунов С.Н. Физико-химические методы в биологии. – К.: Вища школа, 1983. – 287 с.
8. Гадаскина И. Д., Филов В. А. Превращение и определение промышленных органических ядов в организме. - М.: Медицина, 1971. - 304 с.
9. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. - М.: "Медицина", 1986. - 280 с.
10. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилов Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. - М.: Высшая школа, 1991. - 288 с.
11. Ефимов Л.К., Бора В.М. Лекарственные отравления у детей. - К.: Здоров'я, 1995. - 384 с.
12. Коренман И. М. Фотометрический анализ. - М.: Химия, 1970. - 334 с.; М.: Химия, 1975. - 360 с.
13. Коренман И. М. Экстракция в анализе органических веществ. - М.: Химия, 1977. - 200 с.
14. Крешков А. П. Основы аналитической химии: В 3 т. - М.: Химия, 1976. - Т. 1. - 472 с.
15. Крылова А.Н. Исследование биологического материала на "ме-

таллические" яды дробным методом. – М.: "Медицина", 1975. – 100 с.

16. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам. / О. Микеш, Й. Новак, З. Прохазка и др.; Под ред. О. Микеша. – М.: Мир, 1982. – Ч. I. - с. Ч. II. - 784 с.

17. Лакин К.М., Крылов Ю.Ф. Биотрансформация лекарственных веществ. - М.: Медицина, 1981. - 344 с.

18. Лудевиг Р., Лос К. Острые отравления. - М.: Медицина, 1983. - 560 с.

19. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. – М.: "Медицина", 1994. - 256 с.

20. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. - М.: Медицина, 1982. - 368 с.

21. Могош Г. Острые отравления. - Бухарест: Мед. изд-во, 1984. - 580 с.

22. Парк Д.В. Биохимия чужеродных соединений. - М.: Медицина, 1973. - 288 с.

23. Полюдек-Фабини Р., Бейрих Т. Органический анализ. - Л.: Химия, 1981. - 622 с.

24. Судебно-медицинское исследование трупа / Под ред. А.П. Громова и А.В. Капустина. - М.: "Медицина", 1991. - 320 с.

25. Торвальд Ю. Век криминалистики. - М.: Прогресс, 1984. – 328 с.

26. Торвальд Ю. Следы в пыли. Развитие судебной химии и биологии. - М.: Юрид. лит., 1982. – 176 с.

27. Торвальд Ю. Сто лет криминалистики. - М.: Прогресс, 1973. - С. 253-382.

28. Файгль Ф. Капельный анализ органических веществ. - М.: Госхимиздат, 1962.- 836 с.

29. Файгль Ф., Ангер В. Капельный анализ неорганических веществ: В 2 т. - М.: Мир, 1976. Т.1. - 392 с.; Т. 2. - 320 с.

30. Фритц Дж., Шенк Г. Количественный анализ. - М.: Мир, 1978. – 558 с.
31. Хирц Ж. Аналитические методы исследования метаболизма лекарственных веществ. - М.: Медицина, 1975. - 272 с.
32. Шаршунова М., Шварц Б. Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии: В 2 ч. - М. : Мир, 1980. – 624 с.
33. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. - М.: Мир, 1965. - 508 с.