

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

# *Аналітична* **ТОКСИКОЛОГІЯ**

Навчальний посібник  
для студентів вищих навчальних закладів

Харків  
НФаУ  
«Золоті сторінки»  
2017

УДК 615.9:54.05:543.06:543.5

А 64

**Автори:** С.В. Баюрка, В.С. Бондар, С.І. Мерзлікін, С.А. Карпушина, О.Г. Погосян, С.М. Полуян, В.І. Степаненко, З.В. Шовкова, К.Ю. Нетьосова, В.Ю. Москаленко, В.М. Ковальов

**Рецензенти:** *С.О. Васюк*, доктор фарм. наук, професор, завідувач кафедри аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету;

*І.Й. Галькевич*, кандидат фарм. наук, доцент, завідувач кафедри токсикологічної і аналітичної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького;

*О.М. Свечнікова*, доктор хім. наук, професор, завідувач кафедри хімії Харківського національного педагогічного університету ім. Г.С. Сковороди

*Рекомендовано Міністерством освіти і науки України  
(лист № 1/II-5665 від 13.06.2017 р.)*

**А64 Аналітична токсикологія** : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / С. В. Баюрка, В. С. Бондар, С. І. Мерзлікін та ін. — Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. — 384 с.

ISBN 978-966-615-514-9

ISBN 978-966-400-424-1

У навчальному посібнику розглянуто сучасні напрями аналітичної токсикології, основні закономірності поведінки ксенобіотиків в організмі, токсикодинаміку, токсикокінетику та хіміко-токсикологічний аналіз (пробіпідготовка, виявлення та визначення) окремих груп токсикантів: сполук важких металів, легких речовин та органічних розчинників, пестицидів, лікарських речовин, мінеральних кислот, лугів та ін.

Для студентів вищих фармацевтичних навчальних закладів і фармацевтичних факультетів вищих медичних навчальних закладів III–IV рівнів акредитації.

**УДК 615.9:54.05:543.06:543.5**

**ISBN 978-966-615-514-9**

**ISBN 978-966-400-424-1**

© Національний фармацевтичний університет, 2017  
© С.В. Баюрка, В.С. Бондар, С.І. Мерзлікін, С.А. Карпушина, О.Г. Погосян, С.М. Полуян, В.І. Степаненко, З.В. Шовкова, К.Ю. Нетьосова, В.Ю. Москаленко, В.М. Ковальов, 2017

# ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА.....	7
<b>РОЗДІЛ 1. ОСНОВИ АНАЛІТИЧНОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ .....</b>	<b>8</b>
1.1. Аналітична токсикологія: визначення, напрямки та основні поняття.....	8
1.2. Правові аспекти аналітичної токсикології.....	10
1.3. Деякі терміни та поняття аналітичної токсикології.....	12
1.4. Хіміко-токсикологічний аналіз: визначення, напрямки та методологія .....	14
1.5. Методологія та особливості судово-токсикологічних досліджень.....	16
<b>РОЗДІЛ 2. ТОКСИКОКІНЕТИКА І МЕТАБОЛІЗМ.....</b>	<b>25</b>
2.1. Всмоктання, розподіл і шляхи виведення токсичних речовин з організму ..	25
2.2. Біотрансформація токсичних речовин в організмі.....	28
2.3. Методи детоксикації токсичних речовин в організмі .....	38
<b>РОЗДІЛ 3. ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ СПОЛУК ВАЖКИХ МЕТАЛІВ.....</b>	<b>40</b>
3.1. Загальна характеристика групи .....	40
3.2. Основні закономірності поведінки сполук важких металів в організмі .....	41
3.3. Фізико-хімічні властивості сполук важких металів, їх застосування, причини отруєнь, токсичність.....	44
3.4. Сучасні методи мінералізації .....	54
3.5. Особливості деструктивної мінералізації біологічного матеріалу при дослідженні на меркурій .....	60
3.6. Аналіз мінералізату дробним методом .....	60
3.6.1. Основні положення дробного методу аналізу. Способи «маскування» заважаючих іонів .....	60
3.6.2. Схема аналізу мінералізату за о.М. Криловою .....	63
3.6.3. Виявлення меркурію у деструктаті .....	76
3.7. Атомно-абсорбційна спекторметрія при дослідженні металів.....	77
3.8. Методи профілактики та засоби лікування при отруєнні сполуками важких металів .....	80
<b>РОЗДІЛ 4. ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ЛЕТКИХ РЕЧОВИН .....</b>	<b>82</b>
4.1. Загальна характеристика групи летких речовин .....	82

4.2. Методи ізолювання летких речовин із біологічних об'єктів. . . . .	84
4.3. Токсикологічне значення летких речовин. Аналіз дистилатів хімічним методом. . . . .	87
4.3.1. Кислота синильна та ціаніди . . . . .	87
4.3.2. Галогенпохідні аліфатичного ряду. . . . .	92
4.3.3. Формальдегід . . . . .	102
4.3.4. Спирт метиловий . . . . .	105
4.3.5. Спирт етиловий . . . . .	108
4.3.6. Ізоаміловий спирт (ізопентанол). . . . .	112
4.3.7. Ацетон . . . . .	116
4.3.8. Фенол . . . . .	118
4.3.9. Кислота ацетатна . . . . .	121
4.3.10. Етиленгліколь . . . . .	124
4.3.11. Тетраетилсвинець . . . . .	126
4.4. Використання методу газо-рідинної хроматографії для виявлення та кількісного визначення летких речовин . . . . .	127
4.4.1. Метод газо-рідинної хроматографії . . . . .	127
4.4.2. Основні вузли газового хроматографа . . . . .	128
4.4.3. Якісний і кількісний аналіз аліфатичних спиртів методом газо-рідинної хроматографії. . . . .	135

## РОЗДІЛ 5. ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ПЕСТИЦИДІВ . . . . . 137

5.1. Загальне поняття про пестициди. Токсикологічне значення пестицидів. Негативні чинники впливу пестицидів на людину і довкілля . . . . .	137
5.2. Класифікація пестицидів . . . . .	138
5.3. Фізико-хімічні властивості, основні закономірності поведінки в організмі, токсична дія хлорорганічних пестицидів на організм . . . . .	139
5.3.1. Гексахлорциклопексан . . . . .	140
5.3.2. Група поліхлорциклодієнів. Гептахлор . . . . .	143
5.4. Фізико-хімічні властивості, основні закономірності поведінки в організмі. Токсична дія на організм естерів фосфорних кислот. . . . .	144
5.5. Хіміко-токсикологічний аналіз пестицидів. . . . .	148
5.5.1. Спрямованість аналізу. . . . .	148
5.5.2. Методи ізолювання пестицидів. . . . .	149
5.5.3. Методи очистки екстрактів . . . . .	149
5.5.4. Методи виявлення пестицидів. . . . .	150
5.5.5. Методи кількісного аналізу ФОС і ХОС . . . . .	153
5.6. Методи хіміко-токсикологічного аналізу об'єктів біологічного походження на пестициди — похідні кислоти карбамінової. . . . .	154
5.7. Методи хіміко-токсикологічного аналізу об'єктів біологічного походження на пестициди групи меркурійорганічних сполук . . . . .	156
5.8. Хіміко-токсикологічне дослідження отрутохімікатів інших хімічних груп . . . . .	158
5.8.1. Група аліциклічних карбонових кислот . . . . .	158
5.8.2. Неорганічні пестициди. Фосфід цинку . . . . .	161

<b>РОЗДІЛ 6. ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН</b> .....	162
6.1. Загальна характеристика лікарських речовин за фізико-хімічними властивостями та токсикокінетичними особливостями .....	162
6.2. Загальні та спеціальні методи ізолювання лікарських речовин з біологічного матеріалу .....	164
6.3. Методи виділення лікарських речовин з біологічних рідин .....	173
6.4. Методи очистки витяжок від супутніх домішок і концентрування виділених лікарських речовин .....	176
6.5. Методи хіміко-токсикологічного аналізу лікарських речовин. ....	179
6.5.1. Загальна схема дослідження біологічних об'єктів на вміст лікарських речовин .....	179
6.5.2. ТШХ-скринінг лікарських речовин .....	183
6.5.3. Імунохімічні методи. ....	191
6.5.4. Хімічний метод дослідження екстрактів .....	202
6.5.5. Фізико-хімічні методи аналізу лікарських речовин у біологічних екстрактах .....	204
6.6. Токсикологічне значення та хіміко-токсикологічний аналіз лікарських речовин кислого, нейтрального та слабоосновного характеру. ....	222
6.6.1. Похідні кислоти саліцилової .....	222
6.6.2. Похідні кислоти барбітурової .....	227
6.6.3. Похідні піразолону-5. ....	235
6.6.4. Похідні <i>n</i> -амінофенолу .....	240
6.6.5. Канабіноїди. ....	245
6.7. Токсикологічне значення та хіміко-токсикологічний аналіз алкалоїдів .....	251
6.7.1. Похідні піридину і піперидину .....	256
6.7.2. Похідні тропану .....	261
6.7.3. Похідні хіноліну .....	267
6.7.4. Похідні ізохіноліну. ....	269
6.7.5. Похідні індолу. ....	283
6.7.6. Похідні пурину .....	287
6.7.7. Ациклічні алкалоїди .....	291
6.8. Токсикологічне значення та хіміко-токсикологічний аналіз синтетичних лікарських речовин основного характеру .....	293
6.8.1. Похідні 1,4-бензодіазепіну .....	293
6.8.2. Похідні фенотіазину .....	302
6.8.3. Трициклічні антидепресанти .....	310
6.8.4. Синтетичні опіоїди .....	315
6.8.5. Амфетаміни .....	319
6.8.6. Похідні кислоти <i>n</i> -амінобензойної. ....	324
6.9. Терапевтичний лікарський моніторинг .....	329
<b>РОЗДІЛ 7. АНАЛІТИЧНА ДІАГНОСТИКА ОТРУЄНЬ ТОКСИЧНИМИ ГАЗАМИ</b> .....	332
7.1. Загальна характеристика чадного газу .....	332
7.2. Хіміко-токсикологічний аналіз крові на вміст чадного газу .....	334

7.2.1. Хімічні методи виявлення карбоксигемоглобіну . . . . .	334
7.2.2. Оптичні методи виявлення та визначення карбоксигемоглобіну . . . . .	335
7.2.3. Виявлення карбон(II) оксиду методом мікродифузії. . . . .	340
7.2.4. Виявлення та визначення карбон(II) оксиду методом газової хроматографії . . . . .	341
7.3. Загальна характеристика та хіміко-токсикологічний аналіз біологічних об'єктів. . . . .	342
7.3.1. Хлор . . . . .	342
7.3.2. Сірководень. . . . .	345
7.3.3. Нітроген(I, II, IV) оксиди . . . . .	351
7.4. Флуорорганічні сполуки . . . . .	353

**РОЗДІЛ 8. АНАЛІТИЧНА ДІАГНОСТИКА  
ОТРУЄНЬ МІНЕРАЛЬНИМИ КИСЛОТАМИ,  
ОСНОВАМИ ТА ЇХ СОЛЯМИ . . . . .**

8.1. Ізолювання мінеральних кислот, основ та солей з біологічного матеріалу. Очистка витяжок . . . . .	356
8.2. Загальна характеристика та дослідження мінеральних кислот . . . . .	357
8.2.1. Кислота сульфатна . . . . .	358
8.2.2. Кислота нітратна . . . . .	360
8.2.3. Кислота хлоридна . . . . .	362
8.3. Загальна характеристика та дослідження неорганічних основ. . . . .	363
8.3.1. Калій гідроксид. . . . .	364
8.3.2. Натрій гідроксид . . . . .	365
8.3.3. Амоніак . . . . .	366
8.4. Солі лужних металів (нітрити та нітрати) . . . . .	368
8.4.1. Нітрити . . . . .	368
8.4.2. Нітрати. . . . .	370
8.4.3. Аналіз нітратів та нітритів методом газо-рідинної хроматографії . . . . .	371
8.5. Кількісне визначення мінеральних кислот, основ та солей в діалізатах . . . . .	372

**РОЗДІЛ 9. ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ  
ФТОРИДІВ ТА КРЕМНІЙФТОРИДІВ.  
ЕКОЛОГІЧНА ТОКСИКОЛОГІЯ . . . . .**

9.1. Фториди і кремнійфториди . . . . .	374
9.2. Екологічна токсикологія як напрямок аналітичної токсикології . . . . .	377

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ . . . . .**

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ . . . . .**

## ПЕРЕДМОВА

Навчальний посібник з аналітичної токсикології створений колективом викладачів кафедри лікарської та аналітичної токсикології Національного фармацевтичного університету для студентів вищих навчальних закладів, які навчаються за спеціальністю «Фармація».

Зміст лекцій відповідає робочій програмі з лікарської та аналітичної токсикології, яка створена в Національному фармацевтичному університеті у 2016 р. та схвалена на засіданні профільної методичної комісії з хімічних дисциплін (протокол №1 від 09.09.2016 р.).

Особливістю сучасного стану розвитку аналітичної токсикології є постійне оновлення інформації з новітніх методів пробопідготовки, токсикологічного скринінгу, ідентифікації та визначення токсичних речовин і продуктів їх біотрансформації в об'єктах різного походження. Зростання кількості отруйних і потенційно небезпечних для людини сполук природного та синтетичного походження, пов'язане з постійним розширенням номенклатури лікарських засобів, явищами наркоманії і токсикоманії, забрудненням довкілля внаслідок промислової діяльності, розширенням переліку пестицидів, засобів побутової хімії та синтетичних матеріалів, що оточують сучасну людину, знайшло своє відображення у формуванні нових напрямів та прикладних аспектів аналітичної токсикології.

Крім таких традиційних розділів, як судова аналітична токсикологія (судова хімія) та експрес-аналіз гострих інтоксикацій, набули розвитку аналітична діагностика наркоманій і токсикоманій, терапевтичний лікарський моніторинг, екотоксикологія, допінг-контроль у спорті та ін. Така новітня інформація недостатньо відображена у вітчизняній навчально-методичній літературі з токсикологічної хімії. Враховуючи це, автори навчального посібника зробили спробу представити сучасний стан досліджень у сфері судової і клінічної токсикології, стисло та систематизовано подати матеріал з методів хіміко-токсикологічного аналізу токсичних речовин різних груп, необхідний для формування у здобувачів вищої освіти зі спеціальності «Фармація» базової підготовки з аналітичної токсикології.

# РОЗДІЛ 1

## ОСНОВИ АНАЛІТИЧНОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

### 1.1. АНАЛІТИЧНА ТОКСИКОЛОГІЯ: ВИЗНАЧЕННЯ, НАПРЯМКИ ТА ОСНОВНІ ПОНЯТТЯ

Поширення наркоманії, синтез нових психоактивних речовин, вживання фальсифікованих лікарських засобів, сурогатів алкоголю та інших токсикантів, застосування хімічних речовин у терористичних актах, техногенні катастрофи зумовлюють зростання кількості гострих отруень, у тому числі з летальними наслідками.

У цьому аспекті з кожним роком набувають актуальності хіміко-токсикологічні дослідження, які здійснюються спеціалізованими закладами під час виконання судово-медичних, клініко-токсикологічних, криміналістичних, антидопінгових, екологічних та інших експертиз.

При виконанні перелічених експертиз спеціалізовані служби на практиці вирішують одні й ті самі завдання та у своїй діяльності використовують єдину для всіх методологію хіміко-токсикологічного аналізу (ХТА), яка включає правила відбору проб, методи ізолювання хімічних речовин (токсикантів) з об'єктів дослідження, їх ідентифікації та кількісного визначення, інтерпретацію одержаних результатів з особливостями складових для кожного виду експертизи.

За допомогою методів ХТА аналітична токсикологія (токсикологічна хімія) вирішує низку питань прикладного та профілактичного характеру. Так, за допомогою методів ХТА:

- встановлюються причини отруєння;
- вивчається біотрансформація (шляхи метаболізму) токсикантів;
- визначаються токсичні та летальні дози токсикантів;
- встановлюються та контролюються гранично допустимі концентрації токсичних речовин у воді та повітрі;
- нормуються залишкові кількості пестицидів і токсичних речовин у продуктах харчування;

- визначаються стани алкогольного та токсикоманічного сп'яніння тощо.

У світлі сучасних уявлень у більшості розвинутих країн токсикологічну хімію називають аналітичною токсикологією. На думку багатьох фахівців, остання назва дисципліни більш повною мірою відображає мету, завдання та напрямки застосування ХТА.

**Аналітична токсикологія** розробляє методи хіміко-токсикологічного аналізу ксенобіотиків, що застосовуються для їх визначення в об'єктах різної природи.

Визначають такі об'єкти ХТА:

- *біологічного походження*: трупний або секційний матеріал (печінка, нирки, легені, мозок, селезінка та ін.), біологічні рідини (кров, сеча, жовч, слина, потові виділення та ін.);

- *небіологічного походження*: речові докази (предмети, вилучені з місця події: порошки, розчини, таблетки, посуд, контейнери або шприци, що містять слідові кількості токсикантів, сухі залишки розчинів, рослинні об'єкти, наприклад, зразки канабісу та ін.), вода, ґрунт, продукти харчування тощо.

Аналітична токсикологія є прикладною дисципліною, що ґрунтується на фундаментальних науках та інших прикладних дисциплінах: загальній хімії, неорганічній хімії, органічній хімії, аналітичній хімії, фармакології, фармакогнозії, екології, судовій медицині та ін., з якими у неї або спільний предмет вивчення (дослідження), наприклад, хімічні речовини, або спільні методи дослідження. Крім методів ХТА в аналітичній токсикології також розглядаються питання біотрансформації токсикантів та механізмів їх токсичної дії на організм, які, у свою чергу, вивчаються на базі таких фундаментальних наук, як біологічна хімія та токсикологія.

*Головною метою* аналітичної токсикології є розробка методів пробопідготовки (ізолювання, очистка, концентрування), виявлення, ідентифікації, кількісного визначення ксенобіотиків у біологічних та інших об'єктах хіміко-токсикологічного дослідження.

*Основні завдання аналітичної токсикології:*

- 1) розробка та удосконалення методів ізолювання токсикантів та їх метаболітів з біологічних об'єктів;

- 2) розробка та удосконалення способів очистки вилучень токсикантів та їх метаболітів з біологічних об'єктів від домішок різної природи;

- 3) розробка чутливих та селективних методів виявлення, ідентифікації та кількісного визначення токсикантів та їх

метаболітів у вилученнях (екстрактах), одержаних з біологічних об'єктів;

4) розробка нових методів аналізу для аналітичної діагностики алкогольного, наркотичного та токсикоманічного сп'яніння;

5) розробка та удосконалення методів аналізу речових доказів на вміст наркотичних, психоактивних, сильнодіючих та інших токсичних речовин;

6) розробка експрес-методів аналізу біологічних рідин для аналітичної діагностики гострих отруень і вибору відповідних методів детоксикації;

7) розробка нових методів аналізу для санітарно-гігієнічної експертизи навколишнього середовища та продуктів харчування.

Оволодіння основами аналітичної токсикології, певними теоретичними знаннями та практичними навичками у ХТА є необхідними провізору для розуміння токсичної дії багатьох хімічних речовин, у тому числі лікарських засобів, методів детоксикації організму при гострих отруєннях та подальшої спеціалізації в сфері судово-медичної та санітарно-гігієнічної експертизи, клінічної токсикології, наркології, криміналістики, екології та ін.

*Основні напрямки аналітичної токсикології:*

1. *Судово-токсикологічний* — проведення судово-медичної експертизи з метою встановлення причини летального отруєння хімічною речовиною.

2. *Клініко-токсикологічний* — аналітична діагностика гострих отруень хімічними речовинами.

3. *Наркологічний* — встановлення ступеня алкогольного сп'яніння, а також факту застосування наркотичних та психоактивних речовин.

4. *Екотоксикологічний* — визначення концентрації токсикантів у довкіллі (грунті, воді, повітрі), робочих зонах виробництв, продуктах харчування та інших об'єктах.

## **1.2. ПРАВОВІ АСПЕКТИ АНАЛІТИЧНОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ**

Хіміко-токсикологічний аналіз застосовується у таких судово-експертних закладах України:

- експертні служби СБУ, МВС та МО України (експертно-криміналістичні центри, лабораторії та ін.);
- Міністерство юстиції України (Київський НДІ судових експертиз; Харківський НДІ судових експертиз ім. М.С. Бокаріуса);

- МОЗ України (головне та обласні бюро судово-медичної експертизи (БСМЕ), судово-психіатричні заклади, наркологічні диспансери та ін.).

*Судово-медична експертиза* — це застосування судово-медичних знань для вирішення питань, які виникають у практичній діяльності органів дізнання, слідства і суду. Експертиза, у тому числі судово-медична, є одним із доказів у слідчому і судовому процесах.

Переважає більшість експертиз проводиться судово-медичними експертами, тобто лікарями, які отримали спеціальну підготовку й обіймають посади судово-медичних експертів. Така експертиза є посадовою чи державною. Обов'язки судово-медичного експерта може виконувати тільки спеціаліст з вищою медичною освітою. Якщо немає лікаря, який обіймає посаду судово-медичного експерта, то відповідно до ст. 192 КПК України запрошується лікар іншої спеціальності. У цьому випадку він називається лікар-експерт, на нього поширюються права і обов'язки судово-медичного експерта. Цей вид експертизи називається вільною експертизою.

Проведення судово-медичної експертизи регламентується окремими спеціальними статтями Кримінального кодексу (КК), Кримінального процесуального кодексу (КПК), Цивільного кодексу (ЦК), Цивільно-процесуального кодексу (ЦПК) України, постанов і розпоряджень уряду, а також положеннями, правилами та інструкціями, які затверджуються МОЗ України.

Судово-медична експертиза (дослідження), як і інші види експертиз, проводиться тільки за письмовим розпорядженням, постановою, поданням органів дізнання, слідчих органів чи визначенням суду (ст. 196 КПК України). Відповідно до ст. 76 КПК України вона обов'язково призначається для встановлення причини і категорії смерті; характеру і тяжкості тілесних ушкоджень; статевої зрілості у справах про злочини, передбачені ст. 120 КПК України; віку підозрюваної особи чи звинуваченого, якщо це має значення для вирішення питання про їх кримінальну відповідальність за відсутності відповідних документів про вік.

Судово-медична експертиза проводиться як на попередньому слідстві, так і в судовому засіданні.

У своїй практичній діяльності судово-медичні експерти керуються Інструкцією про проведення судово-медичної експертизи, затвердженою Наказом МОЗ України від 17 січня 1995 р. №6 і узгодженою з Верховним Судом України, Генеральною прокуратурою України, Службою безпеки України, Міністерством внутрішніх справ України.

*Об'єктами судово-медичної експертизи можуть бути:*

- потерпілі, обвинувачувані й інші особи (живі особи);
- трупи осіб, які померли насильницькою смертю в результаті убивства, самогубства чи нещасного випадку, або при підозрі на таку смерть; осіб, які померли раптово в лікувальних закладах при невстановленому діагнозі в першу добу їхнього там перебування; невідомих осіб; осіб, які померли в лікувальних закладах, у разі скарги родичів до органів прокуратури на неправильне лікування хворого; новонароджених при підозрі на скоєння їх вбивства та ін.;
- речові докази — предмети чи сліди, які можуть служити для виявлення обставин справи, встановлення або спростування кримінальної дії, виявлення суті того, що відбулося. Процесуальне визначення речових доказів дане в ст. 78 КПК України. Речовими доказами можуть бути найрізноманітніші об'єкти. Найчастіше в судово-медичній практиці досліджуються об'єкти зі слідами крові, волосся, сперми, слини, частини кісток, внутрішніх органів, тобто речові докази біологічного походження;
- матеріали кримінальних і цивільних справ. Суттєвим об'єктом експертизи можуть бути матеріали справ, коли слідчий чи суд надсилає експерту всю справу для вивчення і відповідей на поставлені запитання. Це застосовується в тих випадках, коли у справі зібрано багато різних медичних документів чи є кілька, що суперечать один одному, експертних висновків або експертиз, що розходяться з даними слідства тощо.

Усі без винятку об'єкти досліджуються при призначенні експертизи тільки за постановою особи, яка проводить дізнання, слідчого, прокурора або за ухвалою суду. Дослідження кожного об'єкта проводиться відповідно до спеціальних інструкцій, методичних вказівок, правил, затверджених МОЗ України. При проведенні судово-медичних експертиз має бути єдина організаційна основа, яка забезпечує, з одного боку, дотримання експертами вимог законодавства, а з іншого — проведення експертизи зі застосуванням науково обґрунтованих методів дослідження. Таке значення мають чинні у системі судово-медичної експертизи інструктивно-методичні матеріали.

### **1.3. ДЕЯКІ ТЕРМІНИ ТА ПОНЯТТЯ АНАЛІТИЧНОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ**

*Отрутою* стає будь-яка хімічна речовина, якщо при взаємодії з організмом вона викликає захворювання чи загибель (інтоксикацію, отруєння та ін.) (Основи токсикології. Куценко С.А., 2002).

*Отрута (токсикант)* — токсична речовина будь-якої природи, яка здатна порушити гомеостаз біологічної системи та чинити на неї шкідливий вплив при взаємодії, викликаючи ушкодження або загибель.

*Токсична речовина* — хімічна речовина, яка при впливі на організм людини (тварини) може викликати порушення в стані здоров'я або захворювання різного ступеня тяжкості як у процесі контакту з речовиною, так і у віддалені періоди життя нинішнього і наступного поколінь (Клиническая токсикология. Лужников Е.А., 1982).

*Токсикант* — широке поняття, що застосовується для позначення речовин, які викликають не тільки інтоксикацію організму, але провокують інші форми токсичного процесу в біологічних системах: клітинах — цитотоксичність, популяціях — екотоксичність (Лекарственная токсикология. Дроговоз С.М., 2015).

*Токсини* — високотоксичні хімічні сполуки і речовини білкової природи бактеріального, тваринного або рослинного походження.

*Токсичність* — здатність речовин, діючи на біологічні системи (організм, клітини, популяції), викликати їх пошкодження або загибель.

*Токсичний процес* — формування і розвиток реакцій біологічної системи на дію токсиканта, що призводить до її пошкодження або загибелі.

*Інтоксикація* — токсичний процес, що відбувається в результаті впливу токсичних речовин на організм.

*Ксенобіотик* — чужорідна речовина (не використовується у пластичному або енергетичному обміні організму з середовищем), що потрапила у внутрішнє середовище організму.

*Біологічний (секційний, трупний) матеріал* — органи та тканини, вилучені при розтині трупа.

*Ізолювання* — процес відділення токсикантів від біологічної матриці або процес вилучення токсикантів з біологічних об'єктів.

*Екстракція (extrahere — вилучати)* — процес вилучення токсикантів з біологічних об'єктів за допомогою розчинників (екстрагентів).

*Екстракт (extractus — вилучений)* — концентроване вилучення, одержане з біологічних об'єктів.

*Рідинно-рідинна екстракція* — спосіб розділення речовин між двома рідкими фазами, що не змішуються.

*Мінералізація* — процес окиснення (спалювання) органічної складової біологічного матеріалу.

*Мінералізація* — вилучення металів, одержане внаслідок мінералізації біологічного матеріалу.

*Дистиляція (перегонка)* — процес (спосіб) виділення летких речовин із біологічних об'єктів за допомогою водяної пари.

*Дистилят* — вилучення летких речовин, отримане з біологічного матеріалу внаслідок дистиляції.

*Пробопідготовка* — сукупність дій над об'єктом аналізу (подрібнення, екстракція, концентрування, розділення та ін.) з метою переведення проби у зручну для подальшого аналізу форму.

## **1.4. ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ: ВИЗНАЧЕННЯ, НАПРЯМКИ ТА МЕТОДОЛОГІЯ**

Основою аналітичної токсикології є хіміко-токсикологічний аналіз.

*Хіміко-токсикологічний аналіз* — це систематичне аналітичне дослідження, метою якого є ідентифікація та кількісне визначення токсичних речовин в об'єктах різного походження.

*Складові хіміко-токсикологічного аналізу:*

- 1) вибір об'єктів та відбір проб дослідження;
- 2) пробопідготовка (ізолювання токсикантів з об'єктів дослідження, очищення вилучень від домішок різної природи, концентрування, дериватизація, розділення токсикантів та ін.);
- 3) виявлення та ідентифікація токсикантів;
- 4) кількісне визначення токсикантів;
- 5) інтерпретація результатів аналізу.

Зазначені складові є прийнятними для багатьох видів ХТА, оскільки відображають його загальну концепцію та методологію проведення. Проте залежно від напрямку застосування, мети та завдань аналізу, об'єктів дослідження та інших обставин деякі його складові не у всіх випадках можуть бути доцільними. Наприклад, при дослідженні речових доказів у більшості випадків не проводять ізолювання та кількісне визначення досліджуваної речовини невідомої хімічної природи, якщо такий аналіз здійснюється щодо встановлення її належності до наркотичних засобів; при отруєнні чадним газом карбоксигемоглобін визначають безпосередньо в крові без попереднього його ізолювання з біологічного об'єкта та ін.

### **Варіанти або направленість проведення хіміко-токсикологічного аналізу**

Залежно від конкретних обставин справи, клінічних ситуацій, результатів розтину трупа, даних попереднього розслідування

або попередніх випробувань тощо розрізняють декілька варіантів проведення ХТА.

*Направлений ХТА* проводиться в тому випадку, якщо за матеріалами справи зроблено припущення або стало відомим, якою речовиною або групою речовин відбулося отруєння.

*Ненаправлений ХТА* проводиться в тому випадку, якщо за матеріалами справи відсутні відомості про хімічну природу токсичної речовини. Цей аналіз також визначають як *загальний аналіз* або *аналіз на невідому речовину*.

Залежно від обставин справи, місця проведення, об'єктів дослідження та ін. розрізняють декілька напрямків застосування ХТА (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

### Напрямки застосування хіміко-токсикологічного аналізу

№ з/п	Напрямки застосування ХТА	Мета	Місце проведення	Об'єкти дослідження
1	2	3	4	5
1	Судово-токсикологічні дослідження, що проводяться в межах судово-медичної експертизи	Отримання об'єктивних даних, необхідних судово-слідчим органам при розкритті злочину (встановлення причини смерті або замаху на життя)	Бюро судово-медичної експертизи (БСМЕ)	Речові докази отруєння, секційний матеріал (шлунок зі вмістом, печінка, селезінка, нирки та ін.), сеча, кров, жовч та інші об'єкти
2	Аналітична діагностика гострих інтоксикацій	Встановлення природи отруйної речовини та рекомендації щодо методів детоксикації (спільно з лікарем)	Клінічні лабораторії токсикологічних відділень, лабораторії центрів клінічної токсикології, відділення судово-токсикологічних досліджень БСМЕ	Кров, сеча, слина, потові виділення, блювотні маси, промивні води шлунка (перші порції), рідина перитоніального діалізату та інші об'єкти
3	Експертиза алкогольного, наркотичного та токсикоманічного сп'яніння	Визначення ступеня алкогольного сп'яніння та встановлення факту застосування наркотичних та психотропних речовин за не-медичним призначенням	Наркологічні диспансери	Кров, сеча, волосся, нігті, потожирові виділення та інші об'єкти

1	2	3	4	5
4	Експертиза наркотичних, психоактивних речовин та кустарно виготовлених засобів наркотичної дії	Встановлення належності досліджуваних речовин до наркотичних, а також визначення кількісного вмісту наркотичних речовин в об'єктах дослідження	НДІ судових експертиз, експертно-криміналістичні лабораторії МВС	Зразки канабісу, опію та їх екстрактів, субстанції (порошки), таблетки, драже, розчини, змиви з тіла людини та інші об'єкти
5	Допінг-контроль	Визначення факту застосування допінгових засобів	Лабораторії, акредитовані Всесвітньою антидопінговою агенцією (WADA)	Біологічні рідини
6	Санітарно-гігієнічна експертиза середовища проживання та харчових продуктів	Проведення дослідження стосовно можливості реалізації та використання харчових продуктів, товарів та засобів	Державні санітарно-епідеміологічні служби, ветеринарний нагляд, митна служба та лабораторії Держстандарту	Харчові продукти, косметичні засоби, побутова хімія, фарби, лаки, розчинники, меблі, тканини, одяг, покриття для стін та підлоги, посуд та інші об'єкти

## 1.5. МЕТОДОЛОГІЯ ТА ОСОБЛИВОСТІ СУДОВО-ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Судово-токсикологічні дослідження проводяться відповідно до Правил проведення судово-медичних експертиз (досліджень) у відділеннях судово-медичної токсикології бюро судово-медичної експертизи та Положення про бюро судово-медичної експертизи управлінь охорони здоров'я обласних виконавчих комітетів, затверджених Наказом МОЗ України №6 від 17.01.1995 р., а також методичних рекомендацій щодо ХТА на певні токсиканти, прийнятих на відповідному рівні.

### Відбір проб дослідження

У випадках підозри на смертельне отруєння хімічною речовиною, враховуючи обставини справи, специфічні ознаки отруєння тощо та результати розтину трупа (запах, забарвлення, морфологічне змінення органів тощо) вибір об'єктів та відбір зразків трупного матеріалу ґрунтуються на анамнезі випадку, вказівок органів дізнання або доступності вилучення. При цьому судово-медичний експерт (патологоанатом) має виконувати відповідні

інструкції та накази про відбір максимальної кількості зразка: кров, сеча, жовч, склоподібне тіло, вміст шлунка, печінка, нирки та інші об'єкти (табл. 1.2).

Таблиця 1.2

**Об'єкти дослідження при проведенні судово-токсикологічних досліджень**

Об'єкт	Кількість	Умови відбору
Кров (серце)	50–100 мл	Завжди
Кров (периферична)	5–10 мл	Для кількісного визначення
Сеча	Уся	Завжди
Склоподібне тіло	Усе	Завжди
Вміст шлунка	Увесь	Для підтвердження результатів аналізу
Печінка	50 г	Завжди
Жовч	Уся	Завжди
Нирка	50 г	На етиленгліколь, метали
Селезінка	5–9 г	На СО, ціаніди
Мозок	50 г	На ліпофільні речовини
Легені	50 г	На леткі речовини
Волосся	Пучок не менше 15–20 волосин	На метали, наркотики

У випадках непроведення розтину відбирають периферичну кров, сечу та склоподібне тіло.

Судова захищеність результатів токсикологічного дослідження залежить від якості та типу відібраних зразків, їх збереження, коректного консервування та документального оформлення, а також контролю під час відбору проби та процесу збереження.

При надходженні секційного матеріалу у відділення судово-токсикологічних досліджень БСМЕ хімік-токсиколог складає план судово-токсикологічного дослідження, необхідність якого визначається первинною цінністю об'єктів дослідження (їх неможливо продублювати) та досить швидким зміненням складу біологічних рідин (повторний аналіз дає інші результати). Складання плану судово-токсикологічного дослідження залежить від походження та характеру об'єкта, який надійшов для дослідження, питань, що стоять перед експертом, змісту супровідних документів та результатів огляду об'єкта дослідження.

**Огляд об'єкта дослідження, що надійшов на аналіз:**

- *Зовнішній огляд об'єкта дослідження.* Його порівнюють з описом у супровідних документах, визначають цілісність упаковки, відповідність написів на ній та ін.

• *Визначення походження, характеру та запаху об'єкта.* Встановлюють наявність гнилісних змін, специфічного запаху органічних летких речовин, що орієнтують на отруєння певними токсикантами: гіркою мигдалю — на отруєння ціанідами, часнику — арсеном, талієм, фосфорорганічними речовинами та ін.

• *Визначення чужорідних включень.* Наприклад, частинки рослин, кристали солей алкалоїдів, таблетки, що не розчинились, та інші включення, виявлені у вмісті шлунка.

• *Визначення забарвлення об'єкта дослідження.* Забарвлення вмісту шлунка орієнтує на отруєння певними токсикантами: жовте — на отруєння хроматами, нітратною або пікриновою кислотами; синє — солями купруму та ін. Темно-зелене або оливкове забарвлення сечі орієнтує на отруєння фенолом та ін.

### **Попередні випробування об'єктів дослідження**

Метою попередніх випробувань є скорочення часу досліджень, особливо при ненаправленому ХТА, звуження кола токсикантів, на які необхідно проводити аналіз, та визначення напрямленості виконання ХТА.

Одержання *позитивного* результату попередніх досліджень вказує на присутність в об'єкті токсичної речовини або групи речовин, які дають такі самі реакції, як і попередні, та визначає необхідність подальших досліджень на дану речовину або групу речовин із застосуванням підтверджувальних методів аналізу.

Одержання *негативного* результату попередніх досліджень вказує на відсутність певної речовини або групи речовин в об'єкті дослідження, виключає такі речовини із плану ХТА, що свідчить про невиявлення певної речовини або групи речовин в об'єкті дослідження.

*Попередні випробування об'єктів дослідження включають:*

• *Визначення рН середовища вмісту шлунка.* При наявності мінеральних або значної кількості органічних кислот універсальний індикатор покаже значення  $\text{pH} \leq 3$ ; при наявності лугів, карбонатних солей, амоній гідроксиду та інших речовин основного характеру —  $\text{pH} \geq 7$ . Забарвлення розчину в присутності фенолфталеїну визначає наявність в об'єкті дослідження гідроксильних груп. Відсутність забарвлення розчину в присутності фенолфталеїну та утворення осаду з барій хлоридом визначає наявність  $\text{CO}_3^{2-}$ . Ендогенна природа  $\text{NH}_3$  (речовина утворилась при гнилісних змінах біологічного матеріалу) визначається при забарвленні лакмусової, «мідної» (обробленої лужним розчином купрум(II)

сульфату) та «свинцевої» (обробленої розчином п्लумбум ацетату) паперових смужок.

• Попередні дослідження на деякі токсиканти, що проводяться безпосередньо з сечею:

– випробування на метанол та етанол за реакцією окиснення спиртів калій дихроматом ( $K_2Cr_2O_7$ ) та кислотою сульфатною ( $H_2SO_4$ ) до відповідних альдегідів та відновлення Cr(VI) до Cr(III) (зелене забарвлення);

– випробування на алкілгалогеніди за реакцією Фуджівара: хлороформ з піридином утворює сіль піридинію, похідне глутаконового альдегіду та глутаконовий альдегід. Утворення глутаконового альдегіду визначається червоним забарвленням.

– випробування на ацетон за реакцією з натрій нітропрусидом (червоне забарвлення);

– випробування на похідні фенотіазину за реакцією з реактивом ФПН (суміш  $FeCl_3$ ,  $HNO_3$  та  $HClO_4$ ): аміназин та діпразин (рожеве), тізерцин (фіолетове); сонапакс (зелене → сине забарвлення);

– випробування на похідні піразолону за реакцією з ферум(III) хлоридом ( $FeCl_3$ ): анальгін та амідопірин утворюють червоно-коричневе забарвлення;

– випробування на хінін за реакцією з розчином  $H_2SO_4$  (блакитна флюоресценція в УФ-світлі);

– випробування на кислоту саліцилову за реакцією з ферум(III) хлоридом ( $FeCl_3$ ) (синьо-фіолетове забарвлення) та реакцією з ферум(III) нітратом ( $Fe(NO_3)_3$ ) і кислотою нітратною ( $HNO_3$ ) (пурпурове забарвлення).

### **Доаналітична підготовка зразка, або пробопідготовка**

У судово-токсикологічних дослідженнях стадія пробопідготовки є найважливішою, а в окремих випадках і визначальною.

Головною метою пробопідготовки є переведення зразка в зручну для подальшого аналізу форму, що полягає у відділенні токсиканта від біологічної матриці та основної маси екзогенних речовин. Оскільки кожний біологічний об'єкт має свої морфологічні особливості, а всі групи токсикантів за хімічною приналежністю мають свої фізико-хімічні властивості, не існує універсального методу, який дозволяє виділити (ізолювати) з біологічного об'єкта будь-який токсикант.

У дослідженнях на «невідому отруту» традиційним є використання окремих аліквот біологічних проб та певного способу

ізолювання, направлено на виділення конкретної групи токсикантів, що мають схожі фізико-хімічні властивості. Наприклад, для ізолювання летких речовин з біологічного матеріалу застосовують дистиляцію з водяною парою або мікродифузію, для ізолювання сполук металів — мінералізацію, для лікарських речовин та пестицидів — рідинно-рідинну екстракцію і т. ін. Для ізолювання токсикантів з сечі та крові застосовують інші способи пробопідготовки.

*Етапи пробопідготовки:*

- попередня обробка зразка: фільтрація, центрифугування, ультразвукова обробка, розведення, подрібнення, депротейнізація (цільної крові, плазми), ферментативна обробка (тканини), гомогенізація (тканини);
- гідроліз кон'югованих метаболітів;
- ізолювання токсикантів та їх метаболітів з біологічних об'єктів;
- очищення вилучень, одержаних з біологічних об'єктів;
- дериватизація.

Виходячи з конкретного аналітичного завдання та природи токсиканта, деякі етапи пробопідготовки є не обов'язковими для виконання і можуть бути опущеними.

*Фільтрацію та центрифугування* застосовують для одержання плазми або сироватки; видалення твердих частинок, присутніх у пробі; відділення вилучень, одержаних з біологічних об'єктів від механічних домішок або продуктів осадження білкового походження після депротейнізації.

*Ультразвукова обробка* підвищує вихід токсикантів у цільній крові шляхом руйнування конгломератів коагульованих клітин після депротейнізації проби та ступінь екстракції токсикантів при одержанні вилучень з біологічного матеріалу шляхом руйнування його клітин.

*Розведення* застосовується обов'язково, якщо концентрація аналізованої речовини (токсиканта) вища за межі лінійності методу або очікувана концентрація аналізованої речовини значно вища за межі її виявлення.

*Подрібнення* застосовується для підвищення виходу токсикантів з біологічного матеріалу шляхом гомогенізації (різучими або зручними подрібнювальними засобами), хімічним (лужний гідроліз волосся) та ферментативним способом (трипсином).

*Гідроліз кон'югованих метаболітів* застосовується для одержання вільних метаболітів шляхом кислотного та ферментативного (сумішшю  $\beta$ -сульфатази та  $\beta$ -глюкуронідази)

гідролізу. Кон'юговані метаболіти (глюкуроніди та ін.) є гідрофільними сполуками, що ускладнює їх виділення з біологічних об'єктів методом екстракції органічними (неполярними) розчинниками.

*Ізолювання токсикантів та їх метаболітів* — вибір того чи іншого методу ізолювання токсикантів з біологічного матеріалу ґрунтується на їх фізико-хімічних властивостях, що дозволяє розподілити токсиканти на групи:

- лікарські та наркотичні речовини ізолюють з біологічного матеріалу полярними (підкисленим спиртом або підкисленою водою) та амфіфільними (ацетон, ацетонітрил) розчинниками з подальшою екстракцією токсикантів та їх метаболітів з первинних водних вилучень органічними розчинниками (методом рідинно-рідинної екстракції);

- пестициди безпосередньо ізолюють з біологічного матеріалу екстракцією органічними розчинниками;

- леткі речовини ізолюють з біологічного матеріалу методом дистиляції з водяною парою або мікродифузії;

- сполуки металів ізолюють з біологічного матеріалу методом мінералізації;

- мінеральні кислоти, їдкі луги, нітрати та нітрити ізолюють з біологічного матеріалу водою з наступним діалізом.

Залежно від спрямованості ХТА розрізняють *загальні* методи ізолювання, які застосовуються при ненаправленому аналізі, та *окремі (спеціальні)* методи ізолювання, що, відповідно, застосовуються при направленому аналізі.

Прикладом *загальних* методів ізолювання токсикантів з біологічного матеріалу є методи Стаса—Отто та А.О. Васильєвої, що застосовуються для ізолювання лікарських та наркотичних речовин, а також метод мінералізації сумішшю концентрованих кислот сульфатної та нітратної або сумішшю концентрованих кислот сульфатної, нітратної та хлорної — для ізолювання сполук металів.

Прикладом *окремих (спеціальних)* методів ізолювання токсикантів з біологічного матеріалу є метод В.П. Крамаренка, що використовується для ізолювання алкалоїдів, метод П. Валова та В.І. Попової — для ізолювання лікарських засобів похідних кислоти барбітурової, метод Б.М. Ізова — для ізолювання лікарських засобів похідних 1,4-бензодіазепіну, метод Є.М. Саломатіна — для ізолювання лікарських засобів похідних фенотіазину, а також деструктивний метод — для ізолювання сполук меркурію.

*Очищення вилучень, одержаних з біологічних об'єктів:* для очищення вилучень від білкових молекул застосовують декілька методів депротейнізації: осадження білків методом висолювання (насичення водного вилучення розчинами електролітів, наприклад, амоній сульфатом, натрій вольфраматом та ін.), дією на вилучення кислотами (коагуляція), спиртом або при нагріванні вилучення (денатурація); для очищення вилучень від ліпідів застосовують виморожування та для очищення від баластних речовин — метод гель-хроматографії.

*Дериватизація* — реакція одержання похідних токсиканта шляхом перетворення його полярних груп на неполярні без змінення основної структури молекули. Основні способи дериватизації: етерифікація спиртами карбонових кислот, діазометаном — жирних кислот, галогеналканами — солей карбонових кислот; силілування — заміщення рухомого атома гідрогену у функціональних групах ( $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ) силільною групою триметилсиланпохідних ( $\text{BCSA}$ ,  $\text{BSTFA}$ ,  $\text{MSTFA}$  та ін.); ацилювання ангідридами кислот (ацетатним, трифторацетатним, пентафторпропіоновим та ін.) для речовин, що містять полярні групи, наприклад, вільні  $\text{OH}$ - або  $\text{NH}_2$ -групи.

## **Виявлення та ідентифікація токсикантів**

Наступним етапом хіміко-токсикологічних досліджень є виявлення та ідентифікація токсикантів.

У сучасному ХТА цей процес у біологічних об'єктах поділяють на дві стадії: *попередню* (попередній аналіз, скринінг), *підтверджувальну* (підтверджувальний аналіз), де для виявлення та ідентифікації токсикантів застосовують хімічні реакції, інструментальні методи аналізу, біологічні (фармакологічні) проби та інші, які відповідно поділяють на методи попереднього та підтверджувального аналізу.

Метою попереднього аналізу є виявлення або виключення з ХТА групи речовин або будь-якої індивідуальної речовини.

Для виявлення та ідентифікації токсикантів на попередній стадії ХТА застосовують різні варіанти аналітичного скринінгу:

- хроматографічний скринінг із використанням методів тонкошарової хроматографії (ТШХ), газо-рідинної хроматографії (ГРХ) та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ);
- імунохімічний скринінг із використанням імунохроматографічного аналізу (ІХА), імуноферментного аналізу (ІФА), поляризаційного флюороімуноаналізу (ПФІА) та ін.;

- із застосуванням групових осадових та хромогенних (кольорових) реакцій, що у ХТА оцінюються як значущі при одержанні негативного результату.

*Скринінг* (з англ. *screening* — відбір або відсіювання) — це науково обґрунтована система методичних прийомів послідовного виявлення невідомої токсичної речовини, яка спочатку спрямована на виключення з досліджень або на визначення певної групи токсичних речовин, а потім — на виявлення конкретної речовини у певній групі токсичних речовин.

Методи попереднього аналізу та попередні реакції мають бути високочутливими, необов'язково але достатньо специфічними, універсальними, експресними, відтворюваними, доступними та точними (стандартне відхилення до 10 %).

Методи попереднього аналізу так само, як і попередні реакції, набувають судово-токсикологічного значення при одержанні негативного результату. Це означає, що подальший аналіз у випадку невиявлення групи речовин або індивідуальної речовини методами попереднього аналізу або попередніми реакціями є недоцільним. При складанні акта судово-токсикологічних досліджень вказують, що дану речовину або групу речовин у досліджуваному об'єкті не виявлено.

Оскільки головним завданням попередньої стадії аналізу є одержання мінімальної кількості негативних результатів та максимальної кількості позитивних результатів, збільшується можливість одержання хибнопозитивних результатів. Тому навіть при використанні найчутливішого методу результати скринінгу мають бути підтверджені аналітичними методами, що ґрунтуються на інших фізико-хімічних принципах.

Метою підтверджувального аналізу є ідентифікація або встановлення природи токсичної речовини або її метаболіту, а також видалення всіх хибнопозитивних результатів, одержаних на попередній стадії.

Для ідентифікації токсикантів на підтверджувальній стадії ХТА застосовують різноманітні хроматографічні (ТШХ, ГРХ, ВЕРХ) та спектральні (атомно-абсорбційна спектрометрія, УФ-, ІЧ- та ЯМР-спектроскопія, мас-спектрометрія, хромато-мас-спектрометрія) методи, аналітичні реакції різних типів (окисно-відновні, комплексоутворювальні та ін.), кристалографічний та фармакогностичний аналізи, фармакологічні проби та комбіновані інструментальні методи (ГХ-МС, ВЕРХ-УФ, ВЕРХ-ЯМР, ВЕРХ-МС) та ін.

Підтверджувальні методи зазвичай є рівнозначними або перевершують за чутливістю та специфічністю попередні методи, що сприяє зменшенню кількості хибнонегативних результатів.

Для **кількісного визначення** токсикантів та їх метаболітів у вилученнях, одержаних з біологічного матеріалу, та біологічних рідинах застосовують певні аналітичні методи, можливості яких відповідають поставленим завданням. Серед них хімічні (титриметричні), фізико-хімічні: спектральні (спектрофотометрія, екстракційна спектрофотометрія, атомно-абсорбційна спектрометрія та ін.), хроматографічні (ГХ, ГРХ, ВЕРХ), комбіновані інструментальні (ГХ-МС, ВЕРХ-УФ, ВЕРХ-ЯМР, ВЕРХ-МС) та ін.

Для **інтерпретації результатів аналізу** необхідним є зіставлення обставин справи, результатів розтину, клінічних даних, результатів ХТА, а також інформації про специфічні фізіологічні реакції, обумовлені дією токсиканта (порушення серцевого ритму, частота дихання, розмір зіниць, конвульсії та інші передсмертні симптоми).

Практично у всіх випадках ХТА хімік-токсиколог стикається з одержанням хибнопозитивного та хибнонегативного результатів. Перші пов'язані з недостатньою селективністю методів виявлення, а другі — з недостатньою чутливістю обраних методів аналізу.

**Хибнопозитивний результат** — це висновок про присутність токсиканта у досліджуваному зразку при його фактичній відсутності. Умови одержання: використання високочутливого та недостатньо специфічного методу аналізу, систематична похибка досліджень, недостатня кваліфікація експерта та ін.

**Хибнонегативний результат** — це результат невизначення токсиканта у досліджуваному зразку при його фактичній присутності. Умови одержання: використання недостатньо чутливого методу аналізу, фальсифікація проби, систематична похибка досліджень, недостатня кваліфікація експерта та ін.

## РОЗДІЛ 2

### ТОКСИКОКІНЕТИКА І МЕТАБОЛІЗМ

#### 2.1. ВСМОКТУВАННЯ, РОЗПОДІЛ І ШЛЯХИ ВИВЕДЕННЯ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН З ОРГАНІЗМУ

*Токсикокінетика* (від грец. *toxicon* — отрута та *kinetikos* — той, що приводить до руху) — розділ токсикології, який вивчає зміни властивостей токсичної речовини, що відбуваються в організмі під час її надходження, розподілу, метаболізму та виведення з організму. Токсикокінетика визначає концентрацію токсичної речовини в різних органах, у т.ч. в місці її дії, тобто на рецепторі. Знання токсикокінетики ксенобіотика дає можливість правильно обрати органи та біологічні рідини, які підлягають судово-токсикологічному дослідженню, правильно оцінити його результати і вирішити інші важливі питання, пов'язані зі з'ясуванням причини отруєння.

***Головні шляхи надходження ксенобіотиків до організму*** — через рот, легені, шкіру, слизові оболонки, плаценту.

При надходженні через рот всмоктування ксенобіотиків починається вже в ротовій порожнині (фенол, нікотин, спирт). Проте більшість речовин у молекулярному стані всмоктується у шлунку і кишечнику. У шлунку (рН 1) у молекулярному стані знаходяться речовини кислого характеру (кислота саліцилова, барбітурати), у кишечнику (рН 7–8) всмоктуються речовини основного характеру (алкалоїди, синтетичні нітрогеновмісні сполуки).

Через легені потрапляють леткі речовини (ацетон, хлороформ, чадний газ), сполуки меркурію (всмоктуються крізь мембрани альвеол шляхом дифузії). Через шкіру потрапляють речовини, які добре розчинні у ліпідах (нікотин, пестициди, солі меркурію). Парентеральне введення речовин дає можливість уникнути впливу соків травлення.

***Типи трансмембранного транспорту.*** Речовини всмоктуються і потрапляють до плазми і лімфи крові, циркулюють в організмі і надходять до клітин 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 проникненість для різноманітних сполук.

У наш час основною є гіпотеза трьохшарової мембрани Досона—Даніеллі. Два білкових шари, з яких один повернено у бік цитоплазми, а інший — назовні клітини, складають шар подвійного ліпиду. Ззовні ліпідних шарів із «плаваючими» у них білками знаходиться карбогідратна «шуба», що складається з різних олігосахаридів, полімерів, які включають десятки типів моносахаридів, у тому числі глюкозу. Одна з важливих функцій цієї «шуби» полягає в тому, що вона спроможна «відрізнати» клітини власного організму від чужих.

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 через мембрани досить складний, тому що на нього впливають не тільки функціональні особливості самих мембран, але і певні функції протоплазми і клітинних білків. З метою спрощення пояснення цього механізму виділяють чотири основних типи транспортування речовин.

*I тип трансмембранного транспорту* характерний для нейтральних молекул. При цьому швидше усього дифундують молекули речовин, які мають високий коефіцієнт розподілу олія/вода, тобто ліпофільні властивості. Розчинні в ліпідах речовини (наприклад, наркотичні засоби) можуть вільно з мінімумом витрати енергії проходити через клітинні мембрани *за законами дифузії*.

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

*II тип трансмембранного транспорту* пов'язаний зі структурами, що забезпечують речовинам більш інтенсивну дифузю. 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.

*III тип трансмембранного транспорту* пов'язаний зі споживанням енергії, що утворюється в результаті метаболізму аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) у самій мембрані. Припускають, що при цьому так званому *активному транспорті* молекула речовини з'єднується з носієм, який зазнає певних хімічних перетворень. Прикладами можуть служити процеси транспорту іонів калію в клітинах ссавців, всмоктування і виведення речовин в іонізованій формі нирковими каналцями та ін. Носіями зазвичай служать ферменти, наприклад, калій- і натрійзалежна аденозинтрифосфатаза, що забезпечує активний транспорт цих іонів. В останні роки виявлена ціла група чужорідних речовин, названих іонофорами, які спроможні змінювати бар'єрну функцію мембран і переносити через них тисячу іонів за секунду. Іонофори виробляються деякими мікроорганізмами (наприклад, антибіотиком валіноміцином), вони використовують їх у боротьбі за існування з іншими формами життя. На сьогодні відкрито шлях до спрямованого хімічного синтезу нових, що не зустрічаються в природі, речовин цього виду, які володіють надзвичайною вибірковістю до переносу певних іонів.

*IV тип транспорту* стосується дифузії через пори, у стінках яких є позитивно заряджені частинки, що пропускають тільки аніони. Проте існують канали, що пропускають неелектроліти. Про максимальну величину цих каналів можна судити за розмірами найбільш великої молекули, яку вони здатні пропускати. Мембрани ниркових клубочків людини в нормі спроможні пропускати всі молекули, менші, ніж молекули альбуміну (мол. маса 70000).

Таким чином, у мембранах цього типу транспорт речовин здійснюється за принципом *фільтрації*. Деякі природні токсини, наприклад, тетродотоксин, батрахотоксин, що знаходяться в яечниках риб сімейства голкочеревних, своєю молекулою впливають на прохідність каналів. Перший з них спроможний цілком, як пробкою, «закупорити» іонний канал для натрію, інший — пошкодити механізм закриття «воріт» цих каналів, і вони втрачають спроможність вибірково пропускати іони. Молекули деяких іонофорів, зокрема антибіотика граміцидину А, рухаючись у мембрані, часом «прошивають» її наскрізь і створюють певну подобу штучного насоса, спроможного пропускати іони.

Ці дані мають велике значення для пояснення механізму дії багатьох речовин, які вибірково впливають на провідність нервового імпульсу в синапсах.

**Розподіл токсичної речовини** в органах і тканинах залежить від інтенсивності кровообігу в них, ступеня зв'язування токсиканта з білками плазми та білками тканин, розчинності в жирах і воді, складу і функцій органів і тканин. Так, пестициди, які добре розчинні в жирах, легко потрапляють у мозок, сальник, де спостерігається найбільший вміст жирів.

Важкі метали (меркурій, бісмут, арсен та ін.) зв'язуються з функціональними групами білків. Має значення характер отруєння — якщо воно хронічне, то меркурій знаходиться в мозку, арсен — у волоссі. Якщо аналіз здійснюють через 1–2 год після надходження токсичної речовини, то меркурій і арсен виявляються в печінці і нирках.

Головні шляхи виведення (екскреції) речовин і їх метаболітів — нирки, легені, слина, кишечник. Так, етанол виводиться з сечею, слиною, з повітрям легеньми.

Через нирки виводяться речовини, які розчинні у воді, стосовно лікарських речовин — це іонізована форма молекули. Якщо рН сечі слабкокисло, то це сприяє виведенню органічних основ (алкалоїдів), якщо слаболужна — легше виводяться речовини кислого характеру (барбітурати).

Через кишечник виводяться речовини, які з жовчю виділяються з печінки, наприклад морфін, фенотіазини. Через легені виділяються леткі речовини (етер, ацетон, бензен). Через шкіру, тобто через потові залози, виводяться леткі речовини і солі важких металів.

## **2.2. БІОТРАНСФОРМАЦІЯ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН В ОРГАНІЗМІ**

**Біотрансформація** (від грец. *bios* — життя та лат. *transformatio* — перетворення) — серія хімічних перетворень речовин, які відбуваються в організмі під дією ферментів. Біотрансформація (метаболізм) є етапом елімінації токсиканта з організму. Елімінація включає метаболізм і екскрецію (виведення) ксенобіотика. Таким чином, метаболізм можна розглядати як природний шлях детоксикації організму.

Перетворення чужорідних хімічних речовин відбувається під дією ферментів організму. Речовини, що утворюються при

цьому, — *метаболіти* — характеризуються зміненим хімічним складом і властивостями.

У результаті метаболізму речовини зазвичай стають більш полярними, тобто мають більшу спорідненість до води (гідрофільність). Таким чином, метаболіти краще розчинні у водному середовищі і швидше виводяться з організму із сечею. Існує загальна закономірність: чим речовина більш ліпофільна, тим більший термін її дії, і тим складніше вона метаболізує і виводиться з організму. В основному метаболіти є менш токсичними, ніж нативні речовини, тому метаболізм вважається одним із шляхів детоксикації організму.

Вивчення метаболізму лікарських речовин є актуальним на сьогодні для різних спеціалістів. *Лікарі* бачать у метаболізмі не тільки чинник детоксикації організму, але і фактор, який впливає на терапевтичний рівень вмісту ліків, а також тривалість його дії в організмі і тканинах.

*Судово-медичні токсикологи* вивчають метаболізм речовин з низки причин, а саме, деякі лікарські речовини, у т.ч. наркотичні, метаболізують дуже швидко і можуть бути виявлені тільки у вигляді метаболітів; за фізичними і хімічними властивостями метаболіти можуть суттєво відрізнятися від нативних сполук. Це необхідно враховувати при розробці методів виділення токсикантів з біологічного матеріалу, інакше метаболіти можуть бути втрачені.

Проте вивчення метаболізму токсикантів, зокрема лікарських речовин, має певні складнощі. Метаболіти знаходяться в біологічному матеріалі в дуже малих кількостях, що ускладнює їх виділення та ідентифікацію. Для ідентифікації токсиканта за продуктами метаболізму необхідні стандарти, тобто чисті вихідні речовини, які є ідентичні метаболітам; вони можуть бути отримані в результаті досить складного синтезу. Альтернативою є використання тандемних методів з мас-спектрометричним детектуванням (ГХ-МС, ВЕРХ-МС), але такі дослідження обмежені високою вартістю апаратури для дослідження.

Більшість чужорідних речовин *метаболізує у печінці*, де знаходиться цілий набір ферментних систем, які характеризуються великою потужністю і невисокою специфічністю. Ці системи локалізовані у *мітохондріях, лізосомах клітин печінки*. У метаболізмі ксенобіотиків беруть участь близько 30 ферментів. Метаболіти з печінки з жовчю надходять до кишечника і виводяться з його вмістом або надходять у нирки і виводяться із сечею. Метаболізм також частково здійснюється в нирках, кишечнику, легенях та ін.

## Класифікація метаболізму ксенобіотиків

Шляхи біотрансформації ксенобіотиків класифікують за різними ознаками.

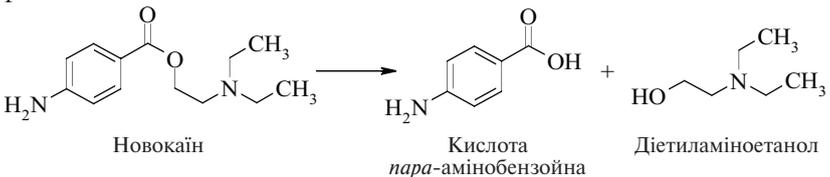
I — за фармакологічними (для лікарських речовин) та токсичними властивостями метаболітів;

II — за спрямованістю і результатами метаболічних процесів;

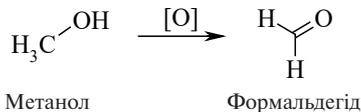
III — за типом хімічних процесів, що лежать в основі метаболізму речовин.

### I. Класифікація за фармакологічними та токсичними властивостями метаболітів

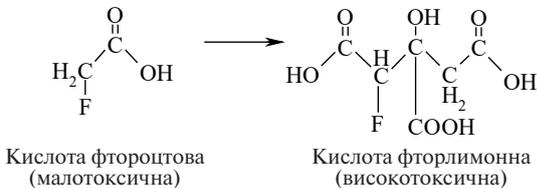
1. Утворення менш токсичних метаболітів, ніж нативні речовини.



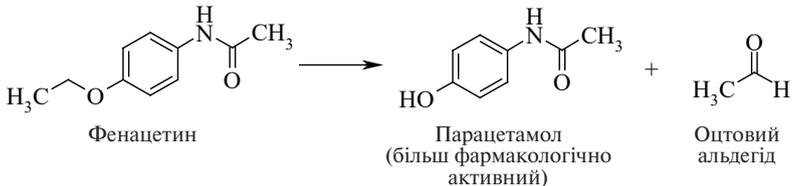
2. Утворення більш токсичних продуктів, ніж вихідні речовини.



3. Летальний синтез.



4. Утворення метаболітів, фармакологічна активність яких відрізняється від активності нативних сполук.



### II. Класифікація за спрямованістю і результатами метаболічних процесів

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

*Катаболізм* — розпад молекул вихідної речовини на окремі частини, тобто це детоксикація організму. Проте ці терміни не завжди є правильними для усіх випадків метаболізму. Так, переобтяження молекул у результаті утворення глюкуронідів веде до детоксикації речовини, а розпад нативної речовини — до утворення активних і токсичних метаболітів.

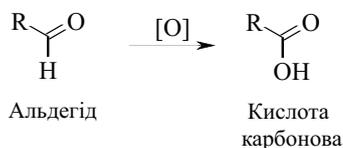
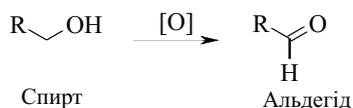
### III. Класифікація за типом хімічних процесів, що лежать в основі метаболізму

Залежно від характеру хімічних перетворень, яких зазнає ксенобіотик в організмі, виділяють 2 фази метаболізму.

**Несинтетичні реакції (реакції I фази).** До них належать окиснення, відновлення, гідроліз. Вони полягають у специфічній зміні молекули ксенобіотика з утворенням нових функціональних груп, які підвищують спорідненість метаболітів до води (тобто їх гідрофільність).

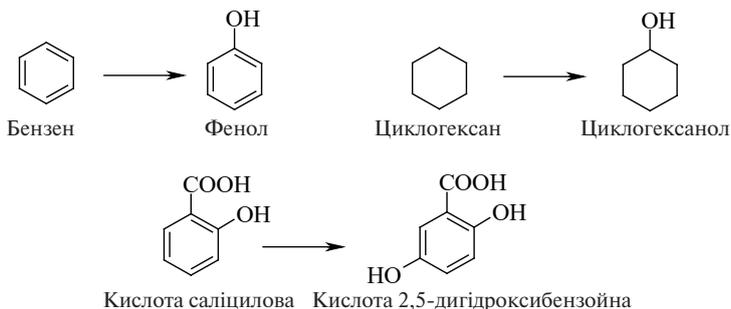
*Окиснення* протікає за певними основними напрямками, з огляду на хімічні властивості нативних речовин.

Окиснення спиртів до альдегідів, альдегідів до карбонових кислот.



Ці процеси протікають у печінці, нирках, легенях. Окиснення спиртів протікає під впливом *алкогольдегідрогеназ*.

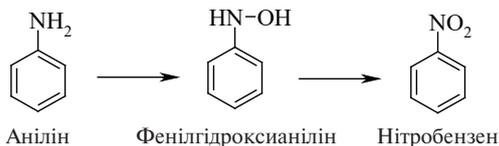
*Гідроксилювання* ароматичних і циклічних сполук за ароматичним кільцем відбувається під дією *оксидаз*.



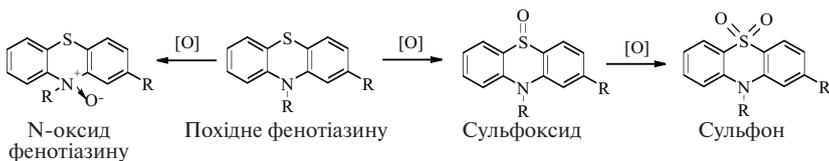
### Гідроксилювання радикалів ароматичних речовин.



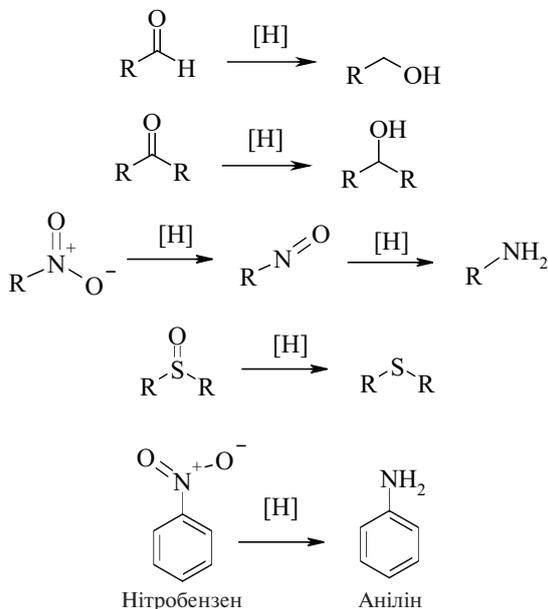
### Гідроксилювання за аміногрупою ароматичних речовин.



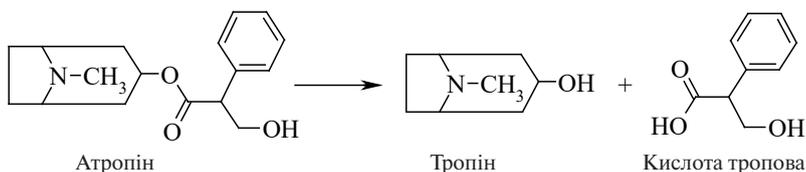
### S-окиснення (або N-окиснення)



Відновлення відбувається під впливом *редуктаз*. Основні напрямки є зворотними до процесів окиснення.



*Гідроліз* — основний шлях метаболізму естерів, амідів, карбаматів, ацилгїдразинів — відбувається під дією *естераз*.

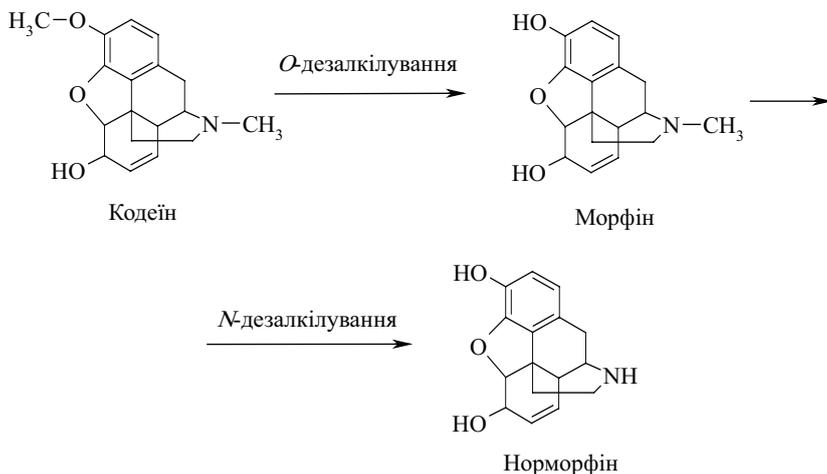


*Дезалкілювання* — відщеплення алкільних груп — може проходити в різних напрямках, проте легше відщеплюються групи, зв'язані з атомами N, S, O.

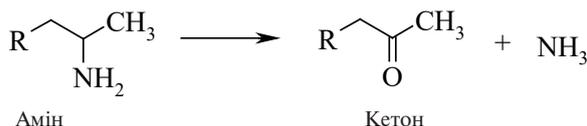
*S-дезалкілювання*



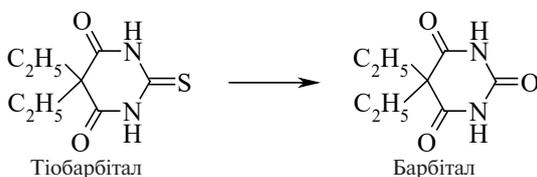
*N-дезалкілювання та O-дезалкілювання*



*Дезамінування* — відщеплення  $NH_2$ -групи.

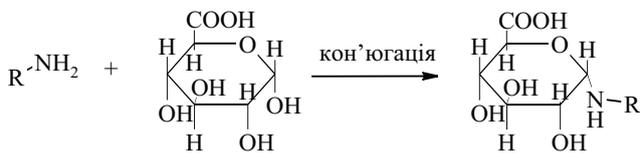
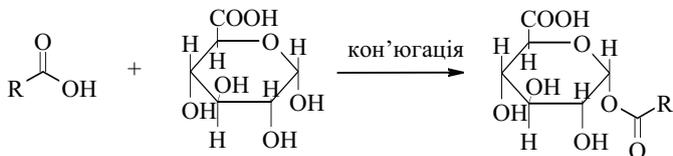
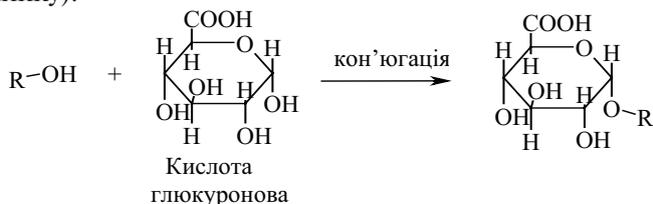


*Десульфування* — відщеплення сульфуру із заміною на атом кисню.

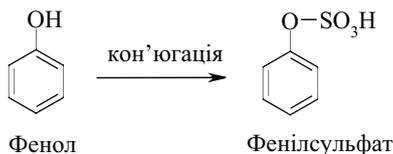


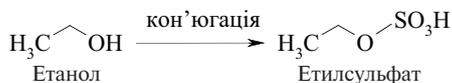
**Синтетичні реакції біотрансформації (реакції II фази метаболізму).** В основі синтетичних реакцій біотрансформації лежить кон'югація з ендogenous речовинами (кислотою глюкуроною, сульфатами, гліцином, глутатіоном, метильними групами і водою). Сполучення ендogenous речовин із лікарськими відбувається через низку функціональних груп: гідроксильну, карбоксильну, амінну, епоксидну. Утворені кон'югати є менш токсичними, більш полярними і добре розчинними у воді, що прискорює їх екскрецію з сечею, ніж метаболіти I фази. Тому саме II фаза метаболізму є фазою детоксикації.

Утворення *глюкуронідів* (відбувається в печінці, нирках, шкірі, кишечнику).

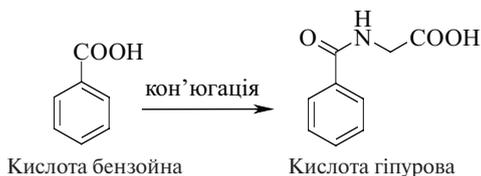


Утворення *сульфатів* (характерне для фенолів, спиртів з утворенням складних естерів).

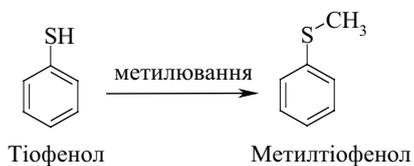
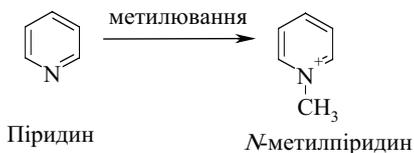




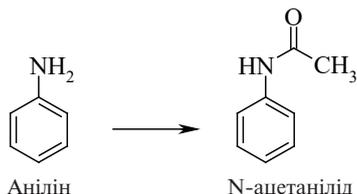
*Кон'югація з амінокислотами:* наприклад, з гліцином утворюються гіпурові кислоти.



*Метилування.* *N*-, *S*-, *O*-метилування є загальною ознакою метаболізму фенолу, тіолів і *N*-гетероциклічних сполук.



*Ацетилювання* — основний шлях метаболізму ароматних амінів, амінокислот.



Друга фаза метаболізму не має чіткої послідовності; нативні речовини можуть відразу, минаючи першу фазу, метаболізувати за другою. Якщо в молекулі нативної речовини є декілька функціональних груп, то одночасно відбуваються процеси метаболізму I і II фаз.

Швидкість метаболізму різних лікарських речовин різна 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. Метаболіти, утворені в результаті процесів окиснення і відновлення, є активними у фармакологічному відношенні. Найбільший інтерес з цього погляду мають метаболіти, які утворюються у процесі дезалкілювання.

**Фактори, що впливають на метаболізм лікарських речовин.** На метаболізм лікарських речовин чинять вплив хімічна взаємодія між лікарськими речовинами; алкоголь, тютюн, пестициди; інгібітори та індуктори ферментів; харчування, вік; наявність патологічних станів.

*Хімічна взаємодія між лікарськими речовинами.* У результаті взаємодії різних лікарських засобів (судинорозширюючих, седативних та ін.) лікар намагається досягти ефективного і швидкого лікування, але при цьому можлива хімічна взаємодія речовин з утворенням нових речовин, які фармакологічно неактивні і малотоксичні. Так, гепарин і його антагоніст протамін дають сполуки, які неактивні, нетоксичні і малодисоційовані.

*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. Загальною властивістю індукторів є спроможність розчинятися у ліпідах.

Інгібітори ферментів — це лікарські речовини, які знижують активність ферментів, тобто збільшують тривалість дії лікарських речовин. До них належать морфін, фенамін, які інгібують оксидази печінки. Аміназин посилює дію антидепресантів, що використовується для лікування хворих з ураженою психікою.

*Харчування, вік.* Харчування та його особливості (склад і стабільність їжі, дієта, голодування) — все це впливає на діяльність кишкових бактерій, що здійснюють руйнування глюкоронідів, які утворилися. Це пов'язано з тим, що вони містять фермент  $\beta$ -глюкуронідазу. Активно діють кишкові бактерії при розкладанні складних естерів, глікозидів, сірчаноокислих естерів. Так, завдяки бактеріям фталазол у товстому кишечнику розпадається до більш активного норсульфазолу.

Дієта істотно впливає на метаболізм ксенобіотиків, викликаючи його зниження. Це обумовлено зменшеним вмістом в їжі білків, що в свою чергу знижує активність ферментів (оксидаз), сповільнює виведення ліків з організму, збільшує тривалість їх дії, а також токсичність.

У людей похилого віку зменшується відносна маса печінки, змінюється форма клітин печінки та її біохімічний склад — все це знижує метаболізм. Зі збільшенням віку змінюється і характер метаболізму. Так, у молодих людей метаболізм ізоніазиду відбувається шляхом ацетилювання, а у похилому віці — шляхом окиснення.

*Наявність патологічних станів.* Алкоголь (крім наркотичної і токсичної дії) може взаємодіяти з ліками в організмі. У мінімальних кількостях етанол синтезується в тканинах організму, є метаболітом. Якщо алкоголь довго у великих кількостях надходить до організму, то печінка зазнає ураження і знижується метаболізм речовин. Алкоголь посилює дію барбітуратів, 1,4-бензодіазепінів, кислоти саліцилової.

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

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

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

## 2.3. МЕТОДИ ДЕТОКСИКАЦІЇ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН В ОРГАНІЗМІ

*Детоксикація* — це процес знешкодження токсичної речовини і прискорення виведення її з організму. Звільнення організму від токсичних речовин відбувається внаслідок посилення певних природних фізіологічних процесів (викликання блювоти, промивання шлунка, очищення кишок, форсований діурез, гіпервентиляція) та з використанням методів штучної детоксикації (гемодіаліз, перитонеальний діаліз, гемосорбція, обмінне переливання крові) або антидотної терапії.

*Викликання блювоти.* Зі шлунка частину токсичної речовини можна вивести з блювотними масами, тому при отруєнні деякими групами речовин використовують звільнення шлунка від вмісту за допомогою рефлекторного блювання.

*Промивання шлунка* широко використовується при отруєнні речовинами різноманітної природи. Для цього за допомогою зонда у шлунок вводять близько 1 л води з додаванням невеличкої кількості калій перманганату і викликають блювоту. 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 внутрішньовенно вводять 1,5–2,0 л ізотонічного розчину натрій хлориду, 5 % розчину глюкози і для стимуляції діурезу вводять діуретичні засоби. Швидкість виведення деяких речовин залежить від значення рН сечі. Цей метод малоефективний у випадках, коли токсична речовина утворює з білками міцні зв'язки, а також у випадку ліпідорозчинних речовин.

*Гіпервентиляція* використовується при отруєнні леткими речовинами, які повною мірою виділяються з організму легеньми з повітрям. Для гіпервентиляції використовують апарат штучного дихання. Гіпервентиляція використовується при отруєнні спиртами, ацетоном, хлороформом і карбон(II) оксидом.

*Гемодіаліз* — метод прискореного виведення токсичних 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, чотирьоххлористим вуглецем, кислотою ацетатною, похідними

фенотіазину, розчинними солями меркурію, арсену, плюмбуму та ін.

*Перитонеальний діаліз* базується на введенні до черевної порожнини спеціального розчину, у який із крові шляхом діалізу переходять токсичні речовини. При цьому як напівпрониклива мембрана використовується діафрагма, яка має велику поверхню (близько 20000 см<sup>2</sup>). Як рідини, які діалізують, використовують суміші розчинів хлоридів калію, натрію, кальцію, магнію, глюкози у відповідних співвідношеннях.

*Гемосорбція* базується на поглинанні токсичних речовин, які знаходяться в крові, різноманітними сорбентами. Як сорбенти використовують переважно активоване вугілля або іонообмінні смоли.

*Обмінне переливання крові.* Цей метод ґрунтується на заміщенні крові хворого кров'ю донора тієї ж групи.

*Антидотна терапія* — ефективний метод детоксикації організму тільки на ранніх стадіях отруєння. Як антидот часто використовують активоване вугілля, а також цілу групу речовин, що хімічно взаємодіють з токсикантами, ведуть до їх інактивації і перетворення на нетоксичні речовини, які виводяться з організму нирками і через ШКТ.

Окрім наведених, існують й інші методи детоксикації організму, використання яких залежить від природи токсичної речовини, що надійшла до організму.

## РОЗДІЛ 3

# ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ СПОЛУК ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

### 3.1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПИ

До сполук важких металів, які мають найбільше токсикологічне значення, належать сполуки барію, плюмбуму, мангану, хрому, цинку, аргентуму, кадмію, купруму, бісмуту, талію, меркурію, а також арсену і стибію. Деякі хімічні елементи, сполуки яких є токсичними, у невеликих кількостях містяться в тканинах організму як нормальна їх складова частина. В організмі людини виявлено більше 80 елементів Періодичної системи елементів Д.І. Менделєєва, з яких елементи-органогени (С, Н, О, N, P, S) складають 97,4 % і є основними компонентами тканин організму. Їх вміст в організмі, як і вміст іонів  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , перевищує  $10^{-2}$  %. Це так звані мікроелементи. Вміст мікроелементів у різних органах і тканинах організму коливається на рівні  $10^{-5}$ – $10^{-2}$  %.

До необхідних (есенціальних, незамінних) мікроелементів належать купрум, цинк, ферум, кобальт, молібден, манган, які називають металами життя або життєво необхідними мікроелементами. Вони присутні в організмі людини в сталих концентраціях (хімічний гомеостаз), зниження їх вмісту призводить до появи характерних симптомів недостатності та порушень функцій організму.

Елементи з невідомою біологічною роллю, але які постійно знаходяться в організмі, називають примісними.

Неорганічні сполуки різних елементів мають широкий спектр біологічної активності, а дефіцит або надлишок життєво необхідних елементів завдають організму шкоди.

Деякі хімічні елементи, сполуки яких є токсичними, у малих кількостях відіграють важливу роль у фізіологічних процесах організму людини і тварин. Так, кобальт входить до складу вітаміну  $\text{B}_{12}$  (ціанокобаламіну), купрум — до складу деяких ферментів

(цитохромоксидази, фенолази та ін.), він є складовою частиною білка — церулоплазміну, бере участь у синтезі гемоглобіну. Манган необхідний для активації деяких ферментів (аргінази, пролідази тощо).

Метали та їх сполуки знайшли широке застосування в промисловості (важка та кольорова металургія): виробництві металевих сплавів, скла, кераміки, лаків, фарб, гум, хімічних реактивів; у сільському господарстві як пестициди (барій хлорид, гранозан, купрум сульфат та ін.), у медицині як лікарські препарати (барій сульфат, калій перманганат, аргентум нітрат, осарсол та ін.), а також як компоненти лікарських засобів та біологічно активних добавок.

Незважаючи на те, що окремі метали містяться в організмі в малих кількостях як нормальна його складова частина, при підвищенні вмісту їх у крові і тканинах вони можуть спричиняти отруєння.

*Причини гострих та хронічних отруєнь сполуками важких металів:*

- неправильне використання мідного, оцинкованого, кадмованого посуду при зберіганні харчових продуктів;
- надходження до організму дрібнодисперсних частинок при обробці металів;
- потрапляння до організму продуктів рослинного походження, оброблених пестицидами, які містять токсичні метали;
- медикаментозні отруєння (неправильне зберігання, передозування);
- постійно зростаюче антропогенне забруднення довкілля.

### **3.2. ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ПОВЕДІНКИ СПОЛУК ВАЖКИХ МЕТАЛІВ В ОРГАНІЗМІ**

Вивчення закономірностей поведінки сполук металів в організмі необхідне для правильного вибору методу ізолювання, для визначення об'єктів дослідження та термінів зберігання в них токсикантів.

*Шляхи надходження металів до організму:*

- 1) шлунково-кишковий тракт;
- 2) органи дихання (характерно для летких сполук: арсину ( $\text{AsH}_3$ ), стибіну ( $\text{SbH}_3$ ) та ін.);
- 3) крізь шкіру (препарати ртуті, талію, кадмію);
- 4) крізь плаценту і слизові оболонки (арсен).

Всмоктування іонів металів відбувається у верхньому відділі тонкого кишечника. Деякі сполуки металів не всмоктуються в травному тракті у зв'язку з їх малою розчинністю, наприклад барій сульфат. Метали можуть бути в крові в іонному вигляді (тоді відбувається активний транспорт) або у вигляді комплексів (можливе неактивне всмоктування).

У процесі метаболічних перетворень метали в організмі піддаються окисненню, відновленню, кон'югації, гідролізу.

Розподіляються метали у шлунку, кишечнику, печінці й нирках. Для більшості металів характерне накопичення у м'яких тканинах, особливо у багатих на сульфгідрильні групи (печінка, нирки); крім того, аргентум накопичується у шкірі, плюмбум, барій, кадмій, арсен — у плоских кістках.

Велике значення має характер отруєнь. Так, арсен, ртуть при гострих отруєннях накопичується у нирках, печінці, при хронічних — у нігтях, волоссі, кістках.

Виділяються з організму метали в основному нирками (з сечею), через шлунково-кишковий тракт (через кишечник), деякі — арсен, ртуть — потовими, слинними і молочними залозами.

*Токсичність металів* обумовлена тим, що в організмі іони металів зв'язуються з амінокислотами, пептидами та білковими речовинами організму, утворюючи при цьому міцні комплекси за рахунок реакціоспроможних функціональних груп ( $-\text{SH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ). Високу здатність зв'язувати метали мають дві амінокислоти: гістидин та цистеїн, які утворюють хелатні комплекси. Рецепторами виступають найбільш реакціоспроможні функціональні групи органічних сполук: сульфгідрильні, гідроксильні, карбоксильні, які відіграють важливу роль у життєдіяльності клітин.

Так, з SH-групами білків і ферментів пов'язана діяльність нервової системи, клітинне дихання, скорочення м'язів, проникненість клітинної оболонки (мітохондрій), де відбуваються важливі обмінні процеси.

Пошкодження або інактивація SH-груп металами призводить до серйозних розладів. Відомо більше 100 ферментів, активність яких може гальмуватися при блокуванні в них SH-груп при отруєнні металами. При цьому утворюються нерозчинні меркаптиди:  $\text{R-SH} + \text{Me}^+ \leftrightarrow \text{R-S-Me} + \text{H}^+$ . Цей процес неспецифічний і є загальним для більшості металів — купруму, аргентуму, ртуті, арсену, стибію та ін.

У результаті зв'язування катіонів металів білками та іншими речовинами порушуються нормальні функції певних клітин і тканин в організмі, що призводить до отруєння, яке в деяких випадках закінчується летально.

Прояв токсичної дії металів має як загальні неспецифічні, так і специфічні ознаки. Для прояву токсичних властивостей іон металу має пройти крізь біологічну мембрану і проникнути всередину клітини.

Дія металів на молекулярному рівні викликає зміни на клітинному рівні, порушення структури і проникненості клітинних мембран. Порушення нормальної життєдіяльності клітин призводить до дисфункції органів, а в окремих випадках — до появи новоутворень.

*Механізм токсичної дії* іонів металів у біологічному середовищі визначається їх хімічною структурою, в якій токсикант має відповідний ступінь окиснення, а також процесами комплексоутворення. Існує тісний зв'язок між токсичністю металу та його фізико-хімічними властивостями. Токсичність зростає з підвищенням атомної маси металу, залежить від здатності до дисоціації їх комплексів з білками, розчинності сполук у воді та ліпідах. Повільна іонізація робить оксиди менш токсичними, ніж солі тих самих металів.

Токсичність металів проявляється при їх взаємодії з клітинними мішенями. *Мішені токсичності* — це молекулярні структури, що беруть участь у специфічних біохімічних перетвореннях, а також мембрани субклітинних структур. Головна мішень токсичності металів — ферменти, взаємодія з якими супроводжується їх інгібуванням, а не активацією. Існують два основні механізми такої взаємодії: хімічна реакція іона металу з тіоловою (сульфгідрильною) групою ферменту і заміщення нативного металевого кофактора ферменту токсичним металом.

Токсичність металів викликає порушення функцій різних органів та систем. Наприклад, іони кадмію та ртуті спричиняють прояв нефротоксичної дії. Нервова система є мішенню токсичності практично для всіх металів. Органи дихання стають мішенню токсичності при вдиханні металевого пилу, що при гострих отруєннях викликає подразнення та запалення дихальних шляхів, а при хронічних — призводить до фіброзу або утворення злоякісних пухлин (наприклад, арсен, хром).

*Фактори, що впливають на токсичність металів:*

- здатність токсиканта конкурентно взаємодіяти з есенціальними елементами;

- здатність до утворення метал-білкових комплексів з різними кінетичними та термодинамічними характеристиками;
- можливість тривалої дії на структуру-мішень;
- наявність різних хімічних форм металу.

### **3.3. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СПЛУК ВАЖКИХ МЕТАЛІВ, ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ, ПРИЧИНИ ОТРУЄНЬ, ТОКСИЧНІСТЬ**

**Хром (Cr)** — М.м. 52,0 г/моль — має високу температуру плавлення, є умовно есенціальним металом. Вміст в організмі людини приблизно 6 мг. Щодня з їжею в організм потрапляє приблизно 0,3 мг хрому.

*Застосування:*

- у промисловості — для отримання високостійких сталей, гальванічних покриттів, у шкіряній і текстильній галузях;
- у хімічній промисловості сполуки хрому використовують як окиснювачі, реактиви;
- для хромування металевих виробів, виготовлення сірників, фарб, кіно- і фотоплівки.

Через високу токсичність сполуки хрому у медицині не використовуються.

*Причини отруєнь:*

- найбільш отруйними є хромати і дихромати, отруєння хромом у людей зазвичай трапляється при вдиханні хроматів;
- вміст хрому в пилу міських доріг складає до 33,8 мг/кг, у повітрі поблизу промислових підприємств — 0,01 мкг/м<sup>3</sup>.

*Токсичність.* Хромати і дихромати чинять подразнюючу і припікаючу дію на шкіру і слизові оболонки. Під їх впливом відбувається гемоліз еритроцитів, а також утворення метгемоглобіну. Симптомами отруєння хромом можуть бути блювання з кров'ю і проноси.

Гострі отруєння сполуками хрому характеризуються накопиченням його в печінці, нирках і ендокринних залозах, виникають риніти, фарингіти, бронхіти. Внаслідок хронічних отруєнь можуть виникати фіброз і рак легенів. Виводяться з організму в основному через нирки з сечею.

**Манган (Mn)** — М.м. 54,9 г/моль, широко розповсюджений у природі у вигляді різноманітних мінералів і руд. В організмі людини міститься біля 12 мг (кістки, печінка, нирки, підшлункова залоза, гіпофіз). Міститься в зелених листових овочах, червоній

смородині. Манган є необхідним елементом для формування нормальної структури кісток, при його нестачі може розвиватися анемія.

*Застосування:*

- у техніці — для виготовлення фарб, як добавка до деяких видів сталі, при виготовленні лінолеуму та деяких лаків;
- оксид мангану (піролюзид) зустрічається в природі як корисна копалина;
- у медицині ( $\text{KMnO}_4$  — калій перманганат) — як дезінфікуючий засіб.

*Причини отруєнь:*

- при надходженні через легені при подрібненні піролюзиду на млинках для руди; крім того, вміст мангану в пилу великих автомагістралей досягає майже 2430 мг/кг;
- у випадках використання калій перманганату при нелегальних перериваннях вагітності.

*Токсичність.* Сполуки мангану належать до сильних протоплазматичних отрут. Вони діють на центральну нервову систему, викликаючи в ній органічні зміни, уражають нирки, легені, органи кровообігу тощо. Використання концентрованих розчинів калій перманганату для полоскання горла може спричинити набряк слизових оболонок ротової порожнини і глотки.

Сполуки мангану накопичуються в печінці. Вони виділяються з організму через травний канал, а також із сечею.

*Аргентум (Ag)* — М.м. 107,9 г/моль — м'який білий метал. В організмі дорослої людини міститься біля 1 мг аргентуму. Він не є необхідним елементом для живого організму.

*Застосування:*

- у народному господарстві застосовується у вигляді сплавів;
- у промисловості, в науково-дослідних приладах, наприклад хемотронах, акумуляторах;
- солі  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  і  $\text{AgBr}$  — у фотографії, а також як бактерициди для стерилізації води і фруктових соків;
- у медицині  $\text{AgNO}_3$  і  $\text{AgBr}$  — як антисептичні, в'язучі засоби, протаргол і коларгол — протизапальні, для виготовлення очних крапель, розчинів для промивання сечового міхура та ін.

Аргентум та його солі не є небезпечними для осіб, зайнятих у промисловості, випадки отруєння дуже рідкі, зазвичай спостерігаються при неправильному терапевтичному застосуванні цих речовин.

*Токсичність.* При надходженні аргентум нітрату до організму через рот він частково всмоктується зі шлунка в кров. Проте

значна частина аргентум нітрату взаємодіє з кислотою хлоридною, яка знаходиться в шлунку, з утворенням аргентум хлориду, що не всмоктується з ШКТ. У людей, які видобувають і переробляють руди, що містять аргентум, може розвиватися хронічне отруєння пилом цих руд. Тривале вживання сполук аргентуму і вдихання рудного пилу або парів цього металу спричиняє аргірію (відкладання аргентуму в тканинах), при цьому шкіра набуває сіро-зеленого або коричневого відтінку.

Сполуки аргентуму виділяються з організму в основному через ШКТ, незначні кількості — з сечею.

$LD_{50}$  аргентум нітрату — 0,76 ммоль/кг при пероральному введенні мишам, для людини — 0,82 ммоль/кг. Смертельна доза аргентум нітрату при прийомі *per os* — 25–30 г.

**Купрум (Cu)** — М.м. 63,5 г/моль — незамінний мікроелемент, необхідний для нормальної життєдіяльності людини. У великих кількостях він присутній у тваринних і рослинних тканинах. В організмі дорослої людини міститься близько 100 мг, 1/3 від цієї кількості — у м'язах. Печінка і мозок також багаті на вміст купруму, він необхідний для функціонування деяких ферментних систем. Дефіцит купруму викликає анемію, патологічний ріст кісток, недостатність росту, дефекти сполучної тканини, серцево-судинну недостатність, смерть. Середня денна доза купруму для людини — 4–5 мг.

*Застосування:*

- у промисловості — для приготування фарб, протрав тощо ( $CuSO_4$ );
- у піротехніці та керамічній промисловості;
- у сільському господарстві — як фунгіцид (паризька (швейнфуртська) зелень —  $Cu(CH_3COO)_2 \cdot 3Cu(AsO_2)_2$ );
- у медицині — як в'язучий і припікаючий засіб (купрум цитрат, купрум сульфат).

*Причини отруєнь:*

- порушення правил безпеки при роботі з пестицидами;
- вдихання порошку металу на металургійних підприємствах;
- ковтання розчинів, що містять купрум;
- вживання кислих напоїв, що зберігаються у мідній тарі.

*Токсичність.* Сполуки купруму чинять нейротоксичну, гематотоксичну, нефротоксичну та місцевоприпікаючу дію. Всмоктування сполук купруму зі шлунка в кров відбувається повільно. Солі купруму, що надійшли до шлунка, викликають блювання і можуть виділятися зі шлунка з блювотними масами. Тому у кров

надходить лише незначна кількість купруму. При надходженні сполук купруму до шлунка можуть порушуватися його функції і з'являтися проноси. Після всмоктування сполук купруму в кров вони діють на капіляри, спричиняють гемоліз еритроцитів, ураження печінки і нирок. При потраплянні концентрованих розчинів солей купруму до очей у вигляді крапель можуть розвиватися кон'юнктивіт і ушкодження рогівки. Іони купруму виводяться з організму в основному через ШКТ і нирки.

$LD_{50}$  — при пероральному введенні щурам складає для  $CuO$  — 8,92,  $CuCl_2$  — 10,4,  $CuSO_4$  — 3,84 ммоль/кг. Гранично допустима концентрація (ГДК) купруму — 1 мг/м<sup>3</sup>. Смертельна доза мідного купоросу — 10 г.

**Цинк (Zn)** — М.м. 65,4 г/моль — життєво необхідний мікроелемент. В організмі дорослої людини міститься 1,4–3,0 г цинку, це один із найбільш розповсюджених необхідних металів в організмі людини. Його вміст в організмі у 10–15 разів вище за вміст купруму і в 100 разів вище за вміст мангану. Міститься в багатьох продуктах харчування, воді, повітрі, багато цинку в морепродуктах, м'ясі, молоці, горіхах, крупах.

*Застосування:*

- у промисловості у вигляді сплавів з іншими металами (бронза, латунь), для покриття заліза з метою захисту його від корозії, а також для виготовлення оцинкованого посуду;
- у медицині — цинку стеарат у вигляді мазі;  $ZnCl_2$  — як місцевий антисептик,  $Zn_3(PO_4)_2$  — як зубний цемент,  $Zn(OH)_2$  — у виробництві кристалічного інсуліну;
- цинку фосфід ( $Zn_3P_2$ ) — для боротьби з гризунами.

*Причини отруєнь:*

- харчові отруєння сполуками цинку, які можуть утворюватися при приготуванні і зберіганні деяких харчових продуктів (варення, фруктові соки) в оцинкованому посуді;
- цинк самостійно не розглядається як промислово небезпечний елемент, але присутність супутніх йому арсену, кадмію, мангану, плюмбуму в повітрі цинкових виробництв викликає «металеву» лихоманку у робітників при вдиханні парів металів;
- при безконтрольному терапевтичному застосуванні препаратів цинку, а також при використанні їх як пестицидів.

*Токсичність.* Цинк викликає ентеротоксичну дію. Потрапляє до організму через рот і дихальні шляхи. В умовах виробництва при добуванні цинкових руд та їх переробці небезпечним є пил, який надходить до організму з повітрям. Проникнення цинку

та його сполук до організму може спричинити нудоту, блювання, болі в м'язах, судоми та інші ознаки отруєння цим металом. При отруєнні сполуками цинку вони накопичуються у печінці, підшлунковій залозі та деяких інших органах.

ГДК цинку оксиду — 0,5 мг/м<sup>3</sup>, цинку хлориду — 0,1 мг/м<sup>3</sup>.  
Смертельна доза ZnCl<sub>2</sub> — 3–5 г; ZnSO<sub>4</sub> — 5–10 мг.

**Меркурій (Hg)** — М.м. 200,6 г/моль — єдиний метал, який при кімнатній температурі являє собою рідину. В організмі дорослої людини міститься близько 13 мг меркурію, причому приблизно 70 % знаходиться в жировій та м'язовій тканинах.

*Застосування:*

- «металічний» меркурій — для виробництва термометрів та інших вимірювальних приладів;
- у сільському господарстві — як пестицид;
- як реактив для хімічного аналізу;
- у медицині Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (каломель), HgCl<sub>2</sub> (сулема), оксиціанід, меркурій амідохлорид і оксид — як протимікробні та протипаразитарні засоби;
- органічні препарати меркурію (меркузал, промеран) — як діуретичні засоби;
- мазь ртутна сіра (містить 30 % металічного меркурію) — зовнішньо при шкірних паразитарних захворюваннях, сифілісі.

*Причини отруєнь:*

- пари меркурію та його сполуки потрапляють до організму при вдиханні з повітрям (основним шляхом надходження меркурію у зовнішнє середовище є природній процес його випаровування з земної кори в кількості 25 000–125 000 т щорічно);
- надходження з їжею (деякі види риб, моллюсків), що пов'язано з циркуляцією диметилмеркурію, який утворюється в процесі життєдіяльності бактерій у донних відкладеннях озер, річок, морів;
- фунгіциди, виготовлені на основі алкільованих сполук меркурію, використовуються для протрави насіння і можуть потрапляти до їжі.

**Токсичність.** Меркурій та його сполуки, що потрапили до організму, зв'язуються з ферментами і фізіологічно важливими білками, які мають сульфгідрильні групи. Меркурій уражає капіляри головного мозку, викликає набряк мозку, порушує функції печінки і нирок, спричиняє виразковий стоматит. Виділяється з організму поступово через нирки і кишечник. У менших кількостях меркурій виводиться з організму зі слиною та потом.

При патологоанатомічному розтині трупів осіб, які загинули внаслідок отруєння ртуттю, спостерігаються почервоніння і набряки (а іноді й некроз) слизових оболонок, стравоходу і шлунка, запалення або некроз тканин товстого кишечника, іноді поява виразок.

Токсична доза  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  — 0,1–0,2 г; смертельна — 0,5 г.

**Арсен (As)** — М.м. 74,9 г/моль — найлегший елемент підгрупи арсену. Зустрічається в природі в елементному стані, а також у вигляді арсенідів, арсеносульфідів важких металів. В організмі дорослої людини міститься 18 мг арсену, його концентрація коливається від 1,6 мкг/кг у тканині нирок до 2,1 мкг/кг у волоссі.

*Застосування:*

- у сільському господарстві — як пестицид (інсектицид, родентицид, фунгіцид);
- у медицині (осарсол, міарсенол);
- бойові отруйні речовини, що містять арсен (люїзит, адамсит);
- у виробництві напівпровідників, скла, барвників ( $\text{AsH}_3$ ).

*Причини отруєнь:*

- передозування лікарськими препаратами;
- вживання отруйної їжі і води (морепродукти, виноградні вина та соки);
- вдихання сполук арсену в умовах виробництва.

*Токсичність.* Арсен підвищує проникненість та викликає параліч капілярів, гемоліз, блокує тіолові ферменти. Це призводить до закупорювання ниркових каналців і виникнення жовтяниці. Деякі сполуки арсену чинять нефротоксичну дію, мають здатність кумулювати в організмі. Водорозчинні сполуки арсену всмоктуються в кров з ШКТ. Вони діють на ферменти, що містять сульфгідрильні групи. Деякі сполуки арсену проявляють некротизуючу дію. Цю властивість ангїдриду кислоти арсенітної використовують у стоматологічній практиці. Симптоми отруєння арсеном і його сполуками розвиваються через 1–2 год після прийому: запах часнику з рота, нудота, блювання, сухість шкіри, тахікардія.

При гострому отруєнні сполуками арсену вони накопичуються переважно в паренхіматозних органах, при хронічних отруєннях — у кістках і зроговілих тканинах (шкірі, нігтях, волоссі тощо).

Арсен виводиться з організму через нирки з сечею, кишки та деякі залози. Його виділення відбувається повільно, чим

і зумовлена можливість його кумуляції. В екскрементах арсен можна виявити через кілька тижнів, у трупному матеріалі — через кілька років після смерті.

**Арсин ( $AsH_3$ )** — найбільш токсична сполука арсену. Його ГДК складає  $0,05 \text{ мкг/м}^3$ ;  $СД_{\text{min}}$  —  $3 \text{ мкг/м}^3$ . Токсична доза ангідриду миш'яковистого (білий арсен) —  $0,01\text{--}0,05 \text{ г}$ ; смертельна доза —  $0,06\text{--}0,2 \text{ г}$ .

**Талій (Tl)** — М.м.  $204 \text{ г/моль}$  — найбільш важкий метал, рідкісний елемент, більшість його сполук добре розчинні у воді. Талій гідроксид є сильним лугом. В організмі дорослої людини міститься до  $100 \text{ мкг}$  талію. Надходження талію до організму людини за добу з продуктами харчування і водою складає близько  $1,6 \text{ мкг}$ ; з повітрям —  $0,05 \text{ мкг}$ .

*Застосування:*

- металічний талій та його сполуки — в електроніці, органічному синтезі, сільському господарстві ( $Tl_2SO_4$  — отрута проти щурів,  $Tl_2CO_3$  — фунгіцид);
- талій ацетат — для виведення волосся на тілі людини;
- талій сульфат — при виготовленні шкіри для взуття;
- талій оксид — для виробництва штучних дорогоцінних каменів і спеціальних сортів скла.

*Причини отруєнь:*

- підвищена концентрація навколо металургійних заводів, електростанцій, які працюють на вугіллі;
- надходження з їжею — приблизно  $1,5 \text{ мкг}$ .

**Токсичність.** При отруєнні сполуками талію зазнає уражень центральна нервова система, може настати параліч парасимпатичної нервової системи, уражаються нирки. Через 2–3 тижні після отруєння спостерігається випадіння волосся (облісіння), розлад функцій системи травлення, блювання, болі в суглобах, явища авітамінозу (згладжування слизової оболонки язика, тріщинки в кутках рота).

Сполуки талію виводяться з організму переважно через нирки і кишечник. Їх виділення з організму відбувається повільно, у зв'язку з чим можлива його кумуляція. Основним механізмом токсичної дії талію можна вважати порушення іонного балансу головних катіонів організму — натрію і калію.

ГДК сульфату талію —  $0,1 \text{ мг/м}^3$ , ГДК талію —  $0,01 \text{ мг/м}^3$ . Смертельна доза талію —  $0,5\text{--}1,5 \text{ г}$ .

**Барій (Ba)** — М.м. 137,8 г/моль — лужноземельний метал. Найбільше токсикологічне значення мають сполуки барію  $Ba(OH)_2$ ,  $BaCl_2$ ,  $Ba(NO_3)_2$ ,  $BaCO_3$ , барій хлорат.

*Застосування:*

- барій гідроксид (баритова вода) — для виробництва скла і при виготовленні керамічних виробів;
- барій хлорид та барій карбонат — у сільському господарстві для боротьби зі шкідниками рослин;
- барій сульфат — для рентгеноскопії шлунка.

*Токсичність.* Барій підвищує проникненість клітинних мембран та капілярів (смерть від серцево-судинної недостатності внаслідок жирового переродження печінки). Потрапляючи до організму, барій розподіляється по всіх органах і тканинах. Розчинні сполуки барію, які надійшли до організму через рот, всмоктуються в шлунку і викликають отруєння. Проникненню в кров розчинних у воді сполук барію перешкоджають сульфати, які знаходяться в шлунку. При цьому утворюється нерозчинний барій сульфат, який не всмоктується зі шлунка в кров.

Сполуки барію виділяються з організму в основному через ШКТ. Сліди цих сполук виводяться нирками і частково відкладаються в кістках.

ГДК барій сульфату — 6 мг/м<sup>3</sup>, барій карбонату — 0,5 мг/м<sup>3</sup>, барій фториду — 0,1 мг/м<sup>3</sup>. Токсична доза дисоціюючих солей барію — 0,2–0,5 г, смертельна — від 0,8 до 4 г.

**Плюмбум (Pb)** — М.м. 207,2 г/моль — амфотерний метал. Середній вміст в організмі дорослої людини приблизно 120 мг. Плюмбум є примісним токсичним елементом. З різних його сполук найбільше токсикологічне значення мають арсенат, хромат, ацетат, карбонат, хлорид, нітрат та ін.

*Застосування:*

- у промисловості — виготовлення фарб;
- у медицині (свинцевий пластир);
- в сільському господарстві — боротьба зі шкідниками садів і виноградників.

*Причини отруєнь:*

- перорально (з їжею та водою до організму людини потрапляє 200–300 мкг/доб);
- при недотриманні техніки безпеки і охорони праці на промислових підприємствах та шахтах можливі отруєння подрібненими частинками сполук плюмбуму з пилом, який вдихається.

*Токсичність.* Основним шляхом проникнення сполук плюмбуму до організму є травний канал. Іони плюмбуму взаємодіють

в організмі з сульфгідрильними та деякими іншими функціональними групами ферментів та життєво важливими білковими сполуками. Сполуки плумбуму спричиняють порушення функцій центральної і периферичної нервової системи. Нервова система — одна з головних мішеней плумбуму, особливо у дітей. Невеликі дози плумбуму при хронічній дії викликають у дітей гіперактивність, розумову відсталість. У дорослих може проявляти репродуктивну токсичність. Близько 90 % іонів плумбуму, які надійшли в кров, зв'язуються з еритроцитами. Основним симптомом хронічного отруєння плумбумом є анемія.

Виділяються сполуки плумбуму з організму переважно через ШКТ. Їх менша кількість виділяється з жовчю, а сліди — з сечею. Частково вони відкладаються в кістковій тканині у вигляді тризаміщеного фосфату і є канцерогенними.

**Бісмут (Bi)** — М.м. 209,0 г/моль. Має слабку біологічну активність. Сполуки бісмуту високотоксичні, але їх низька розчинність обмежує прояв токсичності.

*Застосування:*

- у промисловості (бісмуту оксид, сульфід, сульфат, нітрат та ін.) — для одержання сплавів з низькою температурою плавлення, виготовлення фарб, виробництво кристалу тощо;
- у медицині (основний бісмут нітрат, бісмут саліцилат) — для приготування мазі, косметичних засобів, входить до складу деяких лікарських препаратів, які використовують для лікування сифілісу та інших захворювань;
- у хімічних лабораторіях — як реактив.

*Причини отруєнь:*

Через рот і вдихання пилу, який містить бісмут, він може потрапити до організму і викликати гостре або хронічне отруєння.

*Токсичність.* Іони бісмуту після всмоктування в кров тривалий час затримуються в організмі (у печінці, нирках, селезінці, легенях і тканинах мозку).

Бісмут виводиться з організму через нирки, кишечник, потові залози та ін. Внаслідок накопичення бісмуту в нирках можливе їх ураження. При виділенні бісмуту з організму через потові залози можуть з'явитися свербіж шкіри і дерматоз.

**Кадмій (Cd)** — М.м. 112,4 г/моль, як цинк і меркурій, є м'яким металом з низькою температурою плавлення та кипіння. При високій температурі кадмій стає летким. У природі не зустрічається у вільному стані, його отримують при рафінуванні цинку і купруму. В організмі людини міститься близько 50 мг кадмію при середньому денному вживанні до 215 мкг.

*Застосування:*

- в електротехнічній та атомній промисловості;
- у ветеринарії (антисептичні та антигельмінтні препарати);
- у хімічних лабораторіях — як реактив;
- хлорид, бромід, йодид, нітрат, карбонат, ацетат кадмію — в гальванотехніці, кераміці, сульфід — для розпису на фарфорі.

*Причини отруєнь:*

- через те, що кадмій леткий, його пари, які дуже токсичні, можуть потрапляти до організму з повітрям у робочій зоні підприємств;
- відомі побутові отруєння сполуками кадмію;
- сигаретний дим (в 20 сигаретах міститься 15–18 мкг кадмію);
- застосування в їжу продуктів моря, особливо устриць, мідій.

*Токсичність.* Токсичними є не тільки сполуки кадмію, а й сам метал, який розчиняється в органічних кислотах і легко переходить до їстівних продуктів. Накопичується в овочах (морква, буряк). Всмоктування сполук кадмію відбувається в основному у травному каналі, а пари проникають до організму через дихальні шляхи. Розчинні сполуки кадмію денатурують білки стінок травного каналу. Іони кадмію, які надійшли в кров, з'єднуються зі сульфгідрильними групами ферментів, порушуючи їх функції. Сполуки кадмію накопичуються переважно у нирках і печінці та можуть спричинити її жирове переродження. Кадмій має здатність накопичуватись в організмі. Гостре отруєння при інгаляційному надходженні кадмію супроводжується глибоким ураженням системи органів дихання, токсичною пневмонією та набряком легенів. Постійний симптом отруєння — стійке підвищення ШОЕ.

Сполуки кадмію виділяються з організму в основному через нирки з сечею, а також через ШКТ. Часто при отруєнні сполуками кадмію спостерігається кишкова кровотеча.

ГДК кадмію — 0,1 мг/м<sup>3</sup>. Аерозоль кадмію оксиду в концентрації 2500 мг/м<sup>3</sup> має смертельну дію.

**Стибій (Sb)** — М.м. 121,8 г/моль.

*Застосування:*

- у промисловості — у вигляді сполук та сплавів при виготовленні деяких сортів скла, фарб, гумових виробів тощо;
- у медицині — як хіміотерапевтичні препарати органічні сполуки стибію («блювотний камінь» як відхаркувальний

і блювотний засіб, натрій-антимонілу тартрат); солюсурмін (при лейшманіозі).

*Причини отруєнь:*

- аварії на промислових підприємствах;
- у медицині може виникнути гостре отруєння через надходження до ШКТ при застосуванні терапевтичних засобів;
- стибін може викликати отруєння при вдиханні (дуже токсичний).

*Токсичність.* Токсичність органічних сполук стибію менша, ніж неорганічних. При вдиханні стибіну спостерігаються порушення функцій центральної нервової системи, гемоліз еритроцитів та деякі інші зміни в організмі. При отруєнні органічними сполуками стибію порушуються функції серцевого м'яза і печінки. Сتيبій виділяється з організму в основному через нирки, тому при отруєнні стибієм може розвиватися нефрит.

ГДК стибію — 0,5 мг/м<sup>3</sup>.

### 3.4. СУЧАСНІ МЕТОДИ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ

Вибір біологічних об'єктів для хіміко-токсикологічного аналізу на вміст сполук металів залежить від їх розподілу і депонування в органах і тканинах. При ненаправленому аналізі на всі метали беруть шлунок зі вмістом, тонкий та товстий кишечник зі вмістом, печінку, нирки, сечу, селезінку. При направленому аналізі на вміст деяких металів до вищевказаних об'єктів також додають:

- пряму кишку, волосся (сполуки ртуті);
- плоскі кістки (сполуки свинцю);
- плоскі кістки і волосся (сполуки кадмію);
- волосся, нігті, плоскі кістки (сполуки арсену);
- мозок, легені (тетраетилсвинець).

*Попередні проби на метали*

У хіміко-токсикологічному аналізі як попередню використовують *пробу Рейнша* для виявлення арсену, бісмуту та ртуті у вмісті шлунка і/або речових доказах на місці пригоди. Вміст шлунка або блювотні маси поміщають у невеликий посуд і підкислюють хлоридною кислотою до кислої реакції. У вміст посудини опускають чисту мідну пластинку або дріт, попередньо оброблені розчином кислоти нітратної та промиті водою, і підігривають. Якщо на поверхні металу з'являється сіруватий наліт, це свідчить про наявність ртуті в об'єкті дослідження.

Поміщені у вузьку пробірку пластинка або дріт з нальотом дають при нагріванні сіруватий наліт на склі в холодній частині пробірки. Пластинка або дріт і наліт ртуті в трубці можуть бути залишені як *corpusdelicti* (склад злочину, речовий доказ). Також мідна пластинка, поміщена на слизову шлунка або розрізану печінку, у присутності солей ртуті викривається сірватим нальотом. Арсен на мідній пластинці також дає сірватий наліт. При нагріванні пластинки у вузькій пробірці арсен утворює наліт з мікроскопічними кристалами у формі правильних октаєдрів і тетраєдрів.

Тест не є специфічним, адже стибій, бісмут, селен і телур також утворюють темний або чорний наліт. Подальше диференціювання може проводитися на основі забарвлення нальоту та його характеристик розчинності в розчині калій ціаніду. Незважаючи на недоліки, тест є швидким і простим засобом попереднього виявлення важких токсичних металів.

### ***Підготовка об'єкта до мінералізації***

Для виявлення токсикантів неорганічної природи (важкі метали, арсен, стибій та ін.) використовують мінералізацію біологічного матеріалу, яка лежить в основі пробопідготовки біологічних зразків.

Об'єкти дослідження подрібнюють окремо і піддають аналізу. Рідкі об'єкти, наприклад сечу, вимірюють. Якщо об'єкт консервований спиртом етиловим (застосування формальдегіду або фенолу є недопустимим), його підлужують натрій карбонатом (для розкладання летких хлоридів арсену і ртуті), поміщають у фарфорову чашку і спирт відганяють на водяній бані при температурі не вище 50 °С.

Наважка об'єкта залежить від загальної ваги об'єкта дослідження, обставин справи й інших чинників. Наприклад, якщо відомо, що померлий жив після отруєння порівняно довгий час, протягом якого відбувалося виділення токсиканта, або є дані про його малу дозу, необхідно брати можливо більшу кількість об'єкта. Коли такі вказівки відсутні, у більшості випадків беруть 100 г органів.

При малих кількостях об'єктів виникає необхідність у використанні для мінералізації також залишків після дистиляції з водяною парою, надлишок води видаляють обережним випаровуванням на водяній бані.

Паралельно з проведенням мінералізації досліджуваного об'єкта іноді виникає необхідність у «сліпому» досліді для контролю чистоти реактивів.

Необхідність мінералізації об'єктів дослідження при ізолюванні металів викликана тим, що катіони металів, які потрапили до організму, здатні вступати в сполуки з білками, амінокислотами, пептидами й утворювати з ними досить стійкі комплекси. Метали в таких комплексах знаходяться у зв'язаному стані і не можуть бути виявлені без попередньої мінералізації біологічного матеріалу.

**Мінералізація** являє собою окиснення (спалювання) органічної речовини, яка складає об'єкт дослідження, з метою руйнування комплексів металів з білками, після чого метали переходять до розчину в іонному стані.

Існують методи «сухої» і «мокрої» мінералізації. До методів «мокрої» мінералізації належить рідкофазне окиснення сумішшю кислот (сульфатною та нітратною; сульфатною, нітратною та перхлоратною), до «сухої» — спалення, сплавлення з содою та селітрою.

Методи мінералізації можна розділити на *загальні* і *часткові*. До загальних методів звичайно відносять мінералізацію за допомогою кислот. Методи «сухої» мінералізації застосовуються головним чином як часткові. До них також належить деструктивна мінералізація, що використовується для ізолювання неорганічних сполук ртуті.

Методи «сухої» мінералізації використовують як часткові при дослідженні на деякі метали (аргентум, плюмбум, манган, цинк) у невеликих наважках об'єктів (волосся, шкіра, недоруйновані осади та ін.). Недоліком методів є втрата сполук ртуті.

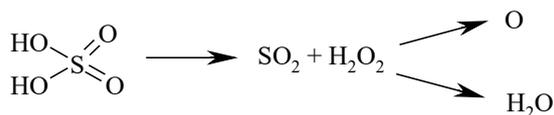
### **Мінералізація сумішшю кислот сульфатної та нітратної**

Найбільш широке застосування на сьогодні отримав *метод мінералізації сумішшю кислот сульфатної та нітратної*. За кордоном також широко використовується метод мінералізації сумішшю кислот сульфатної, нітратної і перхлоратної. Обидва методи характеризуються відносною швидкістю, повнотою руйнування органічних речовин, дозволяють отримати досить малі об'єми мінералізату. Недоліком методів є значні втрати ртуті за рахунок леткості його сполук. Крім того, метод із використанням суміші кислот сульфатної, нітратної і перхлоратної, що є експресним, — вибухонебезпечний.

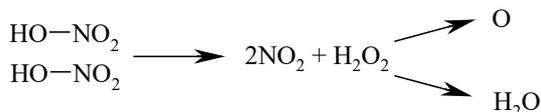
Для проведення мінералізації до колби К'ельдаля місткістю 500–800 мл вносять 100 г подрібненого біологічного матеріалу, додають 75 мл суміші, що складається з однакових об'ємів концентрованих кислот нітратної і сульфатної та води. Над колбою

К'ельдаля закріплюють ділильну лійку з концентрованою кислотою нітратною, розведеною рівним об'ємом води. Колбу зі змістом обережно нагрівають за допомогою газового пальника.

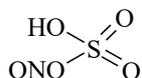
На початку мінералізації концентрована кислота сульфатна відіграє роль водовіднімаючого засобу, порушує структуру клітин і тканин. При підвищенні температури (вище 110 °С) і концентрації (до 60–70 %) кислоти сульфатної, вона поводить себе як сильний окиснювач і розкладається з виділенням оксиду сульфуру(IV):



Кислота нітратна на початку мінералізації виступає слабким окиснювачем. З утворенням оксидів нітрогену й кислоти нітратної, а також із підвищенням температури вона поводить себе як сильний окиснювач:



У процесі мінералізації утворюється певна кількість кислоти нітрозилсульфатної, яка заважає виявленню деяких металів.



При нагріванні ароматичних речовин із сумішшю кислот сульфатної та нітратної проходять небажані побічні процеси нітрування і сульфування, що ускладнює мінералізацію. Попереднє розведення водою кислот сульфатної і нітратної перед мінералізацією значно зменшує ступінь нітрування і сульфування.

Мінералізація проходить у дві стадії.

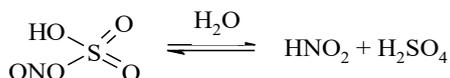
На *першій стадії*, що має назву «*деструкція*», відбувається руйнування структури біологічного матеріалу під впливом кислот-окиснювачів (без повного руйнування органічних речовин), а також руйнування комплексів металів з білками, в результаті чого метали переходять до розчину деструктату у вигляді іонів. У деструктаті також знаходяться продукти розкладу органічних речовин: білкові молекули, пептиди, амінокислоти, ліпіди і деякі інші речовини, що входять до складу тканин організму. Стадія деструкції закінчується за 30–40 хв, проходить при слабкому нагріванні. Деструктат являє собою важку прозору рідину, що має жовтуватий або бурий колір.

На *другій стадії* мінералізації відбувається повне руйнування органічних речовин. Ця стадія більш тривала (тривалість її лімітується руйнуванням жирів), проходить при більш сильному нагріванні (колба К'ельдаля опущена на азбестову сітку) і при додаванні краплями кислоти нітратної.

Мінералізацію вважають закінченою, коли після припинення додавання кислоти нітратної при нагріванні колби буде виділятися біла пара кислоти сульфатної і не спостерігатиметься потемніння мінералізату.

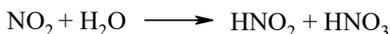
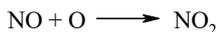
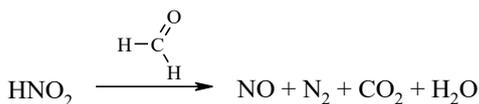
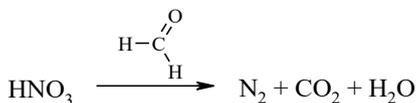
**Денітрація** — процес звільнення мінералізаційних кислот нітратної, нітритної, нітрозилсульфатної і нітроген оксидів. Ці речовини є окиснювачами, які заважають подальшому аналізу на метали.

Розроблено різноманітні методи денітрації. Гідролізний метод (застосовувався раніше), базується на розведенні мінералізацій водою з наступним нагріванням отриманих рідин. При цьому випаровуються кислоти нітратна, нітритна, нітрогену оксиди, а кислота нітрозилсульфатна піддається гідролізу:



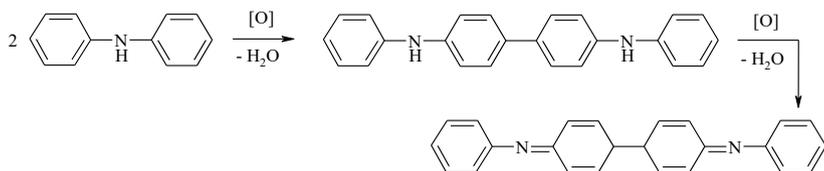
Метод тривалий, потребує 15–17 годин.

Для денітрації мінералізацій були запропоновані відновники (сечовина, натрій сульфід, формальдегід). Кращим реагентом є формальдегід; оскільки руйнування окиснювачів відбувається швидко (1–2 хв), надлишок відновника легко видаляється кип'ятінням протягом декількох хвилин. Хімізм процесів, що відбуваються:



Для руйнування кислоти нітрозилсульфатної попередньо мінералізат розводять водою та нагрівають до 110 °С, а потім додають формалін.

Перевірку повноти денітрації проводять за реакцією з розчином дифеніламіну в кислоті сульфатній. При наявності окиснювачів з'являється синє забарвлення:



Паралельно необхідно проводити «сліпий» дослід, тому що у кислоті сульфатній (у якій розчинюють дифеніламін для досліді) може міститися кислота нітратна.

За зовнішнім виглядом мінералізат у більшості випадків являє собою безбарвну, прозору і досить важку рідину. Іноді мінералізат буває забарвлений у жовтуватий (за рахунок катіонів феруму(III), що входить до складу тканин організму), зеленуватий (при наявності катіонів хрому(III)) або блакитний (за рахунок катіонів купрум(II)) колір. Мінералізат може містити білий (за рахунок плюмбуму, барію або кальцію сульфатів) або брудно-зелений (за рахунок співосадження хрому(III) сульфату) осад.

*Метод мінералізації сумішшю кислот сульфатної та нітратної має низку переваг* перед іншими методами мінералізації, серед яких:

- повнота руйнування органічних речовин;
- порівняно швидке досягнення повноти руйнування органічних речовин;
- порівняно невеликі об'єми отриманого мінералізату.

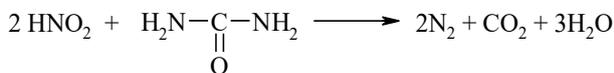
*Недоліком* методу є значні втрати меркурію за рахунок леткості його сполук в умовах високотемпературного окиснення.

### 3.5. ОСОБЛИВОСТІ ДЕСТРУКТИВНОЇ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ПРИ ДОСЛІДЖЕННІ НА МЕРКУРІЙ

*Деструктивна мінералізація* — частковий метод мінералізації, що застосовується при хіміко-токсикологічному дослідженні на вміст неорганічних сполук меркурію. Необхідність використання часткового методу ізолювання зумовлена тим, що в процесі повної мінералізації меркурій втрачається, тому проводять не повне руйнування органічних речовин, а часткове, спрямоване на руйнування зв'язку між меркурієм і білками. Мінералізацію закінчують на стадії деструкції.

Об'єктами дослідження на неорганічні сполуки меркурію є 20 г печінки та 20 г нирок. Ізолювання проводять окремо. Як окиснювачі використовують суміш кислот сульфатної та нітратної (також сульфатної, нітратної і перхлоратної). Деструкцію проводять у присутності спирту етилового, який є каталізатором цього процесу. Нагрівання проводять на водяній бані протягом 10–15 хв. Таким чином після деструкції біологічного матеріалу в деструктаті знаходяться іони меркурію, білки, пептиди, амінокислоти, ліпіди та ін.

Для видалення з деструктату окиснювачів (кислот нітратної і нітратної та нітрогену оксидів) проводять денітрацію. Найбільш ефективним денітратором деструктату є сечовина, яка реагує з залишками окиснювачів за такими рівняннями:



Отриманий деструктат досліджують на наявність меркурію.

### 3.6. АНАЛІЗ МІНЕРАЛІЗАТУ ДРОБНИМ МЕТОДОМ

#### 3.6.1. ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ ДРОБНОГО МЕТОДУ АНАЛІЗУ. СПОСОБИ «МАСКУВАННЯ» ЗАВАЖАЮЧИХ ІОНІВ

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

*Систематичний хід аналізу* (кислотний або сірководневий) ґрунтується на послідовному розділенні катіонів на аналітичні групи, підгрупи і виділенні окремих іонів з підгруп. Систематичний метод є тривалим, небезпечним, він пов'язаний з великими втратами токсикантів, нині практично не використовується при проведенні хіміко-токсикологічних досліджень.

*Дробний метод* базується на використанні реакцій, за допомогою яких у будь-якій послідовності можна виявити іони металів в окремих невеликих порціях досліджуваного розчину. Користуючись цим методом, немає необхідності виділяти досліджувані іони з розчинів. Метод є швидким, чутливим, дозволяє визначити токсичні метали без попереднього розділення їх одне від одного. Засновником дробного методу аналізу є М.А. Тананаєв, велика заслуга у розробці методик цього методу і впровадженні їх у практику хіміко-токсикологічного аналізу належить О.М. Криловій.

В основі дробного методу лежать такі прийоми:

- заміна осадження рідкофазними реакціями комплексоутворення з наступною екстракцією і реекстракцією;
- використання найбільш чутливих і специфічних реакцій (наприклад, на манган — окиснення до перманганат-іонів, на хром — утворення надхромових кислот);
- при недостатній специфічності реакції спочатку проводять попередню пробу, потім — підтверджуючі дослідження;
- «маскування» іонів, які заважають аналізу, при цьому усувають вплив сторонніх іонів, що містяться в організмі, так і введених до організму ззовні.

#### ***Способи «маскування» заважаючих іонів***

• *Комплексоутворення* — для маскування заважаючих іонів використовується такий реактив, який реагує зі сторонніми іонами з утворенням безбарвних стійких комплексних іонів. Ці комплексні іони не здатні реагувати з реактивами на досліджувані іони. Для маскування використовують ціаніди, фториди, фосфати, тіосульфати, тіосечовину, трилон Б, кислоту аскорбінову, гідроксиламін. Наприклад, для виявлення іонів кобальту використовують амоній роданід. При цьому утворюється сполука  $(\text{NH}_4)_2[\text{Co}(\text{SCN})_4]$ , яка має синє забарвлення. Виявленню іонів кобальту з амоній роданідом заважають іони феруму(III), які дають з цим реактивом криваво-червоне забарвлення. Для усунення впливу іонів феруму(III) до суміші, яка містить іони кобальту

і феруму, додають розчини фторидів або фосфатів, що дозволяє перевести іони феруму(III) у безбарвний комплекс  $[\text{FeF}_6]^{3-}$ , який не реагує з амоній роданідом.

- Оперування малими об'ємами або великими розведеннями мінералізату для усунення впливу ендогенних іонів металів; з цією метою мінералізат розводять водою до 180 мл і використовують невеликі його порції для виявлення окремих іонів: для мангану — 1 мл; купрум — 3 мл; бісмуту — 10 мл та ін.

- Варіювання значеннями рН середовища. Так, комплекси з дитизоном плюмбум утворює тільки в лужному середовищі, у кислому середовищі комплекси з дитизоном утворюють меркурій і аргентум, при сильному підкисленні аргентуму дитизонат руйнується, а меркурію дитизонат — ні.

- Застосування реакцій окиснення-відновлення (іони мангану ( $\text{Mn}^{2+}$ ) окиснюються до перманганат-іонів ( $\text{MnO}_4^-$ ), іони хрому ( $\text{Cr}^{3+}$ ) окиснюються до дихромат-іонів ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ )).

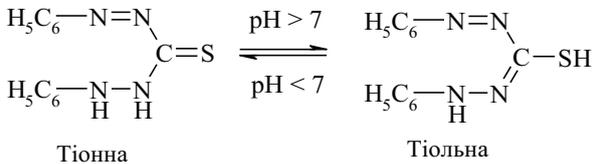
- Використання ряду активності діетилдитіокарбамінатів (ДДТК):



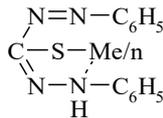
У цьому ряду кожен попередній катіон металу витісняє наступний з його солі з кислотою діетилдитіокарбаміновою (плюмбум із ДДТК витісняється купрумом, купрум — меркурієм).

**Реактиви, які найчастіше використовуються у дробному методі аналізу**

**Дитизон.** Ця сполука може існувати у двох таутомерних формах:



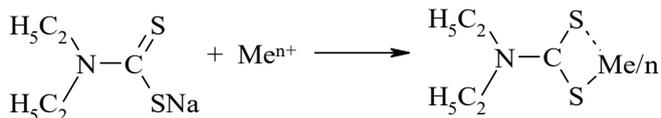
Існують різні точки зору про структуру дитизонатів, найбільш ймовірна форма:



У кислому середовищі утворюються однозаміщені дитизонати, у сильно лужному — відбувається заміщення і другого атома гідрогену.

Дитизонати забарвлені (забарвлення часто залежить від рН середовища), що використовується в якісному і кількісному аналізі металічних сполук. Комплекси з дитизоном розчинюються в органічних розчинниках і руйнуються під дією кислот, що застосовують для виділення окремих катіонів з мінералізату.

*Діетилдитіокарбамати.* Найчастіше як реагент використовують натрій діетилдитіокарбамінат, при взаємодії з яким катіони важких металів утворюють внутрішньокомплексні сполуки:

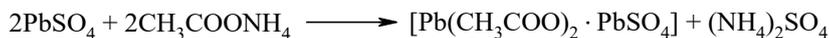


Діетилдитіокарбамати добре розчинюються в органічних розчинниках, багато з них безбарвні (цинку, кадмію діетилдитіокарбамати), деякі забарвлені (купруму, бісмуту діетилдитіокарбамати); руйнуються від додавання мінеральних кислот. Вказані реакції використовують як попередні проби для виділення катіонів з мінералізату, а також у кількісному аналізі металів.

### 3.6.2. СХЕМА АНАЛІЗУ МІНЕРАЛІЗАТУ ЗА О.М. КРИЛОВОЮ

Відокремлення осадів  $\text{PbSO}_4$  і  $\text{BaSO}_4$  від основного об'єму мінералізату — фільтрат I.

*Осад промивають водою, підкисленою кислотою сульфатною* (для видалення співосаджених іонів  $\text{Fe}^{3+}$ ;  $\text{Cu}^{2+}$ ;  $\text{Zn}^{2+}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$  та ін.). Якщо осад має брудно-зелене забарвлення, його промивають амоній персульфатом (для відмивання від  $\text{Cr}^{3+}$ ). Для розділення барій і плумбум сульфатів осад оброблюють гарячим розчином амоній ацетату,  $\text{PbSO}_4$  розчиняється (фільтрат II), а нерозчинний осад  $\text{BaSO}_4$  залишається на фільтрі:



#### *Дослідження осаду барій сульфату*

1. Реакція *перекристалізації барій сульфату з кислоти сульфатної концентрованої*. Частина осаду з фільтру переносять на предметне скло, додають 2 краплі кислоти концентрованої сульфатної і нагрівають на полум'ї пальника до появи білих парів, розчин охолоджують, а потім під мікроскопом спостерігають безбарвні кристали характерної форми. Реакція чутлива, специфічна. При негативному результаті цієї реакції дослідження на барій можна припинити.



реекстракцію 1М розчином кислоти нітратної, реекстракт ділять на 4 частини і проводять підтверджуючі дослідження.

Підтверджуючі реакції менш чутливі, неспецифічні: *реакції утворення осадів PbS; PbSO<sub>4</sub>; PbCrO<sub>4</sub>; PbI<sub>2</sub>*, при цьому відповідно спостерігаються чорний, білий, оранжево-жовтий і жовтий осад.

**Кількісне визначення плюмбуму.** Аналіз проводять *методом атомно-абсорбційної спектроскопії* за характерною для плюмбуму лінією резонансного переходу при довжині хвилі 217 нм. Розрахунок концентрації проводять за градувальним графіком або з використанням методу добавок.

*Екстракційно-фотометричний метод* базується на реакції плюмбуму з дитизоном і екстракції хлороформом плюмбуму дитизонату. Оптичну густину забарвленого у червоний колір хлороформного шару вимірюють за допомогою фотоелектроколориметра при довжині хвилі 520 нм. Межа визначення — 0,02—2 мг і більше в 100 г досліджуваного об'єкта.

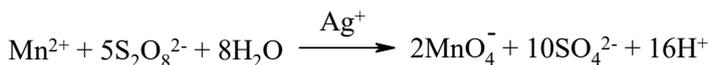
#### **Дослідження фільтрату I**

##### **• Виявлення мангану**

Використовують дві специфічні реакції окиснення Mn<sup>2+</sup> за допомогою *калій перйодату* і *амоній персульфату* до перманганат-іонів, що мають фіолетове забарвлення. Обидві реакції специфічні для виявлення іонів мангану, оскільки катіони інших металів при окисненні цими реагентами не дають фіолетового забарвлення. У реакції з калій перйодатом для маскуванню іонів, що заважають реакції (іони Fe<sup>3+</sup>), використовують натрій дигідрофосфат:



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



Реакція проходить при наявності каталізатора — аргентум нітрату, для маскуванню Fe<sup>3+</sup> використовують дигідрофосфати.

Отримання забарвлення за двома реакціями є доказом виявлення в об'єкті мангану в кількості понад природну норму.

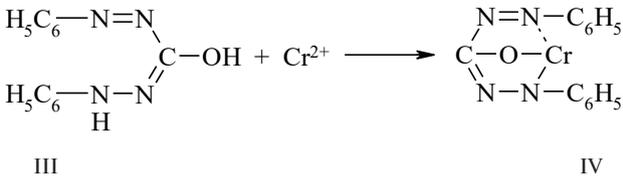
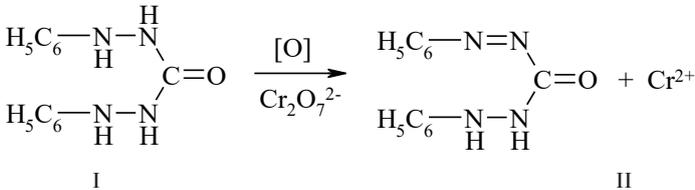
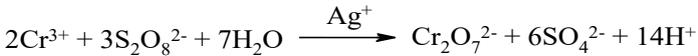
**Кількісне визначення мангану.** Визначення мангану *методом атомно-абсорбційної спектроскопії* проводять за характерною для мангану лінією резонансного переходу при довжині

хвилі 279,5 нм. Розрахунок концентрації проводять за градувальним графіком або з використанням методу добавок. Межа визначення мангану становить 0,1 мкг у 1 мл досліджуваної проби. *Фотокolorиметричний метод* базується на окисненні мангану(II) до мангану(VII) за допомогою реакції з калій перйодатом. Оптичну густину забарвленого розчину вимірюють за допомогою фотоелектрокolorиметра при довжині хвилі 465 нм. Підпорядкованість закону Бугера–Ламберта–Бера спостерігається в межах концентрацій мангану від 0,1 до 30 мкг/мл.

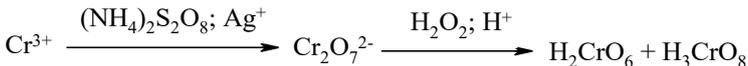
• *Виявлення хрому*

1. Реакція з *дифенілкарбазидом* — реакція попередня, високочутлива, специфічна. Для маскування заважаючих іонів додають фосфати.

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

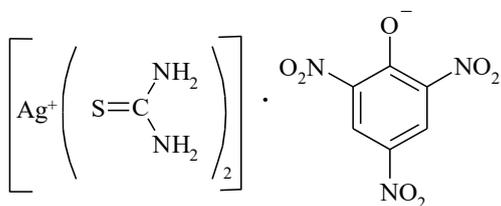


2. Реакція окиснення  $\text{Cr}^{3+}$  до кислот надхромових, які мають синє забарвлення і більш стійкі в органічних розчинниках, ніж у воді:



Ця реакція є чутливою і специфічною для хрому.



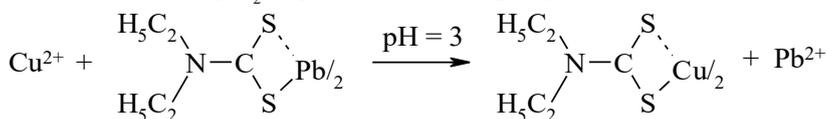


**Кількісне визначення аргентуму.** Визначення аргентуму методом атомно-абсорбційної спектроскопії проводять за характерною для аргентуму лінією резонансного переходу при довжині хвилі 328,1 нм. Розрахунок концентрації проводять за градуювальним графіком або з використанням методу добавок.

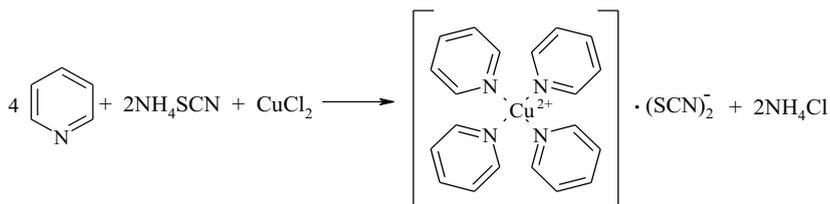
Межа виявлення аргентуму становить 0,1 мкг у 1 мл досліджуваної проби. В основі екстракційно-фотометричного методу кількісного визначення аргентуму лежить реакція іонів аргентуму з дитизоном. Утворений забарвлений аргентуму дитизонат екстрагують чотирьоххлористим вуглецем. Оптичну густину забарвленого розчину вимірюють на фотоелектроколометрі при довжині хвилі 426 нм. Кількісний вміст аргентуму у пробі визначають за калібрувальним графіком. Межа визначення складає 0,02 мг аргентуму в 100 г об'єкта.

• **Виявлення купруму**

1. Реакція з (ДДТК)<sub>2</sub> Pb — реактив специфічний на Cu<sup>2+</sup> (відповідно до правила рядів Тананаєва плумбум із комплексу витісняють, окрім купруму, аргентум і меркурій). Спостерігають жовто-коричневе забарвлення хлороформного шару. При позитивному результаті реакції купрум реекстрагують у водний шар за допомогою HgCl<sub>2</sub> і проводять підтверджуючі дослідження.



2. Реакція з піридин-родановим реактивом:



Спостерігають смарагдово-зелений осад, що розчинюється у хлороформі.

3. Реакція з калій гексаціанофератом(II):



4. Реакція з амоній тетрароданомеркуроатом:

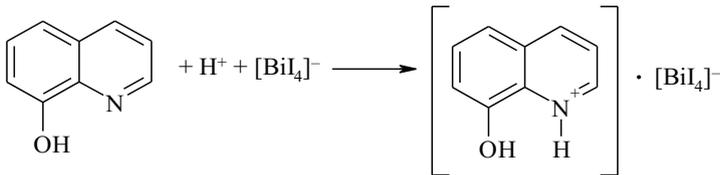


**Кількісне визначення купруму.** Визначення купруму методом атомно-абсорбційної спектроскопії проводять за характерною для купруму лінією резонансного переходу при довжині хвилі 324,7 нм. Розрахунок концентрації проводять за градувальним графіком або з використанням методу добавок.

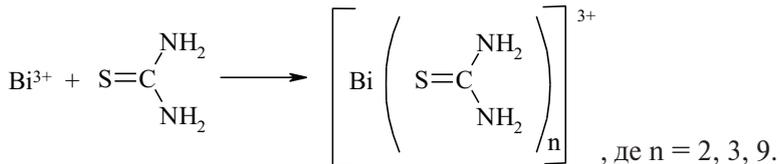
Межа визначення купруму становить 0,15 мкг у 1 мл досліджуваної проби. Екстракційно-фотометричний метод базується на отриманні купрум діетилдитіокарбамату, який екстрагують хлороформом кілька разів до отримання безбарвного екстракту. Шар хлороформу, забарвлений в жовтий або коричневий колір, відокремлюють і об'єднують. Оптичну густину об'єданого екстракту визначають при довжині хвилі 435 нм, використовуючи для визначення кількісного вмісту купруму градувальний графік. Межа визначення складає 0,05 мг купруму у 100 г об'єкта.

• **Виявлення бісмуту**

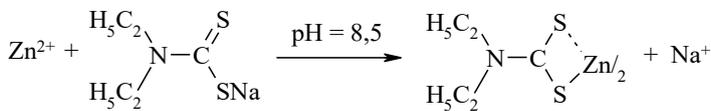
1. Реакція з 8-оксихіноліном. Попередньо іони бісмуту переводять у ацидокомплекс  $[\text{BiI}_4]^-$ , який при взаємодії з оксином (8-оксихіноліном) у кислому середовищі утворює іонний асоціат, при цьому спостерігають утворення оранжево-червоного осаду:



2. Реакція з тіосечовиною. При взаємодії іонів бісмуту з тіосечовиною утворюються різноманітні комплекси, що мають лимонно-жовте забарвлення:

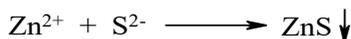






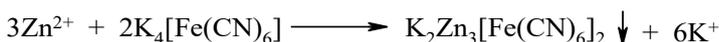
Після реекстракції кислотою хлоридною проводять підтверджуючі дослідження.

2. Реакція утворення *сульфіду цинку*:



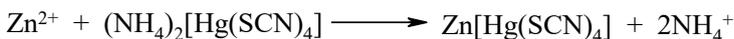
Утворення білого осаду свідчить про наявність іонів цинку в розчині.

3. Реакція з *калій гексаціанофератом(II)*:



При наявності іонів цинку випадає білий осад.

4. Реакція з *амоній тетрароданомеркуроатом*:



При наявності іонів цинку утворюються поодинокі безбарвні клиноподібні кристали або дендрити.

**Кількісне визначення цинку.** Визначення цинку *методом атомно-абсорбційної спектрометрії* проводять за характерною для цинку лінією резонансного переходу при довжині хвилі 213,9 нм. Розрахунок концентрації проводять за градувальним графіком або з використанням методу добавок.

Межа визначення бісмуту становить 0,04 мкг у 1 мл досліджуваної проби. *Комплексонометричне визначення* цинку базується на виділенні цинку з мінералізату у вигляді діетилдитіокарбамату. Після проведення реекстракції кислотою хлоридною до реекстракту додають розчин кислоти лимонної, амоніачний буферний розчин і титрують 0,01М розчином комплексону III у присутності еріохрому чорного ET-00 до переходу червонофіолетового забарвлення в блакитне. Межа визначення складає 1–100 мг цинку в 100 г об'єкта.

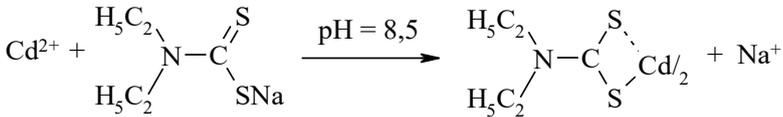
• *Виявлення стибію і талію*

1. Реакція з *малахітовим або брильянтовим зеленим*. Попередньо стибій (знаходиться в мінералізаті у вигляді  $\text{HSbO}_2$ ) і талій (знаходиться в мінералізаті у вигляді  $\text{Tl}^{3+}$ ) переводять в ацидокомплекси  $[\text{SbCl}_6]^-$  і  $[\text{TlCl}_4]^-$ . Останні з барвником утворюють забарвлені у синій або блакитний колір іонні асоціати, які екстрагують толуеном або ксилолом:



• *Виявлення кадмію*

1. Виділяють іони кадмію з мінералізату у вигляді  $(\text{ДДТК})_2\text{Cd}$ , що переходить у хлороформний шар. Потім розкладають його кислотою хлоридною.

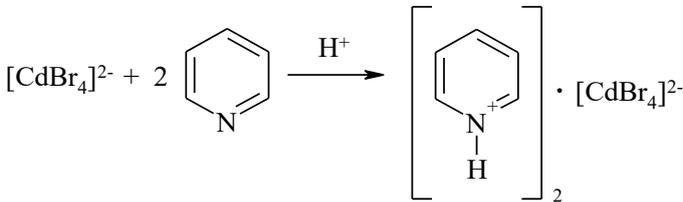


2. У кислотному розчині кадмій виявляють за реакцією з *натрій сульфідом*:



Утворення жовтого осаду свідчить про наявність іонів кадмію у водній фазі. При негативному результаті реакції на кадмій з натрій сульфідом подальше дослідження водної фази на наявність іонів кадмію не проводять.

3. При позитивному результаті додатково проводять реакції одержання кристалічних осадів з *піридином і калій бромідом*. При наявності іонів кадмію в розчині утворюються безбарвні призматичні кристали, зібрані у вигляді сфероїдів.



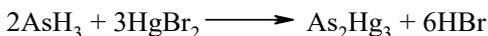
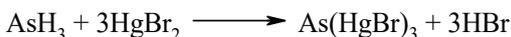
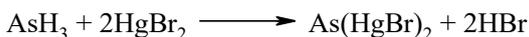
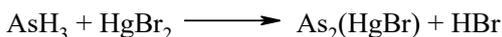
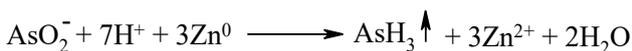
4. У реакції з *бруцином і калій бромідом* також утворюються безбарвні призматичні кристали, зібрані у вигляді сфероїдів при наявності іонів кадмію.

**Кількісне визначення кадмію.** Визначення кадмію *методом атомно-абсорбційної спектроскопії* проводять за характерною для кадмію лінією резонансного переходу при довжині хвилі 228,8 нм. Розрахунок концентрації проводять за градувальним графіком або з використанням методу добавок. Межа визначення кадмію становить 0,03 мкг у 1 мл досліджуваної проби. *Комплексонометричне визначення* базується на виділенні кадмію з мінералізату у вигляді діетилдитіокарбамату. Після проведення

реекстракції кислотою хлоридною до реекстракту додають розчин кислоти лимонної, амоніачний буферний розчин і титрують 0,01М розчином комплексону III у присутності еріохрому чорного ET-00 до переходу червоно-фіолетового забарвлення в блакитне. Межа визначення складає 1–100 мг і більше кадмію в 100 г об'єкта.

• *Виявлення арсену*

1. *Реакція Зангер–Блека*. Реакція базується на відновленні сполук арсену гідрогеном у момент його виділення під час взаємодії металевого цинку з кислотою сульфатною до арсину і виявленні останнього за реакцією з реактивним папером, обробленим меркурій бромідом або хлоридом:



У присутності арсену реактивний папір набуває жовтого або буро-коричневого забарвлення. Реакції Зангер–Блека заважає сірководень, який може утворюватися під час взаємодії водню з кислотою сульфатною. Сірководень, який виділяється під час взаємодії з кислотою сульфатною, реагує на фільтрувальному папері з меркурій(II) хлоридом або бромідом. Внаслідок цього утворюється меркурій сульфід чорного кольору, який маскує забарвлення плям сполук арсену. Для зв'язування сірководню використовують вату, змочену розчином плюмбум ацетату. Реакція високочутлива, але не специфічна (заважає  $\text{PH}_3$ ,  $\text{SbH}_3$ ), тому необхідні підтвердуючі дослідження.

2. *Реакція з розчином аргентум діетилдитіокарбаматом у піридині*. При виконанні цієї реакції сполуки арсену, що є в мінералізаті, відновлюються до арсину, який збирають у пробірку (приймач) зі свіжоприготовленим розчином аргентум діетилдитіокарбаматом у піридині. Розчин аргентум діетилдитіокарбамату в піридині не повинен містити вологи. При наявності арсену в мінералізаті розчин аргентум діетилдитіокарбамату забарвлюється в стійкий червоно-фіолетовий колір. Виявленню арсену за допомогою названої реакції заважають сполуки стибію, які

також взаємодіють з розчином аргентум діетилдитіокарбаматом у піридині і дають оранжево-червоне забарвлення. Хімізм цієї реакції не встановлено.

Наведені реакції є попередніми пробами на арсен. При негативному їх результаті подальші дослідження мінералізату на наявність сполук арсену не проводять, при позитивному результаті додатково виконують реакцію Марша.

3. Виявлення арсену в *апараті Марша*. Виявлення арсену виконують у три етапи:

1) перевірка реактивів («купрований» цинк і кислота сульфатна) на відсутність у них арсену;

2) визначення арсену в мінералізаті;

3) ідентифікація нальоту, що утворився у відновній трубці апарата Марша.

Дослідження в апараті Марша починають з постановки «сліпого» досліду з реактивами. У такий спосіб підтверджують відсутність арсену у кислоті сульфатній, цинку, склі. «Сліпий» дослід проводять за таких самих умов, що і дослід з мінералізатом. При відсутності арсену в реактивах і приладі їх можна використовувати для аналізу мінералізату.

Арсин визначають за такими ознаками:

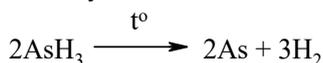
1) характерним «часниковим» запахом;

2) синім забарвленням полум'я при підпалюванні  $\text{AsH}_3$ ;

3) помутнінням розчину  $\text{AgNO}_3$  при пропусканні в нього  $\text{AsH}_3$ ;

4) утворенням кристалів арсен(III) оксиду в формі октаедрів. Це один із найважливіших доказів наявності арсену в мінералізаті. Також арсен виявляють за характерним нальотом на фарфоровій пластинці при внесенні її до полум'я, в якому горить  $\text{AsH}_3$ .

Реакція Марша базується на відновленні сполук арсену воднем у момент його виділення та термічному розкладанні  $\text{AsH}_3$ , що утворюється при цьому:



Наліт, який утворюється при термічному розкладанні арсину, відкладається на стінках відновної трубки апарата Марша за місцем нагрівання у вигляді нальоту («арсенового дзеркала») буровато-сірого кольору з металічним блиском. Далі наліт випробовують додатково. Трубку відокремлюють від приладу, нагрівають наліт при доступі кисню повітря:



#### *Переваги методу:*

- багатократність перевірки мінералізату на арсен;
- наочність використовуваних проб;
- реакція є найпоказовішою з усіх реакцій на арсен;
- дає можливість виявити малі кількості арсену і відрізнити його від стибію.

*Недоліками цього методу є* тривалість та небезпека вибуху при попаданні кисню повітря в апарат Марша.

*Специфічність методу:* виявленню арсену можуть заважати стибій, сульфур, карбон. Проте оксид стибію — аморфний осад, а оксиди карбону і сульфору — леткі. Є й інші методи розпізнавання арсену і стибію, що базуються на використанні мікрокристалоскопічних реакцій.

***Кількісне визначення арсену.*** Визначення арсену *методом атомно-абсорбційної спектроскопії* проводять за характерною для арсену лінією резонансного переходу при довжині хвилі 193,7 нм. Розрахунок концентрації проводять за градувальним графіком або з використанням методу добавок. Межа визначення арсену становить 2 мкг у 1 мл досліджуваної проби. *Фотокolorиметричний метод* базується на реакції взаємодії арсену з розчином аргентум діетилдитіокарбамату в піридині. Оптичну густину забарвленого у червоно-фіолетовий колір розчину вимірюють при довжині хвилі 540 нм. Межа визначення складає 0,01 мг арсену в 100 г об'єкта. *Візуальний колориметричний метод* базується на фіксації арсену на папері, змоченому хлоридом або меркурій(II) бромідом за реакцією Зангер–Блека. Визначення проводять у спеціальному приладі. На фільтрувальному папері з'являється пляма жовтого або коричневого кольору. Забарвлення порівнюють зі стандартною шкалою за тією ж методикою в інтервалі концентрацій 0,1–1,2 мкг арсену. Межа визначення арсену — 0,001–0,01 мг у 20 мл мінералізату.

### **3.6.3. ВИЯВЛЕННЯ МЕРКУРІЮ У ДЕСТРУКТАТІ**

1. Реакція з *дитизином* базується на тому, що при взаємодії іонів меркурію(II) з дитизином утворюється однозаміщений дитизонат цього катіона (реакція попередня, чутлива, неспецифічна). У кислому середовищі меркурій дитизонат має оранжево-жовте забарвлення, а в лужному або слаболужному — пурпурово-червоне. Ці дитизонати добре екстрагуються чотирихлористим карбоном і хлороформом. Для маскування іонів, які заважають визначенню меркурію, використовують гідроксиламіну сульфат, кислоту аскорбінову та деякі інші речовини.

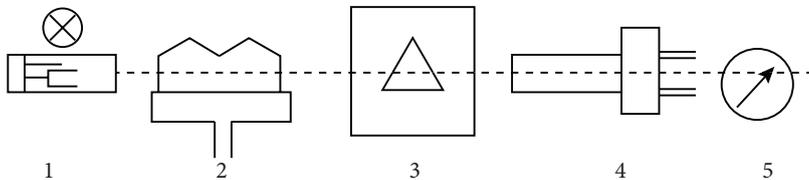


Перед хіміком-експертом постає складне завдання, пов'язане з необхідністю фіксації малого сигналу через низький вміст елемента, що визначається одночасно з сильними фоновими перешкодами, які потрапляють з зовнішнього середовища і від різних компонентів зразка, що аналізується.

Для вирішення такого завдання необхідно застосовувати високочутливі (межа виявлення 1–100 мкг/л) і високоточні методи елементного аналізу, які мають маленьку похибку визначення. Такими методами є атомно-абсорбційна спектроскопія (ААС): полуменева та з електротермічною іонізацією (ЕТААС); атомно-емісійний аналіз (АЕС); плазменна атомно-емісійна спектроскопія (ІЗП-АЕС); мас-спектроскопія з індуктивно-зв'язаною плазмою (ІЗП-МС); рентгено-флюоресцентний аналіз (РФА).

ААС та ІЗП-АЕС — мультиелементні методи аналізу, які дозволяють визначати одночасно декілька елементів. Іноді за допомогою цих методів можливо проводити прямий аналіз досліджуваного об'єкта без попереднього виділення і концентрування елемента, який визначають.

*Атомно-абсорбційна спектроскопія*, запропонована Уолшем у 1955 р., базується на вимірюванні спектрів електромагнітного випромінювання, обумовлених хімічною індивідуальністю компонентів. Збудження атомів проби відбувається під впливом теплової, електромагнітної, хімічної, електричної та інших видів енергії (рис. 3.1).



**Рис. 3.1. Принципова схема атомно-абсорбційного спектрометра:**  
1 — джерело випромінювання; 2 — полум'я; 3 — монохроматор; 4 — фотомножувач; 5 — реєструючий пристрій

В основі методу атомно-абсорбційної спектроскопії лежить реєстрація спектрів поглинання атомів (абсорбції), що знаходяться в газоподібному стані, в полум'ї при дії джерела випромінювання. Через шар атомних парів проби, одержуваних за допомогою атомізатора, пропускають випромінювання в діапазоні 190–850 нм. У результаті поглинання квантів світла атоми переходять у збуджені енергетичні стани.

Цим переходам в атомних спектрах відповідають так звані резонансні лінії, характерні для даного елемента. Відповідно до закону Бугера–Ламберта–Бера мірою концентрації елемента

служить оптична густина  $A = \lg(J_0/J)$ , де  $J_0$  і  $J$  — інтенсивність випромінювання від джерела відповідно до і після проходження через поглинаючий шар.

Переведення аналізованого об'єкта в атомізований стан здійснюється в атомізаторі, здебільшого у полум'ї або трубчастій печі. Часто використовують полум'я сумішей ацетилену з повітрям ( $t \approx 2000$  °С), ацетилену із закисом нітрогену ( $t \approx 2700$  °С), а також ацетилену з киснем або водню з повітрям. Джерелом випромінювання служить лампа з порожнистим катодом, заповнена неонам.

Кількісне визначення елементів ґрунтується на залежності інтенсивності спектральних ліній від вмісту елемента, що вимірюється. Кількісне визначення методом ААС проводять при відповідній довжині хвилі. У генератор атомних парів вводять холостий розчин і налаштовують детектор на максимальне світлопоглинання. Потім у полум'я вводять розчин порівняння елемента, який визначають, з найбільшою концентрацією, і налаштовують детектор так, щоб отримати аналітичний сигнал в оптимальному діапазоні вимірювань, після чого проводять аналіз досліджуваної проби. Розрахунок проводять за градувальним графіком або методом добавок.

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

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

Недоліком методу атомно-абсорбційної спектрометрії є неможливість одночасного визначення декількох елементів при використанні лінійних джерел випромінювання. Перевагою цього методу є менша температурна залежність абсолютної кількості незбуджених частинок у порівнянні з кількістю збуджених частинок. Цим пояснюється більш висока чутливість методу ААС.

*Атомно-емісійний аналіз* використовується для визначення мікроелементів у біосубстратах. Він базується на вимірюванні інтенсивності світла, що випромінюють атоми та іони у газоподібному стані. Проба, що аналізується, проходить крізь плазму і випаровується. Спостерігається збудження атомів і часткова їх іонізація. Відбувається випромінювання квантів світла, які формують аналітичний сигнал. Для кількісного визначення

використовують відношення інтенсивності двох спектральних ліній різних елементів. Метод дозволяє визначати 30–40 елементів у пробі за 4–5 хв.

Для проведення аналізу використовують атомно-емісійний спектрометр, який дозволяє швидко вибрати довжину хвилі, підвищити швидкість аналізу, провести як якісний, так і кількісний аналіз проби. Отримана з детектора інформація оброблюється комп'ютером, що дозволяє здійснити автоматизацію вимірювань, введення проби, зберігання, обробку результатів. Метод ІЗП-АЕС використовується для визначення елементів у волоссі, нігтях, слині, плаценті, грудному молоці.

*Рентгено-флюоресцентний аналіз* базується на визначенні структури рентгенівських спектрів, які відображають енергетичний стан електронів в атомі. В основі якісного і кількісного аналізу лежить залежність між атомним номером елемента та довжиною хвилі ліній рентгенівського спектра.

### **3.8. МЕТОДИ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЗАСОБИ ЛІКУВАННЯ ПРИ ОТРУЄННІ СПОЛУКАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

*Загальні засоби профілактики:*

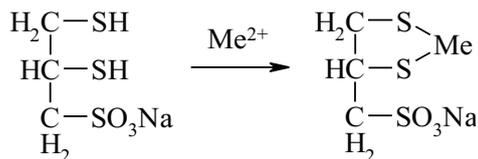
- 1) дотримання основних правил безпеки при роботі з металами, враховуючи їх застосування в металургії та промисловості;
- 2) висока токсичність деяких фармацевтичних препаратів та пестицидів, до складу яких входять метали, що використовуються в хіміко-фармацевтичному виробництві, вимагає дотримання необхідних умов зберігання;
- 3) санітарно-гігієнічний контроль повітря в приміщеннях;
- 4) контроль гранично допустимої концентрації речовин у повітрі, воді.

*Засоби лікування при отруєнні металами.* Для виведення токсичних іонів при отруєнні металами використовують хелатоутворюючі лікарські засоби, які утворюють з іонами металів стійкі комплекси. Ідеальний хелатоутворюючий засіб повинен добре розчинятися у воді, не трансформуватися в організмі, при досягненні депо металів не мати кінетичних ускладнень і утворювати нетоксичні продукти з токсичними металами, які легко виводяться з організму.

Першим синтетичним хелатоутворюючим засобом став британський антилюїзит, який був розроблений під час Другої

світової війни як протиотрута при ураженні токсичними речовинами, що містять арсен. Сьогодні найчастіше використовують тіолові сполуки, наприклад унітіол.

При застосуванні він взаємодіє як з вільними, так і зі зв'язаними з ферментами іонами металів, у результаті чого вивільняються сульфгідрильні групи білків, що були зв'язані з іонами металів. Це пояснюється тим, що зв'язок іонів металів з унітіолом більш стійкий, ніж зв'язок іонів металів з SH-групами білків. Сполуки металів з унітіолом є малотоксичними, водорозчинними і швидко виводяться з організму за сечею.



Унітіол

Іншими хелатоутворюючими засобами, що можуть використовуватися при отруєнні важкими металами, є *сукцимер* (при отруєнні сполуками Pb, Hg та ін.), *пеніциламін*, *атарсин* або *меркаптід* (при отруєнні сполуками Pb, Hg, Cd, Ba та ін.), *тетацін-кальцій*.

При отруєнні сполуками важких металів використовують методи штучної детоксикації залежно від ступеня отруєння, коли необхідно блокувати надходження токсиканта та його розподіл в організмі: промивання шлунка і кишечника, гемодіаліз, гемосорбцію, лімфодіаліз, лімфосорбцію.

## РОЗДІЛ 4

# ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ЛЕТКИХ РЕЧОВИН

### 4.1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПИ ЛЕТКИХ РЕЧОВИН

До групи летких речовин в аналітичній токсикології належить декілька груп хімічних сполук. Речовини різні за хімічною будовою, однак за загальними властивостями всі мають летучість при нагріванні та переганяються з водяною парою незалежно від змішаності з водою. До летких речовин відносять спирти (метиловий, етиловий, ізоаміловий, етиленгліколь), кислоти (синильна, оцтова); галогенопохідні аліфатичного ряду (хлороформ, тетрахлорметан, дихлоретан, хлоралгідрат); альдегіди та кетони (формальдегід, ацетон); естери (оцтово-етиловий, оцтово-аміловий); ароматичні вуглеводні та їх похідні (бензен, толуен, ксилен, анілін); феноли і фенолокислоти (фенол, кислота саліцилова); тетраетилсвинець (ТЕС); сірковуглець; фосфор і речовини, отримані після його окиснювання (кислоти фосфорні) і відновлення (фосфористий водень).

*Токсикологічне значення* групи летких речовин обумовлене як їх широким застосуванням у різних галузях господарства, побуті, медицині, так і великою кількістю отруень цими речовинами. Наприклад, у медицині застосовуються хлороформ, етанол, фенол, діетиловий етер; у сільському господарстві — циклони В і С (для боротьби зі шкідниками); на виробництвах — бензен, ацетон та інші органічні розчинники.

Згідно зі статистичними даними, серед госпіталізованих до спеціалізованих токсикологічних центрів частина хворих з гострими отруєннями етиловим алкоголем та його сурогатами складає близько 50 % (що поступається тільки медикаментозним отруєнням).

*Метод дистиляції з водяною парою* використовують у хіміко-токсикологічному аналізі для виділення летких речовин

із різних об'єктів (внутрішні органи, блювотні маси, продукти харчування). Метод можна використовувати для ізолювання речовин як з низькою, так і з високою температурою кипіння. Дистиляція з водяною парою дозволяє створити більш м'які умови для виділення летких речовин із біологічного матеріалу, тому що деякі речовини можуть осмолятися, розкладатися при високих температурах. В основі методу ізолювання лежить залежність тиску насиченої пари суміші від температури. Рідина починає кипіти і буде переганятися, якщо тиск пари над рідиною буде дорівнювати атмосферному тиску або перевищувати його. Оскільки сума пружності парів дорівнює атмосферному тиску, температура перегонки кожної речовини в суміші буде нижчою за температуру кипіння кожної з двох речовин у чистому вигляді.

Отже, суміш буде переганятися при температурі, нижчій за температуру кипіння індивідуальних речовин. У деяких випадках леткими з водяною парою є речовини, розчинні в тому чи іншому співвідношенні у воді. Наприклад: температура кипіння бензену складає  $80,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , температура кипіння води —  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Суміш рівних об'ємів бензену і води закипає при  $69,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Ізолювання дистиляцією з водяною парою особливо вигідне в тому випадку, коли речовина, що ізолюється, кипить при дуже високій температурі або розкладається при температурі кипіння. Прикладом може служити тетраетилсвинець, який кипить при температурі  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$  з розкладанням. Ступінь розкладання зростає з підвищенням температури до  $500\text{--}600\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Тетраетилсвинець переганяється при порівняно низькій температурі і без розкладання, що використовується при його отриманні в чистому вигляді і для ізолювання з біологічного матеріалу при судово-хімічному дослідженні.

Встановлено, що більш леткими з водяною парою є речовини з більшою молекулярною вагою та більш високою температурою кипіння, ніж нижчі члени гомологічного ряду.

В окремих випадках для поліпшення перегонки з водяною парою деяких речовин вводять третій компонент, який називають «селективним переносником». Суть цього прийому полягає в тому, що третій компонент підвищує загальну пружність парів у системі і таким чином знижує в ній температуру кипіння. Так, при ізолюванні з водяною парою етиленгліколю ( $t_{\text{кип.}} = 197\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) як «селективний переносник» використовують бензен, температура перегонки при цьому знижується до  $118\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## 4.2. МЕТОДИ ІЗОЛЮВАННЯ ЛЕТКИХ РЕЧОВИН ІЗ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

Для ізолювання летких речовин у хіміко-токсикологічному аналізі використовують різні методи:

- перегонку (дистиляцію) з водяною парою при атмосферному тиску;
- перегонку з водяною парою при зниженому тиску;
- перегонку з водяною парою при підвищеному тиску;
- метод мікродифузії;
- сухоповітряну відгонку;
- парофазний метод.

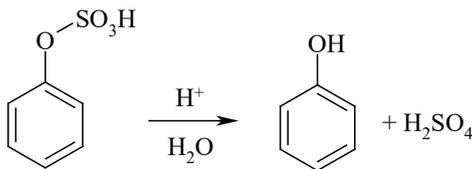
У судово-хімічних лабораторіях ізолювання летких речовин з біологічного матеріалу найчастіше здійснюють *методом перегонки (дистиляції) з водяною парою* за допомогою приладу для перегонки, який складається з пароутворювача, колби з об'єктом дослідження, водяної бані, холодильника, приймача дистиляту. Перегонку при атмосферному тиску проводять за методикою: 100 г біологічного матеріалу подрібнюють, змішують з дистильованою водою (об'єм суміші дорівнює 1/3 об'єму колби) і поміщають у колбу, яку ставлять на холодну водяну баню. Дистиляцію здійснюють за допомогою приладу для перегонки, який складається з пароутворювача, колби для біологічних об'єктів, холодильника та приймача. Потім нагрівають пароутворювач до появи парів води, досліджувану суміш підкислюють насиченим водним розчином оксалатної або тартратної кислоти до рН 2–2,5 і негайно з'єднують всі частини і тільки потім нагрівають водяну баню.

*Вибір рН* обумовлений тим, що рН 2–2,5 забезпечує найбільш повне руйнування зв'язку білків і речовин.

*Вибір кислот* для підкислення біологічних об'єктів обумовлений тим, що мінеральні кислоти можуть розкласти леткі речовини, наприклад кислоту синильну:



або викликати утворення токсичних речовин при дослідженні біологічних об'єктів, наприклад, у результаті гниття білків в організмі утворюється сірчаноокислий етер фенолу:



Слабкі органічні кислоти етер не руйнують, переганяється лише фенол, що надійшов до організму ззовні.

У результаті гідролізу при неправильній прободіготовці можливе знищення одних (кислоти синильної) і поява інших (фенол) токсичних речовин.

Прикладом використання мінеральних кислот для підкислення біологічних об'єктів при ізолюванні летких речовин є дистиляція кислоти оцтової, для чого до біологічного об'єкта додають кислоти сульфатну або фосфатну, оскільки вони змішують рівновагу в розчині в бік утворення молекулярної форми кислоти оцтової, яка повністю переганяється з водяною парою.



Пропускання пари замість утворення її в самій колбі з об'єктом дослідження важливе тому, що при пропусканні пари колбу з об'єктом можна нагрівати (щоб пара не конденсувалася) на водяній бані, тоді як утворення пари в колбі потребувало б нагрівання при температурі, вищій за 100 °С на відкритому вогні або гліцериновій бані і могло б привести до розкладання речовин на стінках колби вище рівня води і до утворення слідів кислоти синильної за рахунок підгоряння білкових речовин.

Дистиляція має проводитися по можливості повільно, що досягається регулюванням полум'я горілки.

*Збір дистилятів* проводять у приймач. Перший дистилят, що містить найбільш леткі речовини, наприклад кислоту синильну, збирають у 2 мл розчину лугу — 2 % розчин NaOH або KOH. Загальний об'єм першого дистиляту — 5 мл. При цьому кислота синильна переходить у сіль, що запобігає втраті кислоти у процесі перегонки.

Потім відганяють другий дистилят об'ємом 25–50 мл. Він містить речовини середнього ступеня летючості (спирти, ацетон, алкілгалогеніди та ін.).

Третій дистилят збирають також об'ємом 25–50 мл. Він містить важколеткі речовини (формальдегід, етиленгліколь та ін.). Якщо отримано позитивний результат при дослідженні на леткі речовини, то дистиляцію проводять до тих пір, доки дистилят не перестане давати якісну реакцію на досліджувану речовину. Зібрані дистиляти піддають якісному і кількісному аналізу.

Деякі речовини основного характеру переганяють з підлужених біологічних об'єктів: анілін, піридин, нікотин, анабазин та ін. У цьому випадку після перегонки речовин із підкислених

біологічних об'єктів його підлжують 5 % розчином NaOH до рН 8–9 і знову переганяють, збираючи 2–4 дистиляти по 10–15 мл у 0,1 М розчин HCl.

Усі леткі речовини діляться за здатністю змішуватися з водою на такі:

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

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 зниженому або підвищеному тиску (азеотропна суміш етанолу з водою — 96 % етилового спирту, 4 % води переганяється при атмосферному тиску 78 °С. За умови зниження тиску до 100 мм рт. ст. ( $\approx 13,3$  кПа) при дистиляції суміш має склад — 99,62 % спирту етилового, 0,4 % води та переганяється при 34 °С).

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

*Метод перегонки при зниженому тиску* проводиться за допомогою ротаційних випаровувачів і використовується частіше при направленому дослідженні термічно нестійких речовин.

*Метод перегонки при підвищеному тиску* використовується при ізолюванні термічно стійких речовин, 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 із поглинальним розчином. Відбувається випаровування речовини в присутності висолювача або без нього — при кімнатній температурі чи нагріванні (37–50 °С) 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 речовин, що мають низьку температуру кипіння.

*Парофазний метод* використовується при лабораторному експрес-аналізі біологічних рідин живих осіб і ґрунтується

на одержанні летких похідних, які легко переходять у парову фазу з наступним аналізом цих речовин методом газо-рідинної хроматографії.

*Метод дистиляції з водяною парою* — простий у виконанні та економічний. При проведенні дистиляції отримують чисті вилучення — дистиляти.

*Метод мікродифузії* є попереднім, має судово-хімічне значення тільки при негативному результаті.

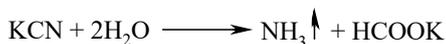
### 4.3. ТОКСИКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЛЕТКИХ РЕЧОВИН. АНАЛІЗ ДИСТИЛЯТІВ ХІМІЧНИМ МЕТОДОМ

#### 4.3.1. КИСЛОТА СИНІЛЬНА ТА ЦІАΝІДИ

HCN — кислота синільна (ціаніста, ціаністоводнева). Більш токсична кислота ізоціаніста, яка є однією з таутомерних форм кислоти ціаністої:



**Фізико-хімічні властивості.** HCN — це безбарвна рідина ( $t_{\text{кип.}} = 25,6 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $t_{\text{пл.}} = 13,3 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\rho = 0,699$ ), має запах гірко-мигдалю, легко змішується з водою і багатьма органічними розчинниками. Кислота синільна — слабка кислота, її витісняють із солей навіть вуглекислота та слабкі органічні кислоти ( $K_d = 4,8 \cdot 10^{-10}$ ); солі її у воді нестійкі:

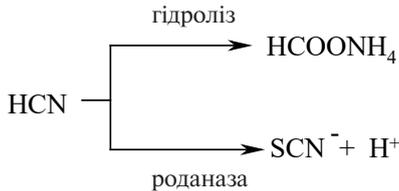


**Застосування.** У медицині (меркурій ціанистий та оксиціанистий, гірко-мигдальна вода, мигдальна олія як проносне), для синтезу деяких амінокислот, при добуванні золота, для дезінфекції та дезінсекції (гази циклон А та В), гальванопластики, у шкіряній, гірничій, текстильній промисловості.

**Поведінка в організмі.** Кислота синільна може потрапляти до організму через легені та частково через непошкоджену шкіру, травний канал, а ціаніди — через ШКТ. Кислота синільна перешкоджає диханню, тобто блокує дихальний фермент — цитохромоксидазу, при цьому кисень від гемоглобіну не надходить

до тканин. Це призводить до порушення тканевого дихання; також може викликати блокування гемоглобіну крові. Виводиться з організму з сечею у вигляді метаболітів, при видиханні повітря.

**Метаболізм** кислоти синильної протікає у двох основних напрямках — гідроліз з утворенням амоній формиату і перетворення ціанід-іона на роданід-іон під дією ферменту роданази.



**Токсична дія та симптоми отруєння.** Кислота синильна — речовина загальнотоксичної дії, вона уражає всі органи.



Отруєння нею може бути як дуже швидким, так і уповільненим. При гострому отруєнні (прийом великої дози натще) потерпілий мимоволі скрикує, миттєво втрачає свідомість, падає, вигинаючись дугою (опістотус). Ця форма отруєння може тривати 3–5 хв, потім настає смерть. При повільній формі відзначаються болі в ділянці серця, м'язова слабкість, дряпання в горлі, нудота, блювота, головний біль, почервоніння слизових оболонок, шкіри обличчя, пекучий гіркий смак у роті, слиновиділення, прискорене дихання, судоми, потім параліч, зупинка дихання та серцевої діяльності.

При проведенні патологоанатомічного дослідження спостерігають ознаки, характерні для смерті від асфіксії. Це вишнево-червоний колір трупних плям, обличчя, губ, внутрішніх органів, слизової шлунка. Відчувається запах гіркового мигдалю.

**Смертельні дози:** для кислоти синильної — 0,05–0,15 г; ГДК — 10 мг/м<sup>3</sup>; для ціанідів — 0,15–0,25 г. При диханні повітрям, яке містить кислоту синильну у кількості 0,2–0,3 мг/л, протягом 5–10 хв відбувається смертельне отруєння.

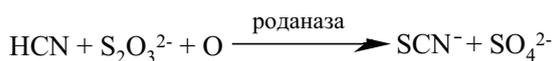
**Невідкладна допомога та лікування отруєнь кислотою синильною.** Свіже повітря, дихання повітрям з аміднітридом, який є метгемоглобінотворювачем і вступає у взаємодію з кислотою синильною (повторювати процедуру через кожні 15 с). Додатково промивають шлунок 0,5 % розчином натрій тіосульфату, дають сольове проносне та активоване вугілля.

**Профілактика отруєнь.** Суворе дотримання правил техніки безпеки. Слід пам'ятати, що від додавання до ціанідів сильних кислот миттєво виділяється кислота синильна, яка може бути причиною важких, а іноді й смертельних отруєнь. Працювати з кислотою синильною та її солями у лабораторії можна тільки під витяжною шафою з хорошою вентиляцією.

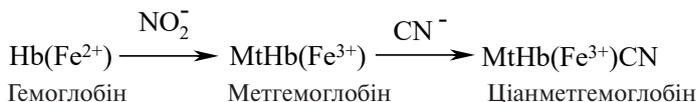
Промислові процеси, де присутні кислота синильна та ціаніди, мають бути по можливості автоматизовані, з високим ступенем герметизації. При пожежі обов'язково користуватися протигазами.

*Антидоти при отруєнні кислотою синильною:*

1. Речовини, що містять натрій, калій тіосульфати.

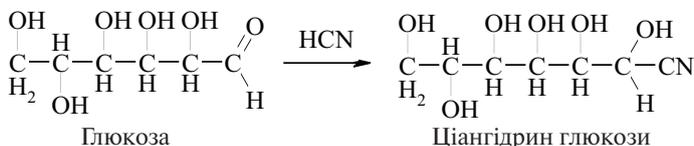


2. Речовини, що утворюють метгемоглобін, — солі й етери кислоти нітритної:  $\text{NaNO}_2$ ;  $\text{KNO}_2$ ;  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{—O—NO}$  (аміловий етер); метиленовий синій.



Оскільки  $\text{CN}^-$ -іон може відокремлюватися, одночасно необхідно вводити хворому сірковмісні речовини і вуглеводи.

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



### Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* нирки, печінка, шлунок зі вмістом, кишечник зі вмістом, кров.

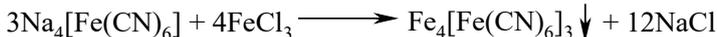
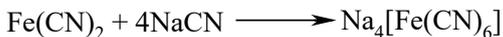
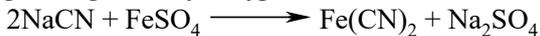
Кислота синильна визначається в перших порціях дистилату.

Особливості **ізолювання** кислоти синильної з біологічних об'єктів проводять із врахуванням, що вона легколетка і мало дисоціює у воді, її зв'язують у сіль:



*Аналіз першого дистилату* на кислоту синильну починають із попередньої високочутливої і специфічної реакції утворення

берлінської лазури. При додаванні ферум(II) сульфату до лужного розчину ціанідів утворюється ферум(II) ціанід, який при взаємодії з надлишком ціанідів, а потім з ферум(III) сульфатом або хлоридом утворює берлінську лазур:



Особливості 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  $\text{HCl}$ :



Великий надлишок  $\text{HCl}$  може сповільнити процес утворення берлінської лазури.

Висновок про наявність речовини роблять через 24–48 год, оскільки сліди кислоти синильної і домішок білкових речовин уповільнюють утворення осаду. Для прискорення його випадання вводять розчин барій хлориду і на осаді барій сульфату адсорбується осад берлінської лазури.

Як речовий доказ виявлення ціанідів до судово-слідчих органів направляється осад берлінської лазури.

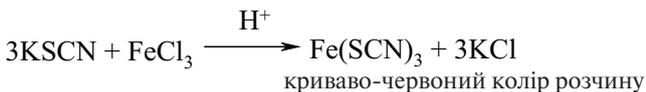
*Оцінка реакції:* попередня, чутлива (20 мкг у 1 мл розчину), специфічна. Реакцію можна використовувати для загниваючого біологічного матеріалу.

Для підтвердження наявності кислоти синильної в дистилаті проводяться реакції забарвлення.

1. *Реакція утворення ферум роданіду.* Реакція базується на нагріванні ціанідів із розчином амоній полісульфіду, внаслідок чого утворюється роданід, при додаванні до якого розчину ферум(III) хлориду виникає криваво-червоне забарвлення.



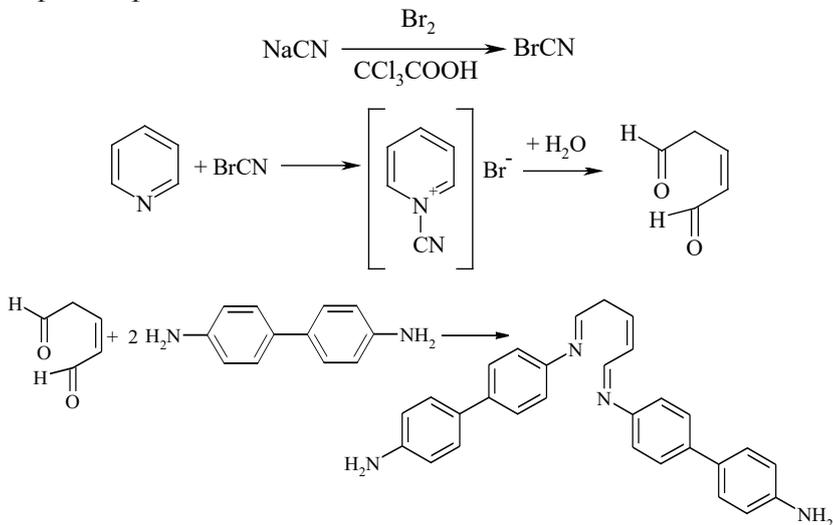
Полісульфід амонію



*Оцінка реакції:* досить високочутлива (10 мкг у 1 мл), неспецифічна.

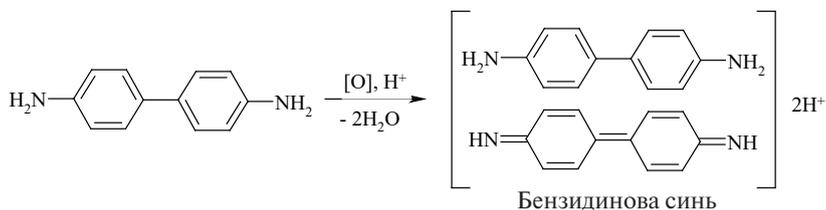
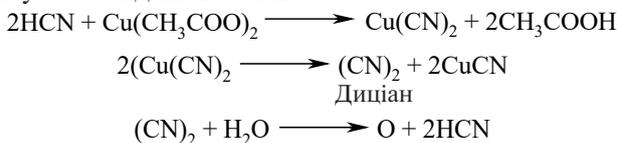
2. *Реакція утворення поліметину.* До частини дистилату додають бромну воду та розчин кислоти трихлорацетатної, далі додають розчин гідразин сульфату до знебарвлення рідини. У розчин вносять піридин-бензидинову суміш і спостерігають

утворення оранжевого забарвлення, яке поступово стає червоно-фіолетовим.



*Оцінка реакції:* високочутлива (0,2 мкг у 1 мл розчину), неспецифічна. Продукти гнилісного розкладу не заважають виявленню кислоти синильної.

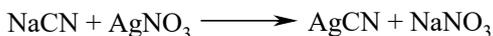
3. *Реакція утворення бензидинової сині.* Солі купруму(II) з ціанідами утворюють диціан (CN)<sub>2</sub>, при взаємодії якого з водою виділяється кисень, що окиснює бензидин. Продуктом окиснення бензидину є бензидинова синь.



Папір, змочений розчином солі купруму і бензидином, синіє при наявності кислоти синильної або її солей.

*Оцінка реакції:* чутлива, неспецифічна.

4. *Мікрористалічна реакція утворення аргентуму ціаніду.* В результаті реакції спостерігається утворення кристалів у вигляді довгих голок блакитного кольору.



*Оцінка реакції:* чутлива (0,1 мкг у досліджуваній пробі), неспецифічна.

**Кількісне визначення кислоти синильної:**

- *фотокolorиметричний* метод (базується на реакції утворення поліметинового барвника);
- *аргентометричний* метод (метод Фольгарда). Використовують при вмісті синильної кислоти більше 1 мг у 100 г досліджуваного об'єкта. Не можна використовувати метод для об'єктів, які знаходяться на стадії гниття.

### 4.3.2. ГАЛОГЕНПОХІДНІ АЛІФАТИЧНОГО РЯДУ

*Аналіз другого дистилату* починають з дослідження отруйних галогенпохідних аліфатичного ряду (алкілгалогенідів), з яких найбільше хіміко-токсикологічне значення мають хлорпохідні вуглеводнів: *1,2-дихлоретан* —  $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ , *тетрахлорметан* (чотирихлористий вуглець) —  $\text{CCl}_4$ , *трихлорметан* (хлороформ) —  $\text{CHCl}_3$ , *хлоралгідрат* —  $\text{CCl}_3\text{COH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

**Фізико-хімічні властивості.** Алкілгалогеніди (дихлоретан, тетрахлорметан, трихлорметан) за фізичними властивостями — рідини, важчі за воду, леткі, зі специфічним запахом, нерозчинні чи практично нерозчинні у воді, змішуються з етиловим та метиловим спиртами, етером, ацетоном.

Алкілгалогеніди — це легкозаймісті речовини (за винятком тетрахлорметану, який не підтримує горіння). При нагріванні з їдкими лугами розкладаються. Хлороформ при доступі повітря на світлі розкладається з утворенням дуже токсичного фосгену:



**Застосування.** У промисловості та побуті — як розчинники жирів, лаків, фарб, смол; дихлоретан використовують для чистки одягу; тетрахлорметан — для гасіння пожеж, для екстракції біологічно активних речовин з рослинної сировини, як консервант при обробці хутра.

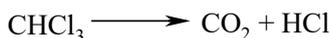
**Поведінка в організмі.** Алкілгалогеніди потрапляють до організму через рот, органи дихання та шкіру (хлорпохідні розчиняють жири). У найбільших кількостях алкілгалогеніди накопичуються в органах, багатих на ліпіди (мозок, печінка, нирки, сальник). Наприклад, через 6 год після надходження 1,2-дихлоретану до організму 70 % його знаходиться у печінці.

Основна кількість цих речовин з організму виводиться з повітрям, що видихається, та з сечею, а незначна — через кишечник.

**Метаболізм.** Окиснювальне дехлорування — у таких процесах можуть утворюватися вільні радикали, наприклад, тетрахлорметан утворює:



Кінцевим результатом метаболічних процесів хлороформу є карбон(IV) оксид і кислота хлоридна:



У процесі метаболізму 1,2-дихлоретану утворюються такі високотоксичні речовини, як хлоретанол та кислота монохлорощтова.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Хлорпохідні вуглеводнів спроможні витіснити окремі функціональні групи білків, руйнуючи при цьому внутрішньоклітинні структури. Вільні радикали, які утворюються у процесі метаболізму алкілгалогенідів, виконують роль ініціаторів реакцій перекисного окиснення ненасичених жирних кислот у мембранах.

Алкілгалогеніди проявляють виражену гепато-, нейро- та нефротоксичну дію.

При попаданні через рот психоневрологічні ураження відмічаються вже через 3 год. Вони супроводжуються запамороченням, нестійкістю ходи, загальмованістю або, навпаки, ейфорією, психомоторним збудженням, слуховими та зоровими галюцинаціями. Також можливі судоми, кома, порушення зовнішнього дихання та серцево-судинної діяльності (тахікардія). При отруєнні тетрахлорметаном та дихлоретаном можливі блювання жовчу, біль у животі.

Порушення функцій нирок відмічається на 1–3 добу після отруєння, а печінки — на 2–5 добу; спостерігається збільшення печінки, жовтушність склер та шкірних покривів.

При інгаляційному отруєнні дихлоретаном перш за все розвиваються неврологічні ураження, потім приєднується дисфункція з боку ШКТ, внаслідок чого помітні інші симптоми отруєння.

Слід зазначити, що інгаляційні отруєння тетрахлорметаном характеризуються значно повільнішим їх розвитком, у зв'язку з чим у більшості випадків у ранньому періоді отруєння вони залишаються довгий час нерозпізнаними. Прийом алкоголю призводить до більш тяжкого протікання інгаляційних отруень. На 1–2 добу після інгаляції тетрахлорметану клінічна картина інтоксикації може носити характер грипоподібного захворю-

вання; спостерігається нездужання, підвищення температури до 37–39 °С, потім — шлунково-кишкові розлади.

**Смертельні дози:** дихлоретану — 15–20 мл, ГДК — 150 мг/м<sup>3</sup>; тетрахлорметану — 20–60 мл, ГДК — 100 мг/м<sup>3</sup>; етилену трихлористого — 20–70 мл, ГДК — 300 мг/м<sup>3</sup>; хлороформу — 100–300 мл.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Свіже повітря, промивання шлунка водою у максимумально короткий термін (15–20 л), з подальшим введенням вазелінової або касторової олії (150–250 мл), що сприяє виведенню отрути через кишечник. При отруєнні тетрахлорметаном замість вазелінової олії рекомендоване прийняття 20–30 г магній сульфату в 200 мл води.

**Профілактика отруєнь.** Суворе дотримання правил техніки безпеки при роботі з алкілгалогенідами (працювати тільки під витяжною шафою, шкіра рук має бути захищена рукавичками). Зберігати ці сполуки необхідно у темних скляних флаконах з етикетками, у спеціально відведених для цього місцях з хорошою вентиляцією.

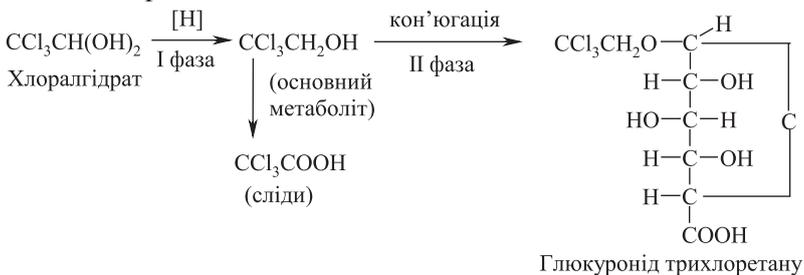
**Діагностика отруєнь алкілгалогенідами.** Дослідження повітря, що видихається людиною, крові та сечі за допомогою методу газо-рідинної хроматографії.

Токсикологічне значення має фармакопейний препарат *хлоралгідрат*, який використовується в медицині як заспокійливий, протисудомний та снодійний засіб.

**Фізико-хімічні властивості.** Хлоралгідрат — це безбарвні кристали або дрібнокристалічний порошок з характерним гострим запахом, гіркуватий на смак, розчинний у воді, діетиловому етері та хлороформі. Препарат гігроскопічний і повільно випаровується у повітрі.

**Поведінка в організмі.** Надходження до організму через рот, пряму кишку. Діє на центральну нервову систему, накопичується в тканинах, багатих на жири. Виводиться хлоралгідрат з організму у вигляді кон'югатів та в нативному стані.

**Метаболізм.** Хлоралгідрат відновлюється до трихлоретанолу, який зв'язується з кислотою глюкуроною. Метаболіти виводяться нирками.



**Токсична дія та симптоми отруєння.** Препарат має нейротоксичну дію, проявляє наркотичний ефект. При отруєнні хлоралгідратом можуть з'явитися дистрофічні зміни у внутрішніх органах, особливо в печінці. Смерть настає від зупинки дихання.

Гостре отруєння хлоралгідратом (доза понад 5 г) характеризується глибоким наркозом, падінням кров'яного тиску і температури, ціанозом, поверхневим диханням. Зіниці звужуються, через кілька годин настає смерть від паралічу дихального центру.

*Смертельна доза* — до 10 г.

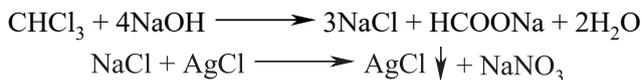
**Невідкладна допомога та лікування отруєнь** такі ж, як і для інших алкілгалогенідів.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз галогенпохідних аліфатичного ряду**

*Об'єкти дослідження:* сальник, головний мозок, шлунок зі вмістом, нирки, печінка, легені, кров, сеча.

#### **Хлороформ — $\text{CHCl}_3$**

1. *Реакція відщеплення органічно зв'язаного хлору.* Реакція малочутлива, тому, якщо не спостерігається утворення білого осаду чи помутніння, необхідно проводити реакцію утворення ізонітрилу, яка є більш чутливою. Позитивний результат ізонітрильної проби дає можливість проводити інші реакції ідентифікації на галогенпохідні вуглеводні. Негативний результат ізонітрильної проби дозволяє зробити висновок про відсутність цих речовин у дистилаті. Перед проведенням реакції рекомендують провести контрольний дослід, для того щоб переконатися у відсутності в реактивах іонів хлору.

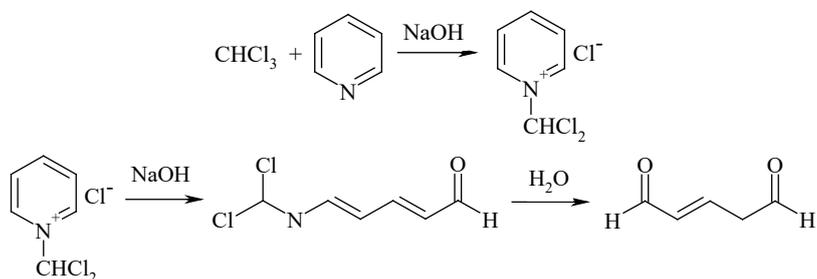


Спостерігається білий осад або біла муть у розчині.

*Оцінка реакції:* попередня, неспецифічна, малочутлива (хлороформ — 0,15–0,2 мг у 1 мл досліджуваного розчину). Цю реакцію дають хлоралгідрат, дихлоретан, тетрахлоретан.

Реакція має негативне судово-токсикологічне значення.

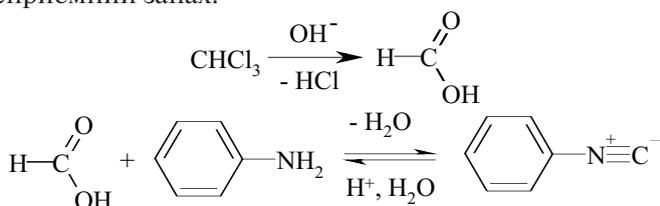
2. *Реакція Фудживара.* Реакція базується на взаємодії хлоропохідних вуглеводнів з піридином при наявності луку. Під час взаємодії речовин з піридином і лугом утворюється поліметиновий барвник. Спочатку утворюється сіль піридинію:



Під впливом лугу сіль піридинію перетворюється на похідне глутаконового альдегіду, під час гідролізу якого утворюється глутаконовий альдегід, що має червоне забарвлення.

*Оцінка реакції:* чутлива, неспецифічна; є загальною на хлорпохідні вуглеводні.

3. *Реакція утворення ізонітрилу.* При нагріванні з первинними амінами та лугом утворюється ізонітрил (карбіламін), який має неприємний запах.

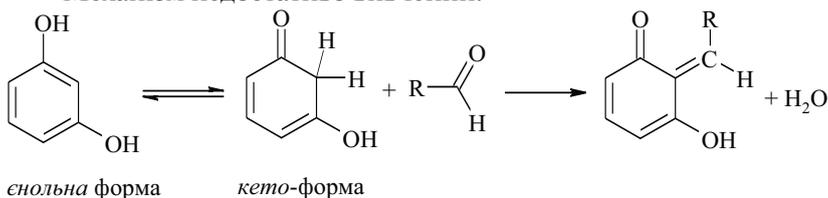


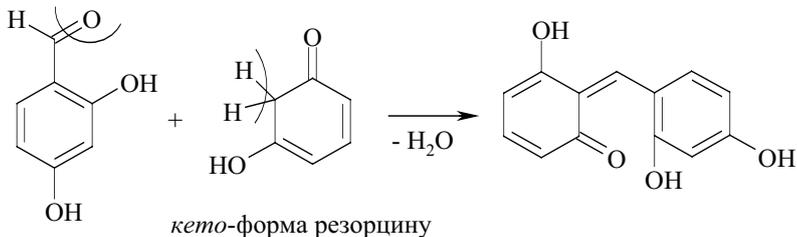
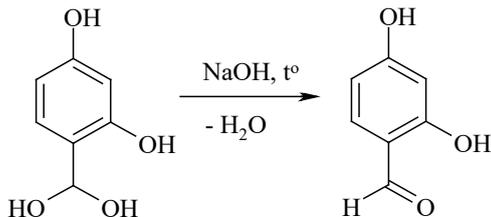
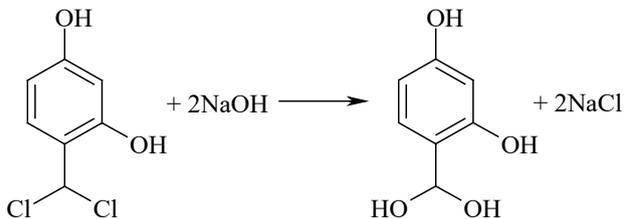
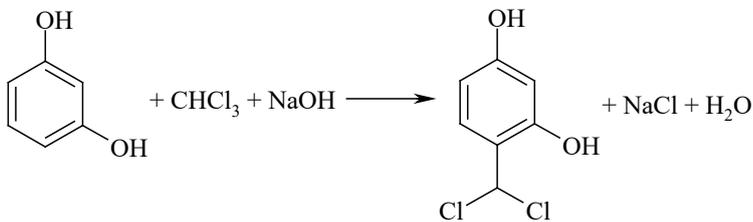
Ізонітрильну пробу виконують під тягою! Для руйнування ізонітрилу пробірку кип'ятять та додають розчин 10 % кислоти сульфатної.

*Оцінка реакції:* чутлива, неспецифічна, із досліджуваних алкілгалогенідів тільки дихлоретан не дає цієї реакції. Негативний результат дозволяє зробити висновок про відсутність алкілгалогенідів у досліджуваному дистилаті.

4. *Реакція з резорцином у лужному середовищі.* При виконанні реакції використовується 10 % свіжоприготовлений розчин резорцину в 10 % розчині натрій гідроксиду. Паралельно виконують контрольний дослід, продукти окиснення резорцину у контрольному досліді утворюють жовто-зелене забарвлення.

Механізм недостатньо вивчений.





Спостерігається рожеве або малиново-червоне забарвлення розчину.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, чутлива; неспецифічна (її дають хлоралгідрат, тетрахлоретан, альдегіди, кислота мурашина). Дихлоретан не дає цієї реакції.

5. Реакція відновлення купрум(II) гідроксиду до купрум(I) оксиду (з реактивом Фелінга). Хлороформ при нагріванні з лугом утворює натрій форміат та натрій хлорид.



Натрій форміат відновлює купрум(II) до купрум(I):



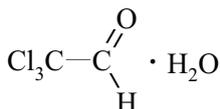
Спостерігається утворення жовтого осаду, який переходить у червоний осад при наявності у дистилаті хлороформу та хлоралгідрату.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, малочутлива, неспецифічна (альдегіди); тетрахлорметан і дихлоретан не дають зазначеної реакції.

**Кількісне визначення хлороформу:**

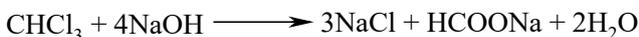
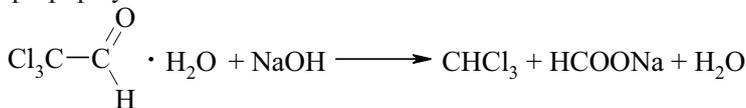
- *фотокolorиметричний* метод (за ступенем забарвлення продукту реакції Фудживара);
- метод *газо-рідинної хроматографії* (за висотою або площею хроматографічного піку);
- *аргентометричний* метод (метод Фольгарда).

**Хлоралгідрат**



У хіміко-токсикологічному аналізі для ідентифікації хлоралгідрату використовують усі реакції, які використовують для ідентифікації хлороформу.

1. *Реакція відщеплення органічно зв'язаного хлору.* У лужному середовищі хлоралгідрат розкладається з виділенням хлороформу:



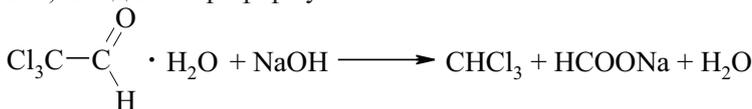
Спостерігається білий осад або біла муть у розчині.

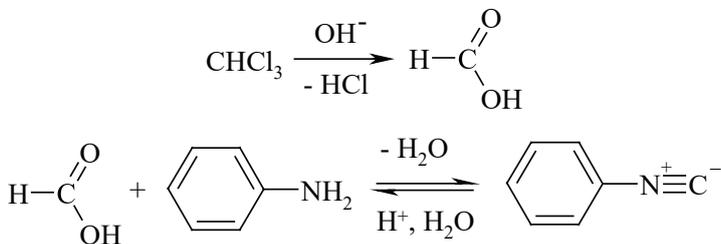
*Оцінка реакції:* попередня, неспецифічна, малочутлива (хлоралгідрат — 0,15–0,20 мг у 1 мл розчину).

2. *Реакція Фудживара.* Хімізм — див. хлороформ.

*Оцінка реакції:* чутлива, неспецифічна.

3. *Реакція утворення ізонітрилу.* Умови проведення реакції такі ж, як і для хлороформу.





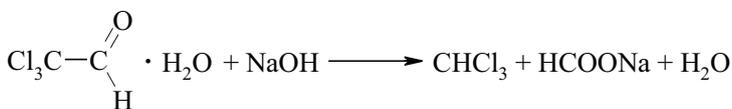
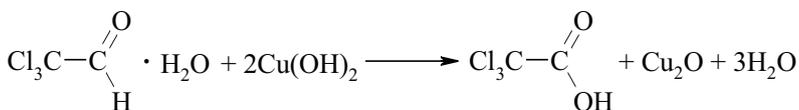
Утворюється ізонітрил (карбіламін), який має неприємний запах.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, чутлива (0,01 мг у 1 мл розчину), неспецифічна.

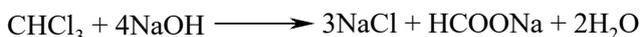
4. *Реакція з резорцином у лужному середовищі.* Умови проведення реакції та хімізм такі ж, як і для хлороформу. Спостерігається рожеве або малиново-червоне забарвлення розчину.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, чутлива (0,25 мг у 1 мл розчину); неспецифічна.

5. *Реакція відновлення купрум(II) гідроксиду до купрум(I) оксиду (з реактивом Фелінга).* Хлоралгідрат окиснюється до купрум(II) гідроксиду та кислоти трихлороцтової, розкладається до хлороформу та натрій формиату.



Хлороформ при нагріванні з лугом утворює натрій формиат та натрій хлорид:



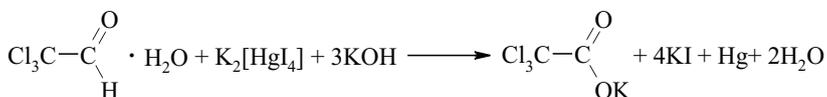
Натрій формиат відновлює сполуки купруму(II) до сполук купруму(I):



Спостерігається утворення жовтого осаду, забарвлення якого змінюється на червоне.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, малочутлива, неспецифічна.

6. *Реакція з реактивом Несслера.* Хлоралгідрат містить альдегідну групу, тому при взаємодії з реактивом Несслера виділяється вільний меркурій.



Спостерігається утворення оранжевого осаду, який з часом стає брудно-зеленим.

*Оцінка реакції:* чутлива, характерна тільки для хлоралгідрату. Хлороформ, тетрахлорметан та дихлоретан реакцію не дають.

**Кількісне визначення хлоралгідрату** — див. Кількісне визначення хлороформу.

### Тетрахлорметан (чотирехлористий вуглець) — $\text{CCl}_4$

Виявлення тетрахлорметану в хіміко-токсикологічному аналізі базується на використанні таких самих реакцій, що й для інших алкілгалогенідів. Але тетрахлорметан не дає реакцію з реактивом Фелінга, на відміну від хлороформу та хлоралгідрату. Висновок про наявність тетрахлорметану в дистилаті роблять при позитивному результаті реакцій відщеплення хлору, Фудживара, утворення ізонітрилу, з резорцином у лужному середовищі та негативному результаті реакції з реактивом Фелінга.

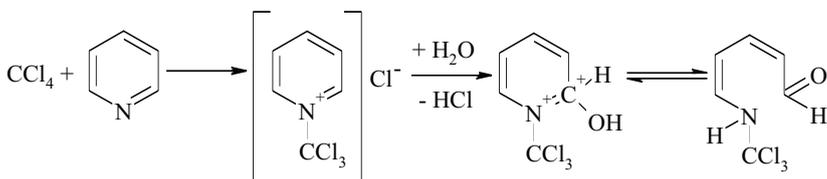
#### 1. Реакція відщеплення органічно зв'язаного хлору:



Спостерігається утворення білого осаду або білого помутніння у розчині.

*Оцінка реакції:* попередня, неспецифічна, малочутлива (тетрахлорметан — 6,8 мг у 1 мл досліджуваного розчину).

#### 2. Реакція Фудживара:



*Оцінка реакції:* чутлива, неспецифічна.

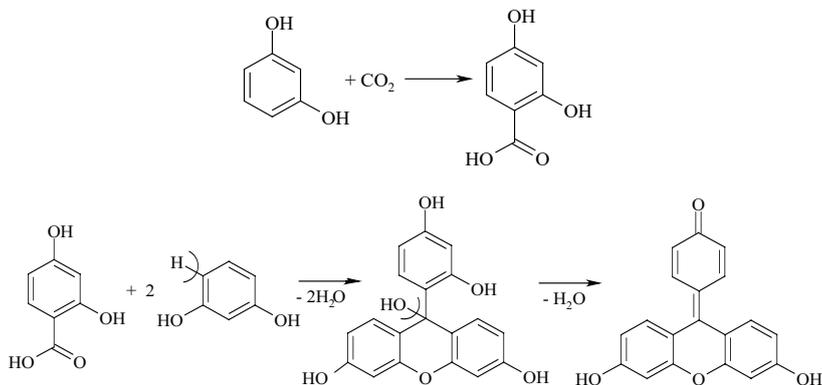
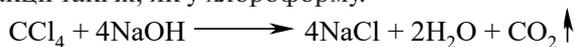
3. Реакція утворення ізонітрилу. Умови проведення реакції такі ж, як у хлороформу.



Утворюється ізонітрил (карбіламін), який має неприємний запах.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, чутлива (2,3 мг у 1 мл розчину), неспецифічна.

4. Реакція з резорцином у лужному середовищі. Умови проведення реакції такі ж, як у хлороформу.



Спостерігається рожеве або малиново-червоне забарвлення розчину.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, чутлива (4,5 мг у 1 мл розчину), неспецифічна.

5. Реакція з реактивом Фелінга — тетрахлорметан не дає цієї реакції!

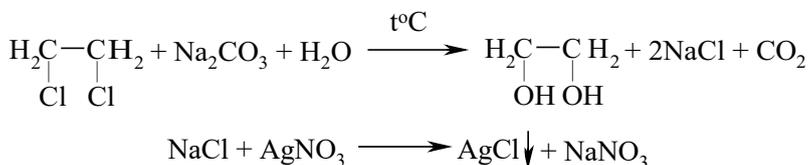
При нагріванні з лугом тетрахлорметан утворює карбон(IV) оксид та воду, тому відновлення купрум(II) гідроксиду до купрум(I) гідроксиду не відбувається.

**Кількісне визначення тетрахлорметану** — див. Кількісне визначення хлороформу.

**Дихлоретан** —  $\text{Cl} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{Cl}$

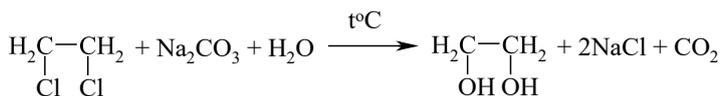
Хіміко-токсикологічний аналіз на наявність *дихлоретану* виконується лише за спеціальним завданням.

1. Реакція відщеплення органічно зв'язаного хлору. Реакція проходить у більш жорстких умовах, ніж для інших алгілгалогенідів: при тривалому нагріванні зі спиртовим розчином луку або тривалому нагріванні при підвищеному тиску. Після нагрівання дистиляту протягом 4 год у запаяній ампулі з 10 % розчином натрій карбонату від дихлоретану відщеплюються атоми хлору, які виявляють з аргентум нітратом.

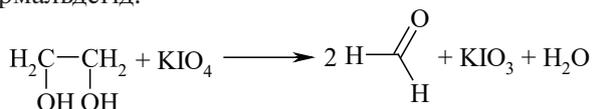


Спостерігається утворення білого осаду аргентум хлориду після додавання аргентум нітрату в середовищі кислоти нітратної.

2. Реакція утворення етиленгліколю і виявлення його після переведення в формальдегід. Дихлоретан при нагріванні в запаяній ампулі з натрій карбонатом перетворюється на етиленгліколь.

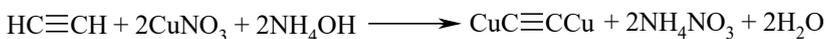
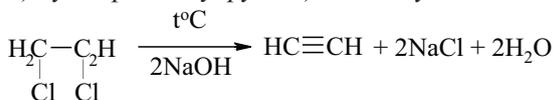


Потім етиленгліколь взаємодіє з калій періодатом і утворюється формальдегід.



Формальдегід виявляють за допомогою реакції з розчином кодеїну в сірчанокиислому середовищі або з кислотою фуксинсірчистою.

3. Реакція утворення купрум ацетиленіду:



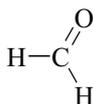
Спостерігається рожеве або вишнево-червоне забарвлення розчину.

Оцінка реакції: підтверджуюча, специфічна.

**Кількісне визначення дихлоретану:**

- метод *газо-рідинної хроматографії* (за висотою або площею хроматографічного піку);
- *аргентометричний* метод (метод Фольгарда).

### 4.3.3. ФОРМАЛЬДЕГІД



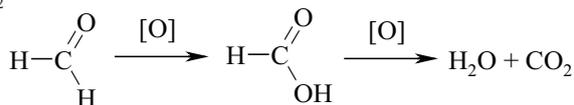
**Фізико-хімічні властивості.** Формальдегід — газ, добре розчинний у воді, має гострий специфічний запах. Водний

розчин, що містить 36,5–37,5 % формальдегіду, називається *формаліном*. За хімічними властивостями формальдегід є активним відновником.

**Застосування.** У медичній практиці використовується як дезінфікуючий засіб для рук, входить до складу препаратів «Лізоформ», «Формагель», «Формалінова мазь». Використовується як консервант для анатомічних препаратів, для протруєння зерна, отримання пластичних мас, у лакофарбовій та текстильній промисловості.

**Поведінка в організмі.** Потрапляє в організм через ШКТ, органи дихання, шкіру. Виводиться з організму з сечею та повітрям, що видихається.

**Метаболізм.** Формальдегід окиснюється до кислоти мурашиної, викликає тяжкий ацидоз. Кінцеві продукти окиснення —  $\text{CO}_2$  та  $\text{H}_2\text{O}$ .



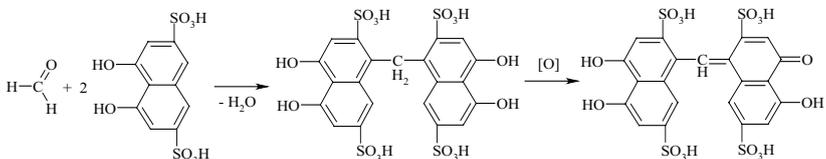
**Токсична дія та симптоми отруєння.** Попадання невеликої кількості формальдегіду через легені спричиняє подразнення верхніх дихальних шляхів. При попаданні таким шляхом великих кількостей формальдегіду може наступити раптова смерть у результаті набряку та спазму речової щілини. При попаданні формальдегіду до організму через рот можуть статися некротичні ураження слизової оболонки рота, травного каналу; при ковтанні спостерігається ефект «розпеченого заліза»; крім того — слинотеча, нудота, кров'яна блювота, пронос. Формальдегід пригнічує ЦНС, у результаті чого може спостерігатися втрата свідомості, судоми, порушення дихання. Попадання формальдегіду на шкіру викликає хімічний опік з утворенням твердого сірого струпа. *Смертельна доза* — 60–90 мл формаліну, ГДК — 104 мг/м<sup>3</sup>.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Промивання шлунка розчином питної соди.

#### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

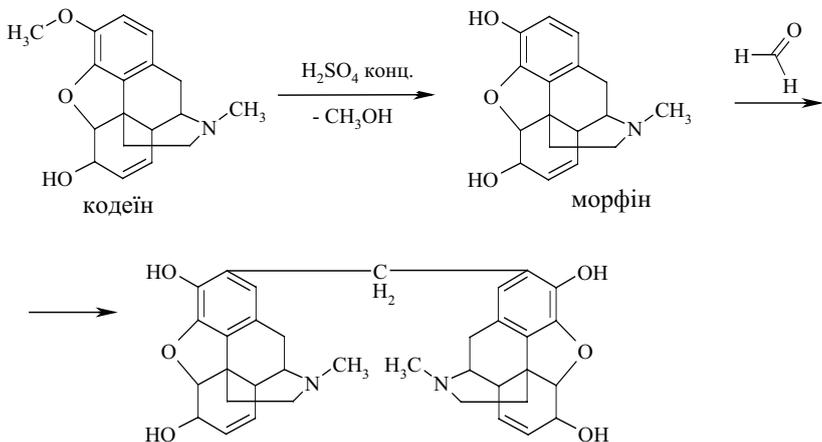
**Об'єкти дослідження:** шлунок, дванадцятипала кишка, частина тонкої кишки зі вмістом, головний мозок, печінка, нирки, сеча.

1. *Реакція з кислотою хромотроповою.* В результаті спостерігається фіолетове або червоно-фіолетове забарвлення розчину.



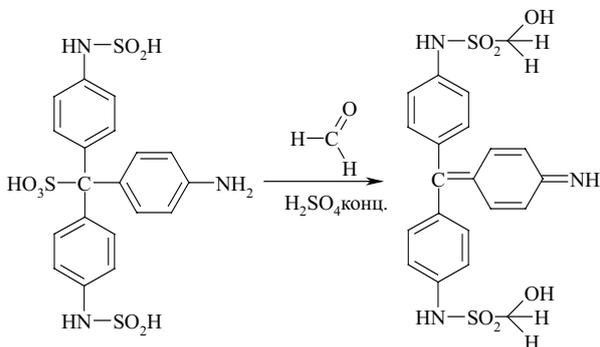
**Оцінка реакції:** підтверджуюча, високочутлива, неспецифічна, її дають речовини, які при гідролізі, дегідратації або окиснюванні утворюють формальдегід. Не дають цієї реакції альдегіди ацетатної, пропіонової та масляної кислот, хлоралгідрат тощо.

2. **Реакція з кодеїном і кислотою сульфатною.** Спостерігається утворення синьо-фіолетового або червоно-фіолетового забарвлення. Ця реакція базується на тому, що під впливом концентрованої кислоти сульфатної від кодеїну відщеплюється метоксильна група, в результаті чого утворюється морфін, який містить фенольну групу.



**Оцінка реакції:** високочутлива, достатньо специфічна.

3. **Реакція з кислотою фуксинсірчистою (реактив Шиффа).** Спостерігається утворення синього або синьо-фіолетового забарвлення. Колір з'являється в розчині не відразу, а через 10–15 хв. Проте, якщо колір з'явився через півгодини, то реакція на наявність формальдегіду вважається негативною. Слід враховувати, що залишки формальдегіду можуть міститися у повітрі хімічних лабораторій і впливати на результат реакції.



**Оцінка реакції:** високочутлива, неспецифічна, адже її дають альдегіди (фурфурол, ацетальдегід та ін.) і навіть окиснювачі повітря (хлор, кисень, окиси нітрогену). Слід зазначити, що за певних умов ця реакція може бути специфічною для формальдегіду (у сильноокислому середовищі при рН 0,7 забарвлення утворюється тільки з формальдегідом; а при рН 2,7 — реакцію дають багато інших альдегідів).

4. Реакції з резорцином; відновлення іонів аргентуму; 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 спирти метиловий та етиловий, а потім на кетони — ацетон.

#### **Кількісне визначення формальдегіду:**

- *фотокolorиметричний* метод (ґрунтується на реакції забарвлення з кислотою фуксинсірчистою або хромотроповою);
- метод *газо-рідинної хроматографії* (за висотою або площею хроматографічного піку);
- *йодометричний* метод. Метод можна використовувати при аналізі дистилатів, які не містять речовин, що реагують з йодом.

З аліфатичних спиртів найбільше токсикологічне значення мають *метиловий, етиловий та ізоаміловий*. Спирти використовуються в медицині, на хімічних підприємствах, у харчовій промисловості. Денатурат (технічний спирт) включає 2,5 % ацетонистого спирту (75 % метанолу і 0,5 % піридинових основ).

#### **4.3.4. СПИРТ МЕТИЛОВИЙ**

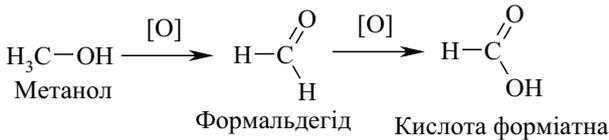
**Фізико-хімічні властивості.**  $\text{CH}_3\text{OH}$  (спирт метиловий, метанол, спирт деревний) — безбарвна рідина ( $t_{\text{кип.}} = 64,5 \text{ }^\circ\text{C}$ ,

$\rho = 0,79$ ), за смаком та запахом майже не відрізняється від спирту етилового, змішується в будь-яких співвідношеннях з водою та багатьма органічними розчинниками.

**Застосування.** Спирт метиловий використовується у промисловості як розчинник лаків, фарб, для отримання формальдегіду; входить до складу антифризів. Метанол є основною частиною сурогатів алкоголю.

**Поведінка в організмі.** Потрапляє в організм через ШКТ, органи дихання, шкіру.

**Метаболізм.** Спирт метиловий більш токсичний, ніж етиловий, тому що утворюються більш токсичні метаболіти:



Формальдегід вражає зоровий нерв; кислота форміатна (мурашина) призводить до сильного ацидозу.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Отруєння метанолом пов'язані з помилковим вживанням метилового спирту замість етилового. Метанол чинить виражену нейротоксичну дію (пригнічення ЦНС), однак наркотичний ефект часто відсутній; нефротоксичну дію (важкий метаболічний ацидоз); офтальмотоксичну дію (враження сітківки ока та дистрофія зорового нерва). Сп'яніння виражене слабо, але сильний синдром важкого похмілля, нудота. Протягом перших двох діб зростають симптоми інтоксикації — блювота, біль у шлунку, головний біль, біль у литкових м'язах, нечіткість зору, сліпота. Метанол діє на гемоглобін і блокує перенесення кисню, що викликає гіпоксію, метанол кумулюється. Смерть настає в результаті зупинки дихання, набряку головного мозку і легень, колапсу або уремії.

**Смертельна доза:** 30–100 мл, при прийомі 7–8 мл метанолу у хворого настає сліпота.

### Хіміко-токсикологічний аналіз

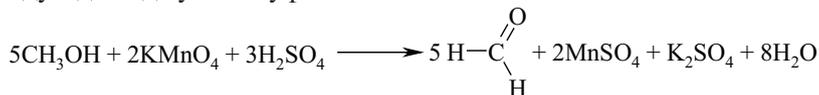
**Об'єкти дослідження:** печінка, нирки, сеча, кров, блювотні маси, промивні води шлунка.

**Особливості ізолювання:** метанол леткий і для зменшення втрат його збирають у приймач, охолоджений льодом або холодною водою.

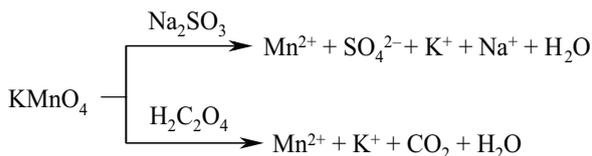
При аналізі дешевих одеколонів його попередньо очищають від ефірних олій, екстрагуючи діетиловим етером,

а потім зв'язують леткі кислоти натрій карбонатом і відганяють метанол.

1. *Реакція окиснення метанолу до формальдегіду з наступним його виявленням.* Перш ніж розпочати окиснення спирту метилового до формальдегіду, слід перевірити наявність цього альдегіду в досліджуваному розчині.



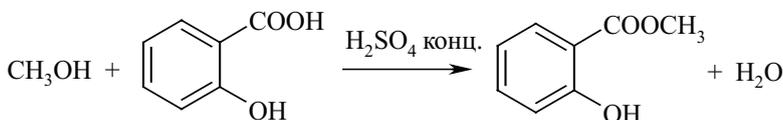
Для зв'язування надлишку окиснювача додають кислоту оксалатну або натрій сульфїт.



Формальдегід виявляють за реакцією з розчином кодеїну в сірчаноокислому середовищі або з кислотою фуксинсірчистою.

*Оцінка реакції:* попередня.

2. *Реакція утворення складного естеру.* Реакція утворення метилсаліцилату має значення тільки у випадку отримання негативних результатів реакцій на наявність спирту етилового, адже етилсаліцилат за своїм запахом нагадує метилсаліцилат, однак цей запах слабкіший.



При наявності метилового спирту в досліджуваному розчині відчувається характерний запах метилового естеру кислоти саліцилової.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, неспецифічна, її дає також спирт етиловий, однак реакція отримання метилсаліцилату в 40 разів чутливіша, ніж отримання етилсаліцилату.

**Кількісне визначення спирту метилового:**

- метод *газо-рідинної хроматографії* (алкілнітритний метод). За висотою або площею хроматографічного піку;

- *фотокolorиметричний* метод (ґрунтується на реакції окиснення спирту метилового до формальдегіду з наступним виявленням формальдегіду з кислотою фуксинсірчистою).

#### 4.3.5. СПИРТ ЕТИЛОВИЙ

**Фізико-хімічні властивості.**  $C_2H_5OH$  (етанол, винний спирт) — безбарвна летка рідина з характерним запахом, пекуча на смак ( $t_{\text{кип.}} = 77-77,5\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $\rho = 0,813-0,816$ ), змішується в будь-яких співвідношеннях з водою та багатьма органічними розчинниками. Горить синюватим полум'ям.

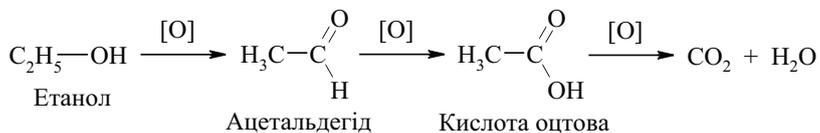
**Застосування.** Використовується етанол у промисловості як розчинник і вихідний продукт для добування багатьох хімічних сполук. У медицині використовується як дезінфікуючий засіб. У хімічних лабораторіях застосовується як розчинник; входить до складу багатьох спиртних напоїв.

**Поведінка в організмі.** Проникає до організму через ШКТ, органи дихання, шкіру. Етанол швидко всмоктується у шлунку (до 20 %) та тонкому кишечнику (80 %). Приблизно через 1,5 год його концентрація у крові досягає максимального рівня. У найбільших кількостях етанол розподіляється в органах з інтенсивним кровообігом (мозок, печінка, нирки).

Вміст їжі у шлунку гальмує всмоктування алкоголю внаслідок адсорбційних властивостей. При вживанні етанолу на порожній шлунок при багаторазових вживаннях при захворюваннях шлунка (гастрит, виразкова хвороба), швидкість резорбції спирту етилового значно вища.

Майже 10 % засвоєного алкоголю виділяється в незмінному стані через легені та з сечею протягом 7–12 год.

**Метаболізм.** У печінці 90 % етанолу, який надійшов до організму, окиснюється за участю ферменту алкогольдегідрогенази згідно з нижченаведеною схемою:



У звичайних умовах незначна кількість етанолу (1–2 %) окиснюється до ацетальдегіду за допомогою ферменту каталази, що міститься в усіх тканинах.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Спирт етиловий проявляє *психотропну* дію, що пов'язано з наркотичним ефектом, який послаблює гальмівні процеси у ЦНС. Крім того, етанол чинить токсичну дію на печінку, нирки, серцево-судинну систему. Діагностика отруєнь ґрунтується на зовнішніх симптомах (нестійка хода, запах з рота та ін.), вона підтверджується хіміко-токсикологічним аналізом крові та сечі

на вміст етанолу методом газо-рідинної хроматографії. *Смертельна разова доза* складає 5–8 г/кг ваги людини (у середньому 300 мл 96 % етанолу при відсутності набутої толерантності), 3 г/кг для дітей.

Природний вміст етанолу в крові складає 0,2–0,3 ‰.

Існує декілька ступенів алкогольного сп'яніння:

I — *легкий* (концентрація у крові 0,5–1,5 ‰) — повний контроль над поведінкою, незначна ейфорія, погіршення зору та пам'яті.

II — *середній* (концентрація у крові 1,5–2,5 ‰) — різка зміна поведінки, слинотеча, м'ятникоподібний рух очима, пригнічення дихання та серцево-судинної діяльності.

III — *тяжкий* (концентрація у крові 2,5–3,0 ‰) — зазначені вище ознаки отруєння посилюються.

IV — *дуже тяжкий* (концентрація у крові 3,0–5,0 ‰) — кома.

V — *смертельний* (концентрація у крові 5,0–6,0 ‰).

Але повної кореляції між зовнішніми симптомами та концентрацією алкоголю у крові не існує, вона носить індивідуальний характер.

В організмі людини в нормі виробляється *ендогенний спирт* (0,002 ‰–0,004 ‰) у результаті окиснення вуглеводів вищих спиртів, розпаду білкових речовин.

**Невідкладна допомога.** При отруєнні метанолом та етанолом необхідно промити шлунок і почати форсований діурез. Якщо з моменту отруєння пройшло більше години, шлунок промивають розчином натрій гідрокарбонату ( $\text{NaHCO}_3$ ). Призначають внутрішньовенне крапельне введення 10 % розчину глюкози з додаванням 8,4 %  $\text{NaHCO}_3$  для боротьби з ацидозом і набряком мозку.

При отруєнні метанолом: промивання шлунка, 30 % розчин *етилового алкоголю* внутрішньо по 50 мл через 3 год або 5 % розчин внутрішньовенно. Спирт етиловий легше розкладається ферментом алкогольдегідрогеназою, а метанол виводиться нирками, легенями в менш токсичному, нативному стані. Спирт етиловий є конкурентним антагоністом спиртів за взаємодією з алкогольдегідрогеназою. Також антидотом при отруєнні метанолом є *фомінізол* (4-метилпіразол), який блокує активність алкогольдегідрогенази і попереджає утворення токсичних метаболітів метанолу.

При отруєнні етанолом також рекомендоване внутрішньовенне введення вітамінів  $\text{B}_1$  і  $\text{B}_6$ .

При введенні лікарських речовин — антабусу або ціаміду — затримується процес окиснення ацетальдегіду до кислоти оцетатної, це призводить до накопичення ацетальдегіду, що спричиняє нудоту, блювоту, головний біль.

**Засоби профілактики:** забезпечення надійного зберігання спирту, боротьба з пияцтвом.

### Хіміко-токсикологічний аналіз

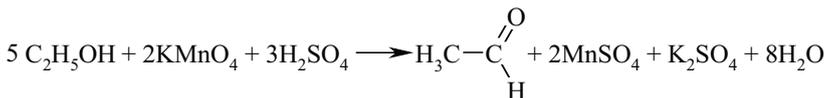
*Об'єкти дослідження:* блювотні маси, промивні води шлунка, повітря, яке видихають, кров, сеча, нирки, печінка, слина.

Найчастіше в хіміко-токсикологічних та судово-хімічних лабораторіях аналіз проводиться на спирт етиловий. Судовому медику і лікарю-наркологу необхідно встановлювати алкогольну інтоксикацію при огляді живих осіб і при дослідженні трупів.

*При проведенні експертизи живих осіб* на наявність спирту етилового випробовують повітря, яке видихають. Встановлено, що вміст спирту етилового в повітрі, що видихається, пропорційний його вмісту в крові, що циркулює в легенях (1:2100). Для виявлення спирту етилового в повітрі, що видихається, використовують попередні проби.

*Проба О.М. Рапопорта* — базується на окисненні спирту етилового калій перманганатом у присутності кислоти сульфатної концентрованої.

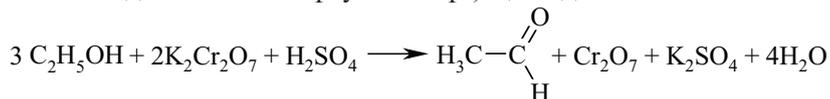
У дві пробірки вносять по 2 мл води очищеної, до однієї з пробірок поміщають трубку, через яку суб'єкт, у якого встановлюють наявність алкоголю, пропускає 1,9–2,1 мл повітря, що він видихає. До обох пробірок вносять по 20 крапель кислоти сульфатної концентрованої і додають по 1 краплі 0,5 % розчину калій перманганату. Отриманий результат дослідження спостерігають через 2–3 хв. Якщо протягом 10–15 хв розчин, що аналізується, знебарвиться або інтенсивність його забарвлення в порівнянні з контрольним розчином в другій пробірці стане меншою, то в повітрі, яке видихається, містяться пари алкоголю.



*Оцінка реакції:* чутлива, неспецифічна, має негативне хіміко-токсикологічне значення.

*Індикаторні трубки Мохова–Шинкаренка та «Контроль тверезості».* В основі дослідження лежить окиснення спирту етилового калій дихроматом у присутності кислоти сульфатної.

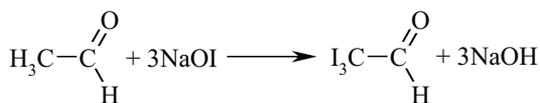
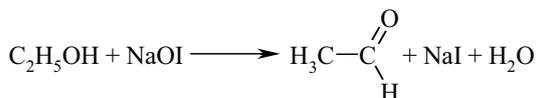
Для аналізу використовують скляні трубки, які заповнені силікагелем, попередньо просоченим сумішшю кислоти сульфатної та хрому(VI) оксиду, запаяні з обох боків. Перед дослідженням обидва кінці трубки відпилюють і продувають крізь трубку повітря, що видихається, протягом 2–3 секунд. При наявності алкоголю в трубці з'являється забарвлення у вигляді зеленого або синього кільця. Час збереження та інтенсивність забарвлення залежить від кількості спирту в повітрі, що видихається.



*Оцінка реакції:* чутлива, неспецифічна, має негативне хіміко-токсикологічне значення.

При ідентифікації спирту етилового в біологічному матеріалі, крові, сечі, слині використовують метод газо-рідинної хроматографії (основний метод) та характерні хімічні реакції (підтверджуючі).

1. *Реакція утворення йодоформу.* При нагріванні спирту етилового з розчином йоду і лугом утворюється йодоформ ( $\text{CHI}_3$ ), який має специфічний запах:



*Оцінка реакції:* попередня, високочутлива, неспецифічна (крім етанолу цю реакцію також дають ацетон, кислота молочна).

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

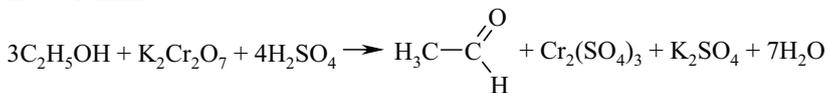
2. *Реакція утворення оцтово-етилового естеру.* У разі позитивного результату відчувається запах оцтово-етилового естеру.



Цей запах посилюється при розведенні у воді.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, специфічна, чутлива.

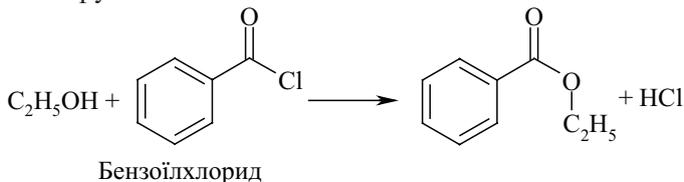
3. *Реакція утворення ацетальдегіду.* Відчувається характерний запах оцтового альдегіду та зміна оранжевого кольору на зелений.



*Оцінка реакції:* підтверджуюча, специфічна.

Дана реакція лежить в основі методу мікродифузії для виявлення спирту етилового в крові, сечі та гомогенатах тканин. Цей метод широко використовується в судово-хімічних лабораторіях зарубіжних країн та України. Також зазначена реакція лежить в основі функціонування індикаторної трубки Мохова–Шинкаренка, яка використовується для визначення етанолу в повітрі, що видихається.

4. *Реакція утворення етилбензоату.* Відчувається запах етилового естеру кислоти бензойної.



*Оцінка реакції:* підтверджуюча, специфічна.

5. *Реакція з калій дихроматом у присутності кислоти сульфатної.* Спостерігається оранжево-червоний відтінок рідини. Після нетривалого стояння відчувається специфічний запах альдегіду.

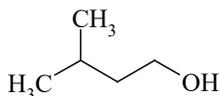
Висновок про наявність спирту етилового в дистилаті може бути тільки при позитивних результатах реакцій утворення складних естерів.

**Кількісне визначення спирту етилового:**

- метод *газо-рідинної хроматографії* (алкілнітритний метод) — за висотою або площею хроматографічного піку;
- *фотоколориметричний* метод (базується на реакції з калій дихроматом у сірчанокислому середовищі).

Після отримання даних про кількість спирту етилового у крові проводиться оцінка ступеня сп'яніння людини.

#### 4.3.6. ІЗОАМІЛОВИЙ СПИРТ (ІЗОПЕНТАНОЛ)



**Фізико-хімічні властивості.** Ізоаміловий спирт (ізопентанол)  $C_5H_{11}OH$  — погано розчиняється у воді, має неприємний запах. Це головна складова частина «сивушного масла» (до 60 %), що є побічним продуктом спиртового бродіння. Ізопентанол більш токсичний, ніж спирт етиловий. До складу сивушних масел також входять вищі спирти (бутиловий, аміловий), альдегіди, етери, кетони.

**Застосування.** Похідні ізоамілового спирту використовуються у медицині, у промисловості — при виробництві бездимного пороху, як розчинник, для виготовлення есенцій, які мають приємний фруктовий запах, а також у харчових та парфумерних виробництвах. У фармацевтичній промисловості найчастіше використовують спирт ізоаміловий для одержання амільнітриу.

**Поведінка в організмі.** Потрапляє до організму через рот разом з етанолом або етиленгліколем. Спирт ізоаміловий негативно діє на ЦНС. Деяка кількість незміненого спирту ізоамілового виділяється з організму з сечею і повітрям, що видихається.

**Метаболізм.** Частина введеної дози метаболізується шляхом окиснення до альдегіду ізовалеріанового та кислоти ізовалеріанової, інша частина виводиться в незмінному вигляді нирками і легенями.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Спирт ізоаміловий у 10–12 разів більш токсичний, ніж спирт етиловий, він повільно всмоктується, метаболізується й виводиться, викликаючи більш сильне і тривале сп'яніння з неврологічними і психічними порушеннями, проявляє *наркотичний* ефект (як і етанол), кардіо- та гепатотоксичну дію, а також місцевоподразнювальну дію. *Смертельна доза:* 10–30 мл, ГДК — 0,1 мг/л. *Симптоми отруєння:* головний біль, нудота, блювота, біль у шлунку, подразнення слизових оболонок. Трапляються випадки смертельних отруєнь самогоном та іншими горілчаними виробами кустарного виробництва, які містять ізоаміловий спирт та інші компоненти сивушних масел.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

*Об'єкти дослідження:* печінка, нирки, легені, кров, сеча, шлунок зі вмістом, головний мозок.

Реакції виявлення спирту ізоамілового дають позитивний ефект лише при відсутності води, тому перед виконанням реакцій спирт ізоаміловий екстрагують з дистилляту діетиловим етером, етерну витяжку розділяють на чотири частини, кожну з них

переносять до фарфорової чашки і випаровують. В одержаних залишках визначають наявність спирту ізоамілового.

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

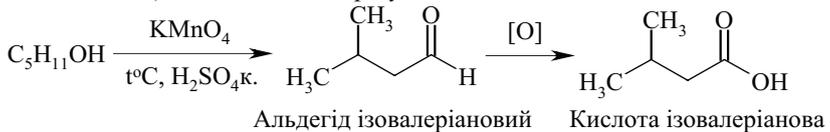
1. Реакція утворення ізоамілацетату:



Відчувається запах грушевої есенції, який посилюється при розведенні водою.

Оцінка реакції: попередня, специфічна.

2. Реакція окиснення спирту ізоамілового:

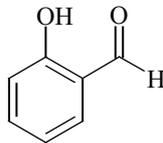


Відчувається характерний приємний запах альдегіду ізовалеріанового, а потім — неприємний запах «прілого сиру».

Оцінка реакції: підтверджуюча, специфічна.

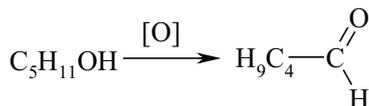
3. Реакції з альдегідами — підтверджуючі, неспецифічні.

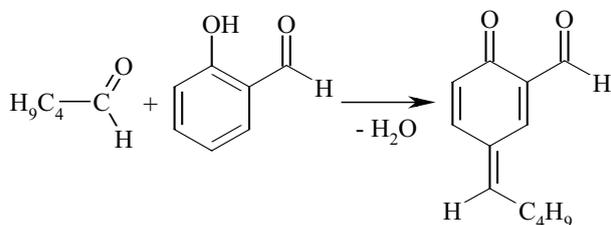
а) Реакція з альдегідом саліциловим. Спирт ізоаміловий з альдегідом саліциловим при наявності концентрованої кислоти сульфатної (реакція Комаровського) утворює рожеве забарвлення. Хімізм реакції точно не описаний.



Альдегід саліциловий

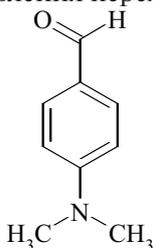
Один з імовірних механізмів реакції — окиснення спирту ізоамілового концентрованою кислотою сульфатною до ізовалеріанового альдегіду, який вступає до реакції конденсації з ароматичним альдегідом.





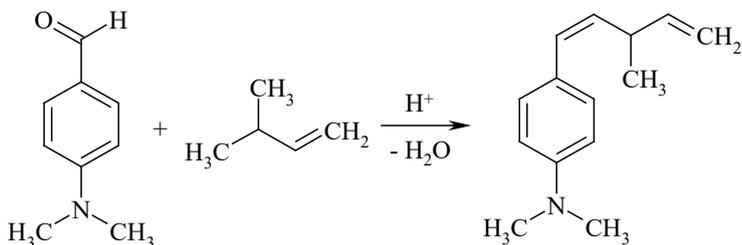
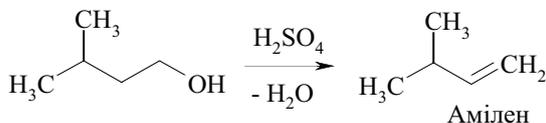
Цю реакцію дають спирти, що мають в молекулі більше трьох атомів карбону.

б) *Реакція з n-диметиламінобензальдегідом.* Спирт ізоаміловий з n-диметиламінобензальдегідом при наявності концентрованої кислоти сульфатної (реакція Комаровського) утворює характерне забарвлення. Поява темно-червоного забарвлення свідчить про наявність спирту ізоамілового в пробі, при розведенні рідини водою забарвлення переходить у фіолетове.



n-Диметиламінобензальдегід

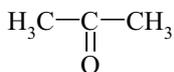
Один із можливих хімізмів реакції:



Ці реакції дають вищі спирти, не дають метанол і етанол.

**Кількісне визначення спирту ізоамілового** проводять за методом *газо-рідинної хроматографії* (алкїлнітритний метод) — за висотою або площею хроматографічного піку.

#### 4.3.7. АЦЕТОН



**Фізико-хімічні властивості.** Ацетон (диметилкетон, пропанон) — це безбарвна рухома рідина, легколетка ( $t_{\text{кип.}} = 56,3 \text{ }^\circ\text{C}$ ), із характерним запахом. Змішується з водою, спиртом етиловим та діетиловим етером у будь-яких співвідношеннях.

**Застосування.** Ацетон використовується як розчинник у промисловості, побуті, а також для екстракції деяких речовин із різних об'єктів, для перекристалізації хімічних сполук та ін.

**Поведінка в організмі.** Надходить до організму усіма можливими шляхами, особливо слід відзначити інгаляційний шлях. Накопичується у печінці, нирках, легенях, потрапляє до мозку. Виділяється з організму в основному з сечею у вигляді продуктів окиснення та нативному стані, також з повітрям, що видихається, та через шкіру. Ацетон у малих кількостях у нормі утримується в сечі людини — 20–25 мг, адже він є одним із нормальних метаболітів нашого організму. При захворюваннях на діабет вміст ацетону зростає. Слід відзначити кумулятивні властивості ацетону. Він повільно виводиться з організму.

**Метаболізм.** Незначна кількість ацетону, який надішов до організму, перетворюється на оксид вуглецю(IV), що виділяється з видихуваним повітрям. Крім того, ацетон є метаболітом спирту ізопропілового. При судово-хімічних дослідженнях на наявність ацетону необхідно проводити диференційну діагностику зі спиртом, який піддається метаболічним перетворенням до ацетону (при отруєнні ізопропанолом у крові рівень ацетону досягає токсичного). Необхідно також враховувати, що при діабетичній комі ацетон у крові може становити 30–55 мг, тобто сягати токсичного або летального рівня.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** При порушенні діяльності організму, наприклад при захворюванні на цукровий діабет, ацетон у певних кількостях знаходять у сечі та крові (20–30 мг на добу в сечі). Тому при діагностиці отруєнь ацетоном його визначення обов'язкове. Ацетон виявляє виражену наркотичну дію, крім того, має нефротоксичний ефект, подразнює очі та дихальні шляхи. Токсична дія ацетону посилюється через повільне виведення його з організму. *Смертельна доза:* 60–90 мл ацетону, ГДК — 75 мг/м<sup>3</sup>. *Симптоми отруєння:* запах від постраждалого,

біль у шлунку, втрата свідомості являє собою важливу ознаку при діагностиці отруєнь ацетоном. Висновок про отруєння ацетоном роблять на основі хіміко-токсикологічного аналізу біологічних рідин за допомогою газо-рідинної хроматографії.

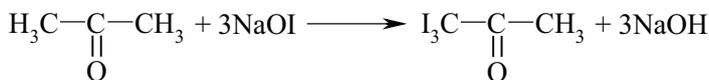
**Невідкладна допомога при отруєннях.** Збудження дихання амоніаком, чай, кава. При роботі з ацетоном необхідно дотримуватися техніки безпеки, оскільки пари ацетону важчі за повітря. Тому у приміщеннях, де відбувається випаровування ацетону, існує небезпека отруєння при диханні його парами.

### Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* печінка, селезінка, головний мозок, легені, шлунок зі вмістом, кров, сеча, залишки рідини у флаконах, ємностях із запахом ацетону, знайдених на місці злочину.

Особливістю *ізолювання* ацетону є виділення його з дистиляту, оскільки ацетон змішується з водою, спиртом, діетиловим етером у будь-яких співвідношеннях. Ацетон висолюють при насиченні дистиляту солями натрій хлориду, кальцій хлориду, калій карбонату, що веде до утворення двох шарів — ацетону і води, які легко розділяються.

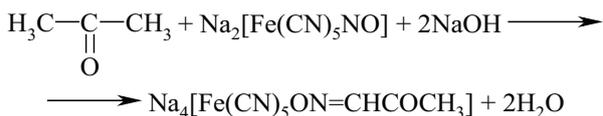
1. *Реакція утворення йодоформу:*



Характерний запах і наявність жовтого осаду вказують на можливу присутність ацетону в дистиляті.

*Оцінка реакції:* попередня, високочутлива (0,1 мг ацетону у 1 мл розчину), неспецифічна (характерна для спирту етилового).

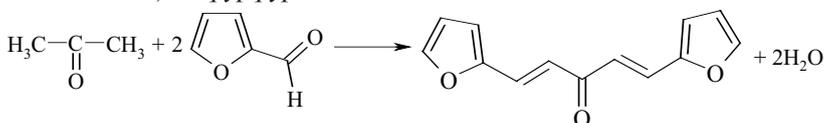
2. *Реакція з натрій нітропрусидом:*



Спостерігається червоний колір розчину.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, неспецифічна, характерна для кетонів.

### 3. Реакція з фурфуролом:



Спостерігається червоний колір розчину.

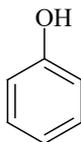
*Оцінка реакції:* підтверджуюча, чутлива, неспецифічна, її також дають деякі альдегіди і кетони.

#### **Кількісне визначення ацетону:**

- метод *газо-рідинної хроматографії* (за висотою або площею хроматографічного піку);

- *йодометричний* метод.

### 4.3.8. ФЕНОЛ

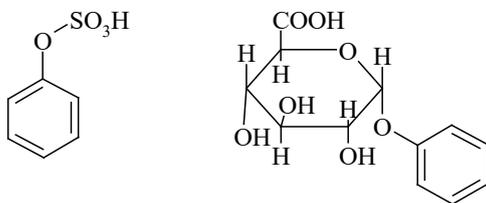


**Фізико-хімічні властивості.** Фенол (кислота карболова) — це тонкі продовгуваті голчасті кристали або безбарвні кристали зі своєрідним запахом. На повітрі фенол поступово стає рожевим. Фенол гігроскопічний, розчинний у воді у співвідношенні 1:20, при нагріванні до 68 °С змішується з водою у будь-яких співвідношеннях, легко розчиняється в спирті етиловому, діетиловому етері, хлороформі, жирних оліях, розчинах їдких лугів. Виявляє слабокислотні властивості завдяки наявності рухомого атома гідрогену гідроксильної групи.

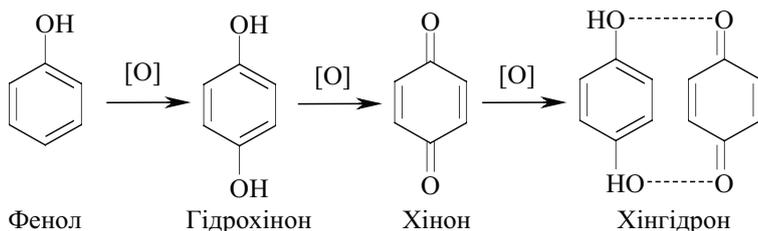
**Застосування.** Фенол застосовується у медичній практиці як дезінфікуючий засіб, а також у хімічній промисловості для отримання багатьох хімічних сполук: барвників, пластичних мас, засобів захисту рослин, фармацевтичних препаратів. У фармації фенол використовують для консервування лікарських засобів, сироваток, свічок.

**Поведінка в організмі.** Потрапляє до організму через ШКТ, органи дихання та шкіру. Фенол швидко всмоктується в кров через слизові оболонки та шкіру, отруєння протікає бурхливо. Частина фенолу, який потрапив до організму, виводиться у нативному вигляді з повітрям, що видихається, а також у вигляді кон'югатів через нирки та ШКТ.

**Метаболізм.** З організму фенол виділяється з сечею у вигляді етерів із кислотами сульфатною та глюкуроною:



Темно-зелений колір сечі свідчить про отруєння фенолом, який в організмі окиснюється за схемою:



**Токсична дія та симптоми отруєння.** Фенол викликає некроз капілярів, білкові, а потім жирове переродження паренхіматозних органів. Проявляє токсичну дію на нирки, печінку, нервову систему, пошкоджує слизові оболонки та шкірні покриви. *Смертельна доза:* 8–15 г при пероральному надходженні, ГДК = 15 мг/м<sup>3</sup>. При попаданні через рот фенол викликає некроз слизової оболонки рота, губ, біль у шлунку та кишечнику. При цьому характерне блювання білуватими масами, пронос, іноді з домішками крові, запах фенолу з рота та від блювотних мас, забарвлення сечі в оливковий або чорно-оливковий колір; збудження, потім пригнічення ЦНС зі втратою свідомості.

При попаданні на шкіру спочатку відчувається нібито легке поколювання, потім оніміння, злущування шкіри, можлива фенольна гангрена з утворенням білого струпа.

**Невідкладна допомога при отруєннях.** Необхідно швидко промити шлунок активованим вугіллям, запиваючи його водою. Ні в якому разі не приймати соняшникову олію. Зі шкіри фенол видаляється промиванням великою кількістю води. При діагностиці отруєнь сечу нагрівають з кислотою сульфатною — відчувається запах фенолу (відбувається руйнування кон'югатів).

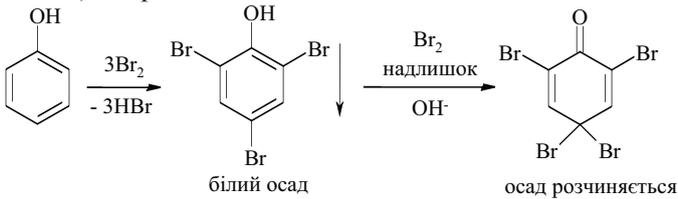
Лікування проводять унітіолом (10 мл 5 % розчину) внутрішньом'язово; натрій тіосульфат (100 мл 30 % розчину) крапельно з глюкозою у вену. Форсований діурез. Вітамінна терапія: кислота аскорбінова (10 мл 5 % розчину) внутрішньом'язово.

## Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* печінка, нирки, серце, головний мозок, кров, сеча.

Особливістю *ізолювання* фенолу є підлогування дистильату розчином натрій гідрокарбонату до рН 8–9 для зв'язування слабких кислот (ацетатної, саліцилової, молочної), які реагують з  $\text{FeCl}_3$ . Фенол екстрагують діетиловим етером, етерну витяжку випаровують і реакції виконують із сухим залишком. При спрямованому аналізі на фенол біологічний об'єкт підкислюють більш сильною кислотою ацетатною, яку потім зв'язують лугом, а фенол екстрагують діетиловим етером.

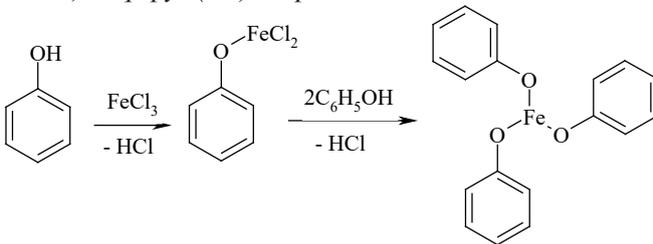
### 1. Реакція з бромною водою:



*Оцінка реакції:* попередня, найбільш чутлива, але неспецифічна (реакцію дають анілін, кислота саліцилова, ароматичні аміни та ін.). Цією реакцією виявляють ендogenous фенол, що утворюється в кишечнику під дією бактерій, особливо при аналізі об'єктів, які знаходяться на стадії гниття.

Судово-хімічне значення реакції має негативний результат.

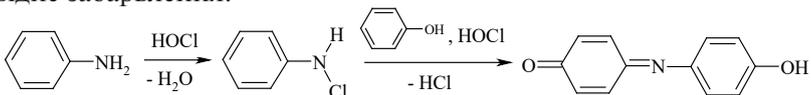
### 2. Реакція з ферум(III) хлоридом:



Спостерігається синій колір розчину.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, менш чутлива, ніж реакція з бромною водою. Специфічна для фенольного гідроксилу.

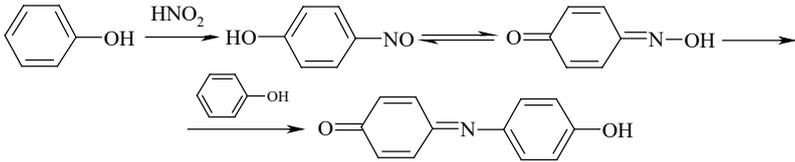
3. *Індифенолова реакція.* При окисненні суміші фенолів і амінів (у т. ч. й амоніаку) утворюються індифеноли, які мають відповідне забарвлення:



Спостерігається синє забарвлення розчину.

*Оцінка реакції:* неспецифічна, підтверджуюча.

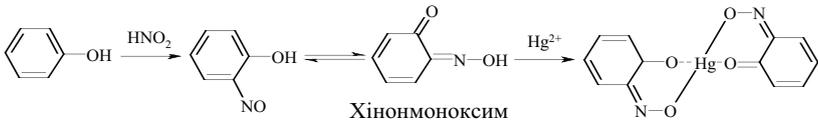
4. *Реакція Лібермана.* Ця реакція також базується на утворенні індофенолу. Результатом взаємодії натрій нітриту і кислоти сульфатної є кислота нітритна, яка з фенолом утворює *n*-нітрозифенол, продуктом ізомеризації якого є *n*-хіноїдоксим. При взаємодії *n*-хіноїдоксиму з надлишком фенолу утворюється індофенол:



Спостерігається синє забарвлення, яке переходить у червоне, а потім зелене.

*Оцінка реакції:* неспецифічна, підтверджуюча.

5. *Реакція з реактивом Міллона* (суміш нітратів ртутію одно- і двоцвалентного, що містить кислоту нітритну).



Спостерігається червоне або оранжеве забарвлення. При малих кількостях фенолів виникає жовте забарвлення. Нагрівання прискорює цю реакцію.

*Оцінка реакції:* підтверджуюча, неспецифічна.

**Кількісне визначення фенолу** — броматометричне титрування.

#### 4.3.9. КИСЛОТА АЦЕТАТНА

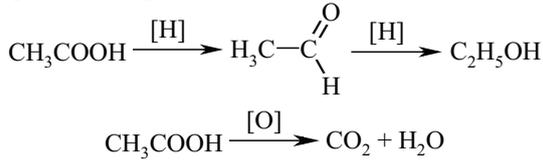
**Фізико-хімічні властивості.**  $\text{CH}_3\text{COOH}$  — безводна (льодяна) кислота оцтова (ацетатна) — безбарвна рідина з характерним різким запахом. Змішується у будь-яких співвідношеннях з водою, спиртом, етером, хлороформом та іншими органічними розчинниками.

**Застосування.** Використовується кислота ацетатна в синтезі барвників, харчовій промисловості і побуті. Харчова промисловість випускає оцтову есенцію (40 % ацетатна кислота та 80 % ацетатна кислота), столовий оцет (5–9 % розчин кислоти ацетатної). Концентрована кислота ацетатна — це 95,5 % кислота (льодяна), яка кристалізується при температурі нижче ніж 16,6 °С.

**Поведінка в організмі.** Основний шлях надходження кислоти ацетатної до організму — через рот, але існує можливість

попадання через дихальні шляхи і шкіру (при накладенні пов'язок, змочених концентрованими розчинами). Виводиться з організму з сечею та повітрям, що видихається.

**Метаболізм.** Метаболітом кислоти ацетатної є ацетальдегід, який частково перетворюється на спирт етиловий і розкладається з утворенням карбон(IV) оксиду і води.



**Токсична дія та симптоми отруєння.** Отруєння припікаючими рідинами, в основному оцтовою есенцією, складає значну частину від загальної кількості гострих отруєнь. Це пояснюється її доступністю. В основному отруєння носять суїцидальний характер. Кислота ацетатна викликає коагуляцію білків, руйнує клітинні мембрани, викликає гемоліз еритроцитів (розщеплення гемоглобіну). За вибірковою токсичністю кислота ацетатна належить до кров'яних отрут, дуже сильно уражаються печінка та нирки. *Симптоми гострих отруєнь:* на 1–5 добу опік слизової оболонки травного тракту; при інгаляції кислота ацетатна викликає бронхопневмонію, подразнення очей, кров'яне блювання з характерним запахом, сильний пронос та болі у животі, забарвлення сечі у бурій колір. *Симптоми хронічних отруєнь:* руйнування емалі зубів, припухлість повік, слизових оболонок. *Смертельні дози:* кислоти ацетатної — 10–20 г, оцту столового — 200–300 мл, ГДК — 300 мг/м<sup>3</sup>.

**Невідкладна допомога при отруєннях.** Промивання шлунка водою через товстий зонд, змащений вазеліновою олією (8–10 л холодної води). Особливо важливо це зробити протягом перших 6 год після отруєння. Викликання блювоти небезпечно, тому що повторне проходження кислоти стравоходом лише підвищує ступінь його опіку. Застосування розчину натрій гідрокарбонату недопустиме — це викликає гостре розширення шлунка внаслідок утворення CO<sub>2</sub> і посилення кровотечі. Як нейтралізуючий засіб можна використовувати магній сульфат або альмагель з наступним промиванням шлунка, також дають молоко та яєчний білок. При попаданні кислоти ацетатної на шкіру її змивають водою.

**Профілактика отруєнь.** При роботі з кислотою ацетатною необхідно користуватися рукавичками і всі роботи проводити під витяжною шафою; також необхідно дотримуватися правил зберігання кислоти ацетатної.

## Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* нирки, шлунок зі вмістом, легені, печінка.

Хіміко-токсикологічний аналіз кислоти ацетатної проводять при спеціальних завданнях. При дослідженні свіжого біологічного матеріалу і кислій реакції об'єкта кислоту ацетатну ізолюють дистиляцією з водяною парою. На кислоту ацетатну виконують цілеспрямований аналіз.

*Особливості ізолювання:* аналіз спрямований, тому біологічний матеріал підкислюють розчином кислот сульфатної або фосфатної. Ацетатна кислота летка, тому її збирають у приймач, який вміщує 0,1 М розчин натрій гідроксиду. Дистилят потім ділять на дві частини: одну частину досліджують якісними реакціями, а в другій надлишок NaOH відтитрують кислотою і визначають кількість кислоти ацетатної.

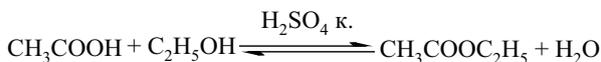
### 1. Реакція з ферум(III) хлоридом:



Спостерігається червоне забарвлення.

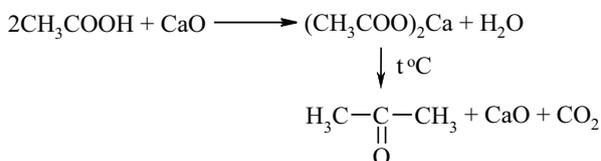
*Оцінка реакції:* попередня, неспецифічна, чутлива.

2. Реакція утворення етилового естеру кислоти ацетатної — відчувається характерний запах (яблучної есенції).

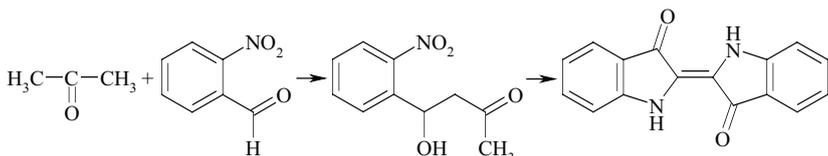


*Оцінка реакції:* підтверджуюча, специфічна, чутлива.

3. Реакція утворення індиго — підтверджуюча, неспецифічна.



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



*Оцінка реакції:* підтверджуюча, неспецифічна, чутлива.

**Кількісне визначення кислоти ацетатної** — титриметричний метод.

#### 4.3.10. ЕТИЛЕНГЛІКОЛЬ

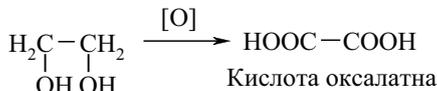


**Фізико-хімічні властивості.** Етиленгліколь є представником двохатомних спиртів. Це безбарвна оліїста рідина без запаху, солодкувата на смак, добре розчинна у воді та погано — в органічних розчинниках (діетиловий етер, бензен, хлороформ). Етиленгліколь — нелетка сполука, має низьку температуру замерзання ( $-65^\circ\text{C}$ ).

**Застосування.** Етиленгліколь використовується в фармацевтичній, тютюновій, шкіряній, текстильній промисловості, як розчинник в органічному синтезі, а частіше всього як складова частина антифризу.

**Поведінка в організмі.** Етиленгліколь може потрапляти до організму через травний канал і шкіру. У зв'язку з малою леткістю етиленгліколю лише незначні кількості його можуть надходити в організм з повітрям, що вдихається. Виводиться з організму з сечею у вигляді нативної речовини (20–30 %) та продуктів метаболізму.

**Метаболізм.** Близько 60 % окиснюється у печінці під дією алкогольдегідрогенази. При цьому утворюються продукти метаболізму, що більш токсичні, ніж етиленгліколь, наприклад, кислота оксалатна, яка може бути причиною ушкодження нирок внаслідок відкладання оксалатів у ниркових каналцях:



Процес метаболізму складний, включає багатоетапне окиснення:



**Токсична дія та симптоми отруєння.** За вибірковою токсичністю етиленгліколь відносять, перш за все, до ниркових (ушкодження нирок за рахунок відкладання в них оксалатів) та печінкових отрут, у важких випадках отруєнь можливе ураження нервових клітин ЦНС (нейротоксична дія). Симптоми отруєння: можливий гострий біль у животі, який пов'язаний з прогресуючим набряком нирок. *Смертельна доза:* за різними

даними — від 25–30 мл до 100 мл. Основні причини отруєнь етиленгліколем пов'язані з помилковим вживанням замість звичайних напоїв або спробами використовувати замість етилового алкоголю.

Розрізняють три періоди інтоксикації:

- *початковий* (триває 12 год) — переважають симптоми ураження ЦНС за типом алкогольного сп'яніння;

- *нейротоксичний* — прогресують симптоми ураження ЦНС і приєднуються порушення функцій дихання і серцево-судинної системи. Основні симптоми при цьому: втрата свідомості, судоми, глибоке голосне дихання, гостра серцево-судинна недостатність;

- *нефротоксичний* — на 2–5 добу у клінічній картині інтоксикації переважають симптоми ураження печінки та нирок.

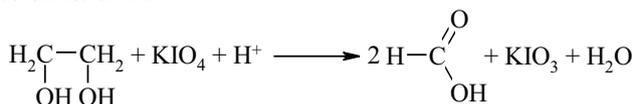
**Невідкладна допомога при отруєннях.** Промивання шлунка, викликання блювоти. Антидот — спирт етиловий, який уповільнює швидкість окиснення етиленгліколю (перша — друга доба: 30 % розчин етанолу всередину по 50 мл через кожні 3 год). *Засоби профілактики:* чіткий облік використання спиртів, суворе зберігання та боротьба з пияцтвом, проведення роз'яснювальної роботи.

### Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* мозок, печінка; нирки, сеча, шлунок зі вмістом, рідини, що містять етиленгліколь.

Особливість спрямованого *ізолювання* з біологічного матеріалу — використання бензену як селективного переносника етиленгліколю при перегонці з водяною парою. Збирають дистилят об'ємом не менше 500 мл. Дистилят розділяється на два шари: верхній — бензен, нижній — етиленгліколь з водою.

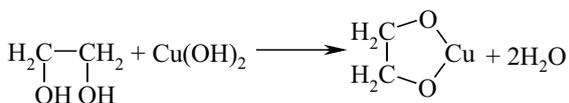
1. *Реакція окиснення етиленгліколю до формальдегіду з подальшим його виявленням:*



Формальдегід, який утворився в результаті реакції, виявляють при проведенні реакції з кислотою фуксинсірчистою. При цьому розчин набуває бузкового забарвлення.

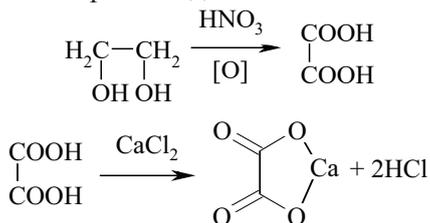
*Оцінка реакції:* попередня, чутлива, неспецифічна.

2. *Реакція з купрум сульфатом* — підтверджуюча, неспецифічна. Спостерігається сине забарвлення розчину завдяки утворенню купрум гліколяту:



Цю реакцію застосовують для дослідження етиленгліколю в технічних рідинах.

3. *Реакція окиснення етиленгліколю до кислоти оксалатної* — підтверджуюча, специфічна. Спостерігається утворення кристалів кальцій оксалату характерної форми. Кристали в деяких випадках з'являються через 2–3 доби.



**Кількісне визначення етиленгліколю:**

- *газо-рідинна хроматографія* (за висотою або площею хроматографічного піку);
- *колориметричний метод* (базується на окисненні до формальдегіду та виявленні формальдегіду за реакцією з кислотою фуксинсірчистою).

**4.3.11. ТЕТРАЕТИЛСВИНЕЦЬ**

**Фізико-хімічні властивості.** Тетраетилсвинець (ТЕС) —  $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$  — прозора безбарвна рідина, що має подразнювальний запах. Дуже розбавлені розчини ТЕС мають приємний фруктовий запах. Майже не розчиняється у воді, легко розчиняється у бензині, етері, хлороформі, спирті, жирах, оліях. Легко розкладається під впливом нагрівання та сонячних променів до неорганічних солей плюмбуму. Тетраетилсвинець горить на повітрі, утворюючи жовтувато-білий дим.

**Застосування.** ТЕС становить понад 50 % так званої етилової рідини, яку додають до бензину як антидетонатор.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Дуже токсичний, надходить через рот, органи дихання, шкіру, уражає нервову систему, викликає головний біль, безсоння, розлад зору, судоми. Смерть настає протягом перших 2–5 діб після гострого отруєння. Якщо постраждалий залишився живим, пізніше виявляються ознаки хронічного отруєння плюмбумом.

## Хіміко-токсикологічний аналіз

Особливість *спрямованого ізолювання* — після перегонки з водяною парою тетраетилсвинець збирають у приймач зі спиртовим розчином йоду.



Потім рідину упарюють до сухого залишку, який розчиняють у кислоті нітратній.



Розчин знову упарюють, сухий залишок розчиняють у воді й досліджують на наявність іонів плюмбуму реакціями утворення *плюмбум дитизонату*; *плюмбум сульфату*, *плюмбум йодиду*, *плюмбум хромату*, *плюмбум сульфід*у.

При аналізі харчових продуктів, одягу, рослинної сировини на наявність тетраетилсвинцю з цих об'єктів його ізолюють настоюванням з органічними розчинниками.

**Кількісне визначення тетраетилсвинцю** — екстракційно-фотометричний метод (базується на реакції з дитизоном).

## 4.4. ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ГАЗО-РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛЕТКИХ РЕЧОВИН

### 4.4.1. МЕТОД ГАЗО-РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Газо-рідинна хроматографія є одним із ефективних методів аналізу при проведенні досліджень на леткі речовини. Метод використовується для розділення складних сумішей речовин на окремі компоненти, а також для ідентифікації та якісного аналізу розділених речовин.

**Газова хроматографія** — це метод, що базується на розділенні летких сполук між двома фазами — *рухомою і нерухомою*. Рухома фаза — газ-носіє; нерухома — сорбент з великою поверхнею або рідина, нанесена на шар сорбенту-носія.

Якщо нерухома фаза — твердий сорбент, а рухома — газ, то метод — *газо-абсорбційна хроматографія*; а якщо нерухомою фазою є рідина, то метод називається *газо-рідинна хроматографія*.

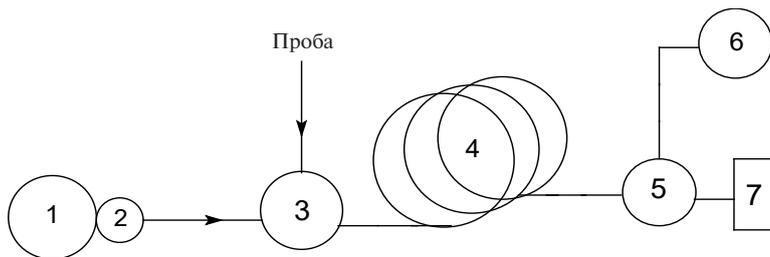
Однією з головних умов використання цього методу є леткість сполук при температурі випаровувача. У багатьох методах рекомендують досліджувати речовини переводити в легколеткі сполуки шляхом їх дериватизації.

### *Переваги методу газо-рідинної хроматографії:*

- висока чіткість розділення речовин;
- можливість одночасно виявити отруту і визначити її кількісний вміст у суміші;
- робота з малою кількістю речовини, тобто висока чутливість методу;
- висока швидкість аналізу (хвилини, секунди);
- повна автоматизація аналізу.

#### **4.4.2. ОСНОВНІ ВУЗЛИ ГАЗОВОГО ХРОМАТОГРАФА**

Аналіз летких речовин здійснюють за допомогою газового хроматографа (рис. 4.1).



**Рис. 4.1. Схема газового хроматографа:**

- 1 — балон з газом-носієм; 2 — регулятор витрати газу (редуктор);  
3 — місце вводу проби (дозатор); 4 — колонка; 5 — детектор; 6 — електронний перетворювач сигналу; 7 — самописець

*Система газозабезпечення.* Сюди відносять сталеві балони з газами, компресори, регулятори тиску та регулятори витрати газів.

Газ-носіє має надходити в колонку з постійною швидкістю, що забезпечує постійний час утримання аналізованої речовини. Найчастіше як газ-носіє використовують гелій, водень, азот. Він має бути інертним, легкодоступним, недорогим, чистим, відповідати виду застосовуваного детектора.

*Дозатор* — місце вводу проби, яку досліджують. Система контролює введення точної кількості проби в потік газу-носія.

*Введення проби в колонку* здійснюється з використанням різних систем: інжектора, випаровувача або дозатора.

Дозатори розрізняють залежно від агрегатного стану проби (газоподібний, рідкий, твердий). Для введення газоподібних проб використовують газощільний шприц або дозуючий кран. Дозуючий кран складається з каліброваного циліндра, поршня

та голки, він забезпечує відтворюваність дозування у межах від 1 до 5 %. Шприц — більш гнучкий і простий інструмент, ніж дозуючий кран, однак останній забезпечує більшу відтворюваність дозування.

Введення рідких проб здійснюють за допомогою мікрошприца.

*Колонка* — головна складова частина хроматографа, в ній відбувається розділення суміші, яку аналізують, на її компоненти між рухомою та нерухомою фазами. Хроматографічна колонка заповнюється нерухомою рідкою фазою, нанесеною на твердий носій. Чим більша її довжина, тим краще йде розподіл суміші; чим менший її діаметр, тим вища її ефективність. Колонки, які використовують на практиці, поділяються на дві основні групи: *набивні та капілярні*.

У газо-рідинній хроматографії використовуються колонки, які відрізняються:

- *за формою*: прямі (найтефективніші), спіралеподібні та U-подібні;

- *довжиною*: від 0,5 до 20 м;

- *діаметром*: від 2 до 6 мм;

- *матеріалом*: виготовляються зі сталі, скла, міді, нікелю.

*Набивні колонки* являють собою порожнисті трубки, заповнені адсорбентом або інертним носієм, на який нанесена рідка фаза. Колонки, які використовуються в хіміко-токсикологічному аналізі, різняться за довжиною і внутрішнім діаметром, природою і розмірами частинок інертного наповнювача, за матеріалом, з якого вони виготовлені, кількістю і природою нерухої фази. Ці характеристики колонки визначають ефективність колонки, а остання контролює селективність. Ефективність колонок не залежить від внутрішнього діаметра. Набивні колонки фактично вже витіснені з практики хіміко-токсикологічного аналізу капілярними колонками. Нині вони використовуються при проведенні кількісного визначення етилового спирту в біологічних рідинах етилітритним методом і при дослідженні низькомолекулярних органічних речовин.

*Капілярні колонки* мають значну міцність, гнучкість, інертність. Головними властивостями для цього типу колонок є їх довжина і внутрішній діаметр, товщина нерухої фази, нанесеної на внутрішню поверхню колонки. У порівнянні з набивними колонками капілярні колонки забезпечують високу швидкість проведення аналізу.

У колонці відбувається розподіл компонентів досліджуваної суміші. Він залежить від величини коефіцієнтів розподілу

речовин між рухомою і нерухомою фазами, а також від ефективності колонки. Ефективність колонки виражається числом теоретичних тарілок. Під терміном «теоретичні тарілки» розуміють кількість теоретичних ступенів, на яких встановлюється рівновага між рухомою і нерухомою фазами. Чим більше таких ступенів на одиницю довжини колонки, тим краще відбувається розподіл речовин. З колонки розділені речовини надходять на *детектор*.

*Сорбент-носії*, яким заповнюють колонку (сфероохром, силікагель, окис алюмінію, активоване вугілля), повинен бути інертним, мати велику поверхню та однорідні за формою і однакові за розміром частинки.

*Рідка фаза* має бути схожа за хімічними властивостями на речовини в суміші. Не існує безпомилкового методу вибору найкращої рідкої фази для даних сумішей; її знаходять експериментально у ході аналізу.

*Приклад*: вуглеводні краще розділяти на вуглеводнях; парафіни та полярні сполуки — на полярній рідкій фазі.

На сьогодні використовують колонки з невеликою кількістю рідкої фази (від 2–10 %), що забезпечує високу швидкість аналізу.

*Приклад*: речовини з низькою леткістю краще розділяти в невеликій кількості рідкої фази — 4 % і менше; для сполук з високою леткістю необхідно використовувати 20–40 % рідкої фази, тому що розчинність їх мала.

*Детектор*. Призначення детектора полягає в тому, щоб виявити речовини на виході з колонки в газі-носії і перетворити хімічний аналіз в електричний сигнал, що виражається появою різниці потенціалів, який одночасно записує самописець у вигляді піків на діаграмній стрічці. У результаті аналізу одержують хроматограму — графічне відображення процесу поділу суміші на індивідуальні речовини.

Вимоги до детектора:

- висока чутливість;
- величина сигналу має вимірюватися пропорційно зміні концентрації компонента, що визначається в рухомій фазі;
- робочий об'єм має бути якомога меншим, щоб виключити додаткове розмивання піків у детекторі.

Детектори бувають інтегральні та диференціальні. Інтегральні детектори реєструють зміну в часі сумарної кількості всіх компонентів, диференціальні — вимірюють миттєву концентрацію компонентів. Диференціальні детектори зручніші та точніші

у використанні. Основні типи детекторів, які використовують у газовій хроматографії: за теплопровідністю (катарометр, ДТП), полуменево-іонізаційний детектор (ПІД або ДІП), детектор електронного захоплення (ДЕЗ), термоіонний (ТІД), фотоіонізаційний детектор (ФІД), мас-спектрометричний.

Робота *детектора за теплопровідністю* (катарометр, ДТП) базується на тому, що нагріте тіло втрачає тепло зі швидкістю, яка залежить від складу газу. Тепловіддача нитки детектора змінюється, тому що різні за молекулярною масою молекули речовин рухаються з різною швидкістю, після удару об гарячу нитку їх швидкість буде по-різному збільшуватися за рахунок відібраного тепла. Чим менша молекулярна маса речовини, тим більша швидкість і тим більшою буде тепловіддача нитки в цьому газі. Зміна температури нитки детектора супроводжується зміною опору нитки і появою стрибка різниці потенціалів.

*Полуменево-іонізаційний детектор* (ПІД або ДІП) — в основі принципу його дії лежить вимірювання струму, що виникає при іонізації молекул органічних речовин в полум'ї гідрогену. При горінні чистого гідрогену іони майже не утворюються, тому електропровідність гідрогенного полум'я дуже низька. Органічні речовини, що згоряють в полум'ї гідрогену, утворюють іони або радикали. Поява заряджених частинок обумовлює електропровідність полум'я. Збільшення електропровідності підвищує силу іонного струму, яка відображається на хроматограмі у вигляді піку.

Селективним і чутливим детектором для визначення галогенвмісних сполук є *детектор електронного захоплення* (ДЕЗ). До детектора входить радіоактивне джерело  $\beta$ -частинок, які іонізують молекули газу-носія з утворенням іонів та теплових електронів, що формують електричний струм у камері детектора. Принцип дії цього детектора базується на зменшенні провідності, що викликається захопленням електронів речовиною, яка містить атоми з високою електронегативністю.

*Термоіонний детектор* (ТІД) є модифікацією полуменево-іонізаційного детектора, він є селективним до нітроген- та фосфорвмісних сполук. Особливість термоіонного детектора полягає в тому, що поблизу гідрогенного полум'я пальника поміщають сіль лужного металу (кулька, що містить бромід рубідію). Нагріта сіль атомізується і при цьому утворюються атоми рубідію. Вони дисоціюють на іони і електрони, які потрапляють в електричне поле. У присутності сполуки, що містить галоген, нітроген або

фосфор, іонний струм зростає, тобто відбувається селективне підвищення ефективності іонізації сполук, які містять атоми нітрогену і фосфору. До їх числа входять деякі пестициди — гербіциди, інсектициди та фунгіциди.

Принцип дії *фотоіонізаційного детектора* (ФІД) полягає в іонізації молекул, які елюються з хроматографічної колонки під дією вакуумного УФ-випромінювання, і вимірюванні іонного струму, що виникає. Змінюючи енергію випромінювання, можна варіювати чутливістю детектування сполук різних класів. Особливо низька межа виявлення у ФІД для ароматичних вуглеводнів (при використанні лампи з енергією 10,2 еВ). Позитивною особливістю ФІД є те, що він не руйнує сполуки, які детектує, і його можна використовувати в комбінації з іншими детекторами для більш надійної ідентифікації складних сумішей.

Найбільш інформативним і чутливим детектором, який використовується в газовій хроматографії, є *мас-спектрометричний*. Принцип його дії базується на тому, що при іонізації молекули у вакуумі утворюється група характеристичних іонів. Число іонів, які утворюються, пропорційне кількості речовини, яка надходить. Реєструється зміна повного іонного струму, який пропорційний числу іонів. Одночасно із записом хроматограми (залежності повного іонного струму від часу) у будь-якій її точці, зазвичай на вершині хроматографічного піку, може бути зареєстрований мас-спектр (залежність інтенсивності іонного струму від маси іона). Мас-спектрометр, на відміну від інших спектроскопічних детекторів, реєструє частинки речовини, вимірює їх масу, правильніше, відношення маси до заряду. Таким чином, мас-спектрометричний детектор можна розглядати як універсальний детектор, який дозволяє визначити склад аналізованої суміші та ідентифікувати компоненти, що розділяються.

До сучасного хроматографа підключений обчислюваний пристрій, за допомогою якого розраховують концентрації компонентів у суміші за площами чи за висотами піків з автоматичним введенням поправок на чутливість детектора. Широке застосування знаходять мікропроцесори, що реалізують функції керування роботою хроматографа й обробки хроматографічного сигналу (наприклад, розрахунок індексів утримання і концентрації компонентів суміші).

*Система реєстрації сигналів* — сукупність приладів (самописці, потенціометри, електронні обчислювальні пристрої та ін.) для реєстрації результатів хроматографічного процесу. Система

приймає, опрацьовує та реєструє сигнали детектора і за цими результатами записує хроматограму.

Таким чином, хроматографічний процес є послідовним процесом. При введенні проби у хроматографічний колонці проходить розділення суміші, що супроводжується детектуванням кожного компонента і записуванням хроматограми.

*Хроматограма* — це графічне відображення залежності величини концентрації компонентів суміші на виході з колонки від часу. Вона складається із базової (нульової) лінії та піків.

*Базова лінія* відповідає проміжку часу, протягом якого детектор реєструє сигнал тільки від рухомої фази (газу-носія). *Пік* — крива, яка описує залежність величини сигналу від концентрації речовини на виході з колонки. На кривій розподілу кожному піку характерні свої параметри:

- висота піку — відстань від вершини піку до його основи;
- площа піку — площа, яка знаходиться між контуром піку та його основою;
- основа піку — відрізок нульової лінії між його крайніми точками.

На початку хроматограми інколи реєструється пік, природа якого пов'язана з короткочасним порушенням рівноваги в колонці при введенні проби.

#### ***Основні завдання якісного аналізу:***

- ідентифікація індивідуальних сполук або компонентів;
- віднесення піків на хроматограмі до тієї чи іншої сполуки при дослідженні сумішей;
- визначення групової приналежності речовин, що містяться у досліджуваному зразку.

#### ***Якісні характеристики газо-рідинної хроматографії:***

- *час утримування* — час від моменту введення проби в хроматограф до появи максимальної точки піку на хроматограмі;
- *відносний час утримування* — відношення часу утримування досліджуваної речовини до часу утримування стандартної речовини;
- *об'єм утримування* визначають шляхом множення часу утримування на об'ємну швидкість газу-носія;
- *відносний об'єм утримування* визначають у присутності стандартної речовини шляхом розділення знайденого часу утримування компонентів на час утримування стандартної речовини після вирахування часу утримування інертного газу-носія з обох значень часу утримування;

• *питомий утримуваний об'єм* — це об'єм утримування на 1 г нерухомої рідкої фази. Вказана величина є константою і більш надійна для ідентифікації;

• *індекс утримування ( $I$ )* — пропорційний логарифму питомого обсягу утримування. Індекс утримування — більш відтворена величина для досліджуваної речовини, ніж відносний об'єм утримування. Цей індекс був запропонований Ковачем у 1958 р. Він базується на логарифмічній шкалі, в якій нормальні парафіни мають значення індексів утримування, що в 100 разів перевищують число атомів карбону в їх молекулі. Наприклад: для етану, пропану, *n*-бутану відповідно 200, 300, 400. Тому величини  $I/100$  розглядають як число атомів карбону в *n*-парафіні, який визначився би в речовині, що нас цікавить.

**Кількісний вміст речовин** визначається за розміром піків за такими параметрами: *за висотою піку ( $h$ )* — це найшвидший і зручний спосіб розрахунку; *площею піку ( $S$ )*; *масою піків* — методика точна, але тривала, оскільки має значення товщина паперу та його вологість; зручна, якщо піки не рівносторонні.

Кількісно хроматограми можна оцінити безпосередньо або за допомогою деяких видів градування приладів. Градування може бути прямим (метод абсолютного градування), непрямим (метод внутрішньої нормалізації) та внутрішнього калібрування (метод внутрішнього стандарту, метод стандартної добавки).

1. *Метод внутрішньої нормалізації* застосовується в тому випадку, коли всі компоненти суміші з колонки повністю елюються та рееструються. На хроматограмі сума площ усіх піків приймається за 100 %.

2. *Метод абсолютного градування* полягає в побудові графічної залежності одного з кількісних параметрів хроматографічного піку (висоти або площі) від концентрації речовини в пробі.

3. *Метод внутрішнього стандарту* — це метод, у якому як стандарт використовується стороння речовина. До внутрішнього стандарту висувають певні вимоги: стандартна речовина не повинна реагувати з компонентами проби, за хімічними властивостями бути близькою до досліджуваної речовини; з'являтися у вигляді окремого піку; мати час утримування, близький до досліджуваної речовини.

Цей метод є зручним для кількісної характеристики хроматограм. Розраховувати концентрацію досліджуваної речовини можна двома способами: за формулою та калібрувальним графіком.

Розрахунок концентрації за формулою:

$$C_1(\%) = \frac{f_i \cdot P_i \cdot q_i}{f_s \cdot P_s \cdot q_{\text{test}}},$$

де  $f_i$  і  $f_s$  — коефіцієнти поправки до площі піків компонента, що визначається, і внутрішнього стандарту, які залежать від чутливості детектора;

$P_s$  і  $P_i$  — параметри хроматографічних піків (площа, висота) внутрішнього стандарту і компонента, що визначається;

$q_i$  і  $q_{\text{test}}$  — кількості (г, моль, мл) стандартної речовини та суміші, які аналізують (без стандарту).

Коефіцієнт поправки для внутрішнього стандарту  $f_s$  приймається за 1,0. А поправочний коефіцієнт для досліджуваної речовини  $f_i$  може бути відомий з літератури.

Якщо коефіцієнт поправки невідомий ( $f_i$ ), тоді хроматографують суміші досліджуваної і стандартної речовини. На основі отриманих даних будують калібрувальний графік.

4. У методі стандартної добавки як стандарт застосовується речовина із досліджуваних компонентів.

5. Метод зовнішнього градування базується на хроматографуванні та визначенні кількісних параметрів хроматографічних піків (висота, площа) стандартної речовини або суміші калібрувальних речовин. Потім хроматографують досліджувану суміш, а отримані параметри (висота, площа) порівнюють з концентрацією чи кількістю стандартних речовин на попередній хроматограмі.

#### **4.4.3. ЯКІСНИЙ І КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ АЛІФАТИЧНИХ СПИРТІВ МЕТОДОМ ГАЗО-РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ**

Система газохроматографічного дослідження на наявність алкоголю і розчинників (аліфатичні спирти  $C_{1-35}$ ) складається з двох етапів.

На першому етапі проводять дослідження на аліфатичні спирти після проведення реакції етерифікації кислотою нітритною безпосередньо в досліджуваній пробі. Чутливість методу при використанні катарометра складає 0,005 % алкоголю в досліджуваній пробі.

На другому етапі проводять газохроматографічне розділення парогазової фази на двох рівнобіжних колонках з селективними нерухомими фазами різної полярності. Селективність методу підвищується модифікацією твердого носія шаром металічного аргентуму. Аналіз речовин здійснюється за наявністю піків

на хроматограмі, які відповідають речовинам. Приклад: аналіз спиртів методом газо-рідинної хроматографії.

**Виявлення спиртів.** Принцип методу складається в дериватизації спиртів у ході реакції ідентифікації з використанням натрій нітриту у присутності кислоти трихлорацетатної з подальшим розділенням та кількісним визначенням отриманих алкілнітритів методом газо-рідинної хроматографії:



Алкілнітрити, що утворилися, перебувають у вигляді газу над рідиною, їх вводять у газовий хроматограф і здійснюють хроматографування.

Спирти  $\text{C}_1\text{--C}_5$  виявляють за часом утримання їх естерів.

*Умови хроматографічного аналізу спиртів:*

- хроматограф із детектором-катарометром;
- металева колонка довжиною 100 см, діаметром 0,6 см;
- твердий носій: сферохром, хезасорб або інші носії;
- нерухома рідка фаза: поліетиленгліколь ( $M = 1000\text{--}1500$ ), нанесений на твердий носій у кількості 12 %, або розчин вініліну у хлороформі (20 %);

- температура термостатів колонки й детектора 75 °С, температура дозатора — кімнатна;

- рухома фаза: газ-носіє — технічний нітроген, який пропускають через хроматографічну колонку зі швидкістю 50–60 мл/хв;

- струм детектора: 60–100 мА;

- швидкість руху діаграмної стрічки: 720 мм/год.

**Ідентифікація** проводиться при зіставленні отриманого піку зі стандартною сумішшю спиртів  $\text{C}_1\text{--C}_5$  (від метанолу до амілового спирту). Спирти виходять на хроматограмі у порядку збільшення їх молекулярної ваги.

Суміш етилнітриту й пропілнітриту вводять у дозатор хроматографа і здійснюють хроматографування. При цьому на хроматограмі з'являються два піки, один із них відповідає спирту етилового (етилнітриту), другий — спирту пропілового (пропілнітриту). Потім обчислюють відношення площі або висоти піку етилнітриту до площі або висоти піку пропілнітриту. Розрахунок кількісного вмісту спирту етилового в крові і сечі (г/л) здійснюють за калібрувальним графіком. При визначенні спирту етилового в крові знайдену за калібрувальним графіком концентрацію цього спирту множать на 0,95; у сечі знайдену концентрацію спирту етилового множать на 1,05.

Мета запровадження стандарту — збільшити точність аналізу, можливість зменшити помилку визначення.

## РОЗДІЛ 5

# ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ПЕСТИЦИДІВ

### 5.1. ЗАГАЛЬНЕ ПОНЯТТЯ ПРО ПЕСТИЦИДИ. ТОКСИКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПЕСТИЦИДІВ. НЕГАТИВНІ ЧИННИКИ ВПЛИВУ ПЕСТИЦИДІВ НА ЛЮДИНУ І ДОВКІЛЛЯ

Термін «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.

Без використання хімічних засобів захисту рослин від шкідників, хвороб та бур'янів неможливе отримання високого та стабільного урожаю майже всіх рослинних культур. Для його збереження велике значення має і використання регуляторів росту рослин (для запобігання поляганню різних культур, захисту від заморозків, засухи, для зниження затрат праці при збиранні урожаю). Широке застосування пестицидів у Західній Європі за останні 25 років дозволило підвищити урожайність зернових культур більше ніж удвічі. За підрахунками спеціалістів, своєчасне проведення заходів щодо захисту рослин дозволяє зберегти з кожного гектара до 2–3 ц зерна, не менше 5 ц рису.

Нині асортимент засобів, які використовуються у сільському господарстві, нараховує декілька сотень сполук, які випускаються у вигляді тисяч препаративних форм.

Застосування пестицидів сприяє подоланню таких захворювань, як малярія, черевний тиф, енцефаліт та ін.

**Токсикологічне значення** пестицидів обумовлено тим, що вони діють негативно не тільки на шкідливих комах, рослини, але й чинять негативну дію також і на корисних комах, культурні рослини, домашніх тварин та людину. Побічний ефект

використання пестицидів виявляється і в забрудненні довкілля, в їх часті у створенні «токсичної» ситуації, деякі накопичуються в навколишньому середовищі, маючи високу стійкість, порушують екологічну рівновагу. З хімізацією сільського господарства пов'язане виникнення хронічних інтоксикацій пестицидами.

У 1939 р. швейцарський біохімік П. Мюллер випадково синтезував один із найактивніших інсектицидів — дихлордифенілтрихлорметилметан (ДДТ). Оброблена ним 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 у ґрунті, живих істотах, що населяють землю. ДДТ зберігається у навколишньому середовищі понад 10 років. Проник ДДТ і в організм людини. Стали з'являтися стійкі до ДДТ побутові шкідники.

В усьому світі зафіксовані випадки гострих і хронічних отруень токсичними естерами фосфорних кислот, тобто органічними сполуками, що містять фосфор. Відзначено випадки смертельних отруень хлорофосом, карбофосом, трихлорметафосом, фосфамідом і багатьма іншими пестицидами.

*Основними причинами гострих отруень пестицидами можуть бути:*

- неправильне зберігання;
- використання у завищених концентраціях;
- помилкове використання з метою самолікування шкірних захворювань (сверблячка, педикульоз);
- випадковий прийом всередину;
- використання з метою самогубства.

## **5.2. КЛАСИФІКАЦІЯ ПЕСТИЦИДІВ**

В основу класифікації пестицидів покладено різні критерії: призначення, характер проникнення до організму, хімічна структура, токсичність, стійкість в навколишньому середовищі.

***Класифікація за призначенням:***

- інсектициди (знищують шкідливих комах);
- фунгіциди (для боротьби з грибами);
- зооциди (для боротьби з гризунами);
- акарициди (для боротьби з кліщами);
- нематоциди (для боротьби з круглими червами);
- бактерициди (для боротьби з бактеріями);

- гербіциди (для боротьби з бур'янами);
- регулятори росту та ін.

**Класифікація за характером проникнення до організму:**

- контактні (проявляють дію після контакту з будь-якою частиною тіла комах або частиною рослин);
- системні (проникають до судинної системи рослин, ШКТ комах);
- дихальні (фуміганти) інсектициди;
- кишкові інсектициди.

**За токсичністю** пестициди поділяються:

- на особливо токсичні:  $DL_{50}$  до 50 мг/кг;
- високотоксичні:  $DL_{50}$  до 50–200 мг/кг;
- середньотоксичні:  $DL_{50}$  200–1000 мг/кг;
- малотоксичні:  $DL_{50}$  більш 1000 мг/кг.

**За стійкістю** у зовнішньому середовищі пестициди бувають:

- дуже стійкі (період розкладання понад 2 роки);
- стійкі (період розкладання 6 міс. — 1 рік);
- помірно стійкі (період розкладання 1–6 місяців);
- малостійкі (період розкладання — 1 місяць).

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

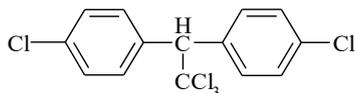
Органічні, у свою чергу, поділяють на сполуки, що містять фосфор (ФОС), хлорорганічні (ХОС), похідні кислоти карбамінової, металоорганічні пестициди, наприклад, меркурійорганічні (МОС), пестициди на основі природних сполук (піретроїди), похідні біпіридилу та ін.

Для хіміко-токсикологічного аналізу найбільш зручною є класифікація пестицидів за хімічною будовою.

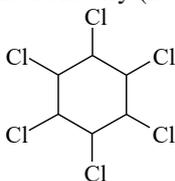
### 5.3. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ, ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ПОВЕДІНКИ В ОРГАНІЗМІ, ТОКСИЧНА ДІЯ ХЛОРОРГАНІЧНИХ ПЕСТИЦИДІВ НА ОРГАНІЗМ

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

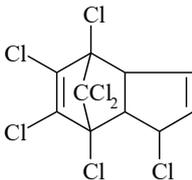
- група дихлордифенілтрихлорметилметану (ДДТ):



- група гексахлорциклогексану (ГХЦГ) (гексахлорану):



- група поліхлорциклодієнів:



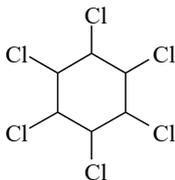
Гептахлор

**Фізико-хімічні властивості.** ХОС — тверді речовини, не розчиняються або незначно (слабко) розчиняються у воді, добре — в органічних розчинниках, леткі, дуже стійкі сполуки: не руйнуються при кип'ятінні, навіть у присутності соди. ХОС — ліпідорозчинні неелектроліти.

Встановлено, що через 7 років після обробки ґрунту в ньому ще зберігається 29 % початкової кількості ХОС, в іншому випадку було визначено 80 % цієї кількості. ДДТ і деякі інші ХОС можуть зберігатися в ґрунті 10 і більше років. Стійкість речовин у навколишньому середовищі називають персистентністю. Такі ХОС, як ДДТ, альдрин, дилдрин заборонені до використання. Заборону на виробництво та застосування ДДТ у сільському господарстві СРСР було введено ще у 1968 році.

Найбільше практичне і токсикологічне значення мають пестициди, які належать до групи гексахлорциклогексану і групи поліхлорциклодієнів.

### 5.3.1. ГЕКСАХЛОРЦИКЛОГЕКСАН



1, 2, 3, 4, 5, 6-гексахлорциклогексан

Застосування у сільському господарстві знайшли два препарати на основі гексахлорциклогексану: гексахлоран та ліндан.

ГХЦГ — білий кристалічний порошок. Технічний продукт (гексахлоран) — це суміш восьми стереоізомерів, з яких тільки  $\gamma$ -ізомер (ліндан) має виражені інсектицидні властивості. Технічний продукт — жовтувато-сірого (брудного) кольору з запахом плісняви. Залежно від співвідношення в суміші ізомерів він плавиться в інтервалі температур 90–309 °С, леткий, при підвищенні температури сублімується. Погано розчиняється у воді, парафінових і циклопарафінових вуглеводнях, добре розчиняється у спиртах, кетонах та етерах.

Сtereoізомери ГХЦГ дуже стійкі до дії світла, окисників та концентрованих кислот, лугами дегідрохлоруються. При високій температурі розкладаються з утворенням бензену та кислоти хлороводневої. Максимальна допустима концентрація ГХЦГ у повітрі — 1,9 мг/м<sup>3</sup>, а для  $\gamma$ -ізомеру — 0,15 мг/м<sup>3</sup>. Ліндан належить до високотоксичних пестицидів (DL<sub>50</sub> 25–200 мг/кг). Гексахлоран — середньотоксична речовина з DL<sub>50</sub> 300–500 мг/кг.

**Застосування.** ГХЦГ — інсектицид комплексної дії, використовується для обробки води, рослин, садів, насіння, землі, а також споруд, тварин та людей. Випускається у вигляді дустів, концентрованих емульсій, димових шашок. ГХЦГ довго зберігається у ґрунті, за рік його кількість у ґрунті зменшується на 40–80 %.

**Поведінка в організмі.** Потрапляє до організму через рот, шкіру, легені, де піддається дегалогенуванню, окисненню. ГХЦГ швидко всмоктується і надходить до крові. Має слабо виражені кумулятивні властивості, накопичується у сальнику, розподіляючись приблизно однаково у печінці, жировій тканині, мозку. Для ГХЦГ характерний матеріальний тип кумуляції — речовина накопичується у нативному вигляді та у вигляді метаболітів у різних тканинах та органах. Також характерна функціональна кумуляція — з кожним новим надходженням речовини до організму підсилюється токсична дія. ГХЦГ може проникати до організму немовляти через плаценту.

Виводиться з організму нирками, через ШКТ, з грудним молоком. За загальним характером дії на організм теплокровних є високотоксичною нейротропною отрутою, пригнічує кровотворну систему, чинить місцевоподразнювальну та алергічну дію.

**Механізм токсичної дії:** пошкодження мембран клітин внаслідок перекисного окиснення ліпідів.

**Симптоми отруєння.** Інгаляційні отруєння починаються з появи головного болю, головокружіння, загальної слабкості, подразнення верхніх дихальних шляхів. Виникають загруднинні

болі, кашель, носові кровотечі, нудота, блювота. При тяжких отруєннях — втрата свідомості, судоми, зниження кров'яного тиску, пульсу. При інших формах отруєння — різке подразнення очей, шкірних покривів, запаморочення, підвищення температури тіла, нудота, блювота, ціаноз, судоми.

Хронічні отруєння відмічалися у працюючих з ГХЦГ при концентраціях у повітрі від 3 до 250 мг/м<sup>3</sup>. Вони характеризувалися головним болем, загальним занедужанням, запамороченням. При цьому зникав апетит, з'являлася задишка, нестійка хода, болі і відчуття оніміння кінцівок. У людей, які зайняті у виробництві ГХЦГ, виникає хронічний риніт, розвивається гіпотонія, але може бути і гіпертензія, гастрити.

**Невідкладна допомога при отруєннях.** Постраждалого після видалення з зони зараження вивільняють від забрудненого одягу. При потрапленні отрути всередину необхідно промити шлунок через зонд 2 % розчином натрій гідрокарбонату. Призначають активоване вугілля та сольове проносне, викликають блювоту. Пестицид необхідно видалити зі шкірних покривів, промити очі. При загрозі зупинки дихання призначають внутрішньовенно лобелін, під шкіру — кофеїн, кордіамін.

**Засоби профілактики отруєнь.** Засоби безпеки праці у виробництві ГХЦГ забезпечуються створенням технологічних процесів, що протікають безперервно у замкнутому циклі. Кількість ручних операцій має бути зведена до мінімуму. Виробничі приміщення повинні бути обладнані припливно-витяжною та загальнообмінною вентиляцією, а також витяжними системами з місць можливого виділення парів ГХЦГ.

**Медична профілактика** передбачає проведення попередніх та періодичних медичних оглядів один раз на рік. При роботі з ГХЦГ рекомендоване безкоштовне забезпечення молоком.

**Індивідуальний захист:** використання протипилових, протигазових універсальних респираторів.

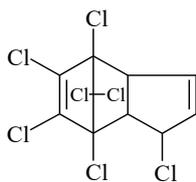
Для захисту шкірних покривів — спецодяг з пилозахисної тканини «молескін». При роботі з рідкими емульсіями — спецодяг з брезентової парусини, з бавовняної тканини з кислотостійкою обробкою та тканин з плівковим хлорвініловим покриттям.

Для захисту рук при роботі з рідкими пестицидами використовуються гумові рукавиці, при роботі з пилоподібними пестицидами — бавовняні рукавиці з плівковим покриттям. Очі захищають протипиловими окулярами.

Після закінчення роботи індивідуальні засоби захисту знімають у такому порядку: не знімаючи з рук, гумові рукавиці слід вимити в знежирювальному розчині (3–5 % розчин кальцинової соди, вапняного молока), промити у воді, зняти захисні окуляри, респіратор, чоботи, комбінезон, знову промити рукавиці у знежирювальному розчині та воді, зняти їх. Спецодяг щоденно після закінчення роботи слід очищати від пилу струшуванням, вибиванням, за допомогою пилососа, провітрювати та просушувати на відкритому повітрі протягом 8–12 год. Рекомендовано прати не рідше ніж через 6 робочих змін.

**Зберігання:** у герметичній поліетиленовій або металевій тарі.

### 5.3.2. ГРУПА ПОЛІХЛОРОЦИКЛОДІЕНІВ. ГЕПТАХЛОР



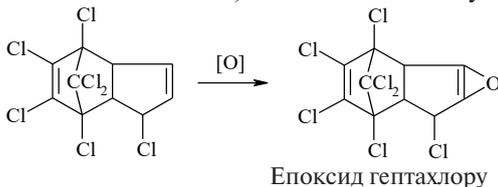
Гептахлор

**Фізико-хімічні властивості.** Один із найбільш відомих пестицидів з групи ХОС. Біла кристалічна речовина з легким камфорним запахом,  $t_{пл.} = 95\text{--}96\text{ }^\circ\text{C}$ . Технічний продукт містить 65–72 % гептахлору і знаходиться у воскоподібному стані. Гептахлор стійкий до дії факторів навколишнього середовища. У гептахлорі можливий вміст високотоксичних домішок. Він практично нерозчинний у воді, розчинюється у спирті, ароматичних та галогенопохідних вуглеводнях. Гептахлор випускається у вигляді 22 % концентрату емульсії та змочуваних порошоків, застосовується як інсектицид. У колишньому СРСР заборонений до застосування з 1985 року.

**Поведінка в організмі.** Накопичується у жировій тканині, дуже сильно кумулює.

**Токсична дія на організм.** Політропна отрута. Вражає нервову систему. Канцероген.

**Метаболізм.** Гептахлор перетворюється на гептахлору епоксид, який ще більш токсичний, ніж нативна сполука.



Епоксид гептахлору

**Симптоми отруєння:** гіперемія шкіри, головний біль, нудота, зниження артеріального тиску.

Велике практичне значення мали пестициди групи ДДТ — 4,4'-дихлордифенілтрихлорметилметан. У зв'язку зі здатністю накопичуватись в організмі людини використання ДДТ у більшості країн світу, а також у нашій країні заборонено.

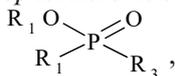
У літературі описаний випадок отруєння жінки і двох її дітей у віці 1 та 7 років узваром із ягід смородини й агрусу, зібраних з кущів, оброблених ДДТ. Дитина 7 років загинула при явищах гіпертермії та клоніко-тонічних судом. Стан однорічної дитини залишався тяжким протягом 4 днів, а потім поступово поліпшився. Мати видужала на шосту добу. Описано випадок смертельного отруєння робітника, який вилив собі на одяг суспензію хлордану.

#### **5.4. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ, ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ПОВЕДІНКИ В ОРГАНІЗМІ. ТОКСИЧНА ДІЯ НА ОРГАНІЗМ ЕСТЕРІВ ФОСФОРНИХ КИСЛОТ**

**Характеристика ФОС.** Найбільш перспективною і широко використовуваною групою пестицидів є група фосфорорганічних сполук. Широке використання обумовлено тим, що вони мають низку переваг перед деякими отрутохімікатами: більшість із цих сполук відносно швидко розкладається у ґрунті, не накопичується в органах людини та тварин, не викликає хронічних отруєнь.

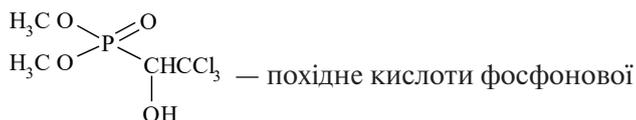
**Хімічна будова ФОС.** Усі ФОС є естерами фосфорних кислот: фосфорної, тіофосфорної, дитіофосфорної, фосфонової, пірофосфорної.

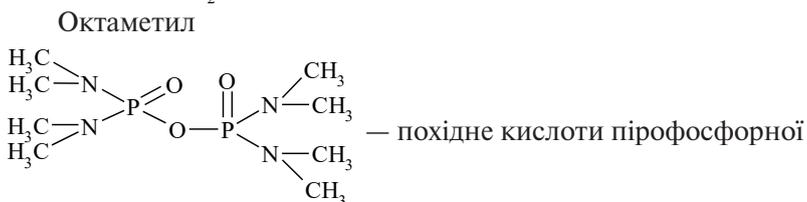
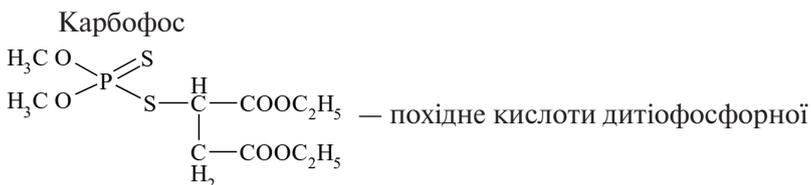
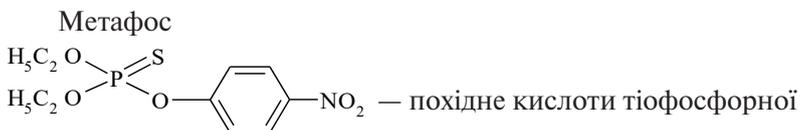
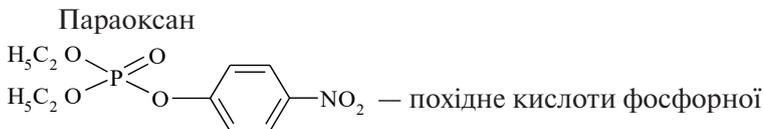
*Естери кислоти фосфорної мають загальну формулу:*



де  $R_1$ ,  $R_2$  — алкіли, алкіламіни,  $R_3$  — залишок органічної або неорганічної кислоти, залишок нітрофенолу або галогенозамісні алкіли. Наприклад:

Хлорофос





Недоліком ФОС є їх відносно висока токсичність. Останніми роками хворі з отруєннями на ФОС складають 5–10 % загальної кількості хворих з гострими хімічними отруєннями.

За фізичними властивостями ФОС є твердими кристалічними речовинами або прозорими жовтувато-коричневими маслянистими рідинами з неприємним специфічним запахом. Більшість добре розчиняються в органічних розчинниках, погано — у воді. Як складні естери ФОС легко гідролізуються у лужному середовищі, а також при дії високої температури. У кислому середовищі ФОС більш стійкі.

**Поведінка в організмі.** ФОС потрапляють до організму через рот, шкіру, дихальні шляхи. В органах і тканинах розподіляються досить рівномірно.

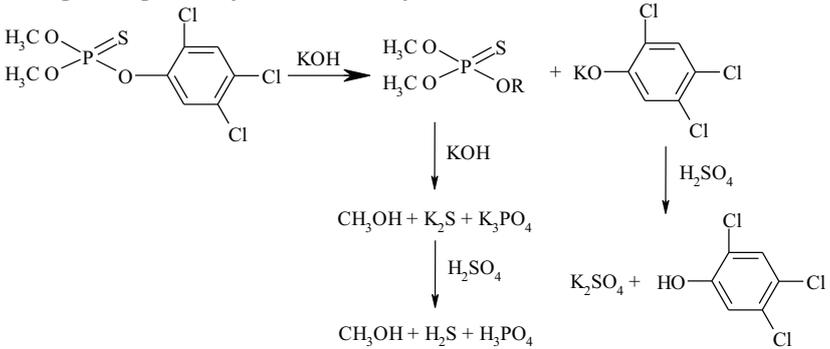
Виводяться ФОС з організму в незмінному стані легенями (20–25 %), нирками (30 %), інша частина (50 %) піддається метаболізму в печінці та виводиться з сечею у вигляді метаболітів, частково через ШКТ, з грудним молоком.

**Метаболізм.** В організмі ФОС повністю або в значній мірі піддаються метаболічним перетворенням.

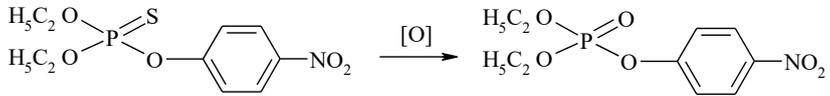
Основні шляхи метаболізму: процеси окиснення різного типу (окиснення бокових груп, окиснення тіофосфатів, десульфування, дезалкілування). Деяку роль у метаболізмі ФОС мають

процеси відновлення, які в основному протікають у присутності ферментів у нирках. Значна частина ФОС гідролізується під дією ферментів. Ферментативний гідроліз є основним напрямом знешкодження цих речовин в організмі. При цьому відбувається перетворення ліпідорозчинних речовин на водорозчинні, які виводяться нирками. Також характерним є утворення кон'югатів з кислотами — глюкуроною та сульфатною.

ФОС легко гідролізують, особливо в лужному середовищі. Наприклад, трихлорметафос при нагріванні з розчином калій і натрій гідроксиду поводить ся у такий спосіб:



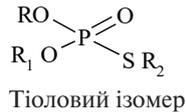
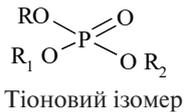
Можливі зміни ФОС під дією ферментів організму з утворенням більш токсичних продуктів (при окисненні):



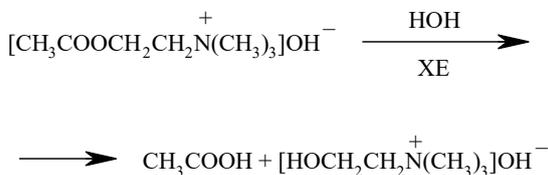
У жорстких умовах окиснення йде більш глибоко — до утворення неорганічних сполук:



Для похідних тіофосфорної кислоти характерна тіон-тіольна ізомерія:



**Токсична дія.** Головним у механізмі токсичної дії ФОС є пригнічення ферменту холінестерази. Усі ФОС у більшій або меншій мірі інгібують фермент холінестеразу, яка є каталізатором процесу гідролізу ацетилхоліну до холіну та ацетатної кислоти.



При отруєнні ФОС холінестераза інактивується, і в організмі накопичується ацетилхолін — передавач нервових імпульсів, внаслідок чого виникає розлад діяльності ЦНС і вегетативної нервової системи, чим і обумовлений симптомокомплекс отруєння.

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

**Симптоми отруєння ФОС.** При пероральному отруєнні ФОС розрізняють три стадії отруєння:

- *перша стадія* — збудження. Через 15–20 хв після прийому ФОС відмічається запаморочення, головний біль, зниження зору, нудота, інтенсивне потовиділення, блювота;

- *друга стадія* — судоми. Психомоторне збудження зберігається або змінюється загальмованістю, відсутня реакція звуження зіниці ока на світло, пітливість, тремтіння м'язів обличчя, м'язів грудей, іноді майже усіх м'язів тіла, пронос, брадикардія або тахікардія;

- *третья стадія* — паралічі. Постраждалі знаходяться у коматозному стані, спостерігається послаблення усіх рефлексів або їх відсутність, параліч м'язів, частота серцевих скорочень знижується або різко зростає, міоз.

**Невідкладна допомога при отруєннях.** При потраплянні ФОС на шкіру її обробляють лужними розчинами. При інгаляції ФОС постраждалого виводять з забрудненої зони. Для виведення ФОС із ШКТ шлунок промивають через зонд 10 або 15 л холодної води до чистих промивних вод, дають активоване вугілля всередину, сольове проносне. Також використовують антидотну терапію з використанням холінолітиків типу атропіну, які є антагоністами ацетилхоліну. Призначають реактиватори холінестерази — дипіроксин, ізонітрозин, діетиксим.

Хронічні отруєння виникають у результаті тривалого надходження до організму невеликих кількостей ФОС. Для цих сполук характерний функціональний тип кумуляції, тобто

спостерігається посилення токсичної дії при повторних надходженнях речовин до організму.

Хронічні отруєння можуть виникати у працівників на виробництві ФОС, у осіб, які довгий час контактують з ФОС у сільському господарстві, особливо, коли ГДК у повітрі перевищується у 2–3 рази.

**Профілактика хронічних отруєнь** базується на диспансеризації осіб, які мають прямий виробничий контакт з ФОСами; дотриманні умов зберігання (металева тара чи паперові мішки з поліетиленовими вкладками, без доступу повітря), а також умов використання (у респіраторях, рукавицях); контролі концентрації токсичних речовин у повітрі та залишкових кількостей пестицидів у харчових продуктах.

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

## **5.5. ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ПЕСТИЦИДІВ**

### **5.5.1. СПРЯМОВАНІСТЬ АНАЛІЗУ**

При загальному дослідженні на невідому отруйну речовину хіміко-токсикологічний аналіз на ФОС є обов'язковим, на ХОС проводиться тільки у 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 зі вмістом, печінка з жовчним міхуром, нирка, тонкий і товстий кишечник зі вмістом, кров, сеча. При інгаляційному отруєнні в усіх випадках беруть легені, а за деякими рекомендаціями і мозок.

**Об'єкти дослідження на ХОС:** шлунок зі вмістом, печінка, нирки, мозок, жирова тканина (сальник). Об'єкти дозволяється консервувати етанолом, рівень якого над внутрішніми органами у склянках має 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.

**Терміни проведення аналізу.** Рекомендовано приступати до проведення аналізу на пестициди в день надходження об'єктів. Якщо такої можливості немає, то об'єкти слід зберігати в холодильнику до 3 діб, а після ізолювання пестицидів екстракти з ФОС — не більш 5 діб, із ХОС — 10 діб при температурі від +2 до +4 °С.

## ***Основні етапи хіміко-токсикологічного дослідження на пестициди:***

- відбір і підготовка проб;
- ізолювання пестицидів;
- очищення від співекстрактивних речовин;
- ідентифікація і кількісне визначення пестицидів.

Методи аналізу, які використовуються, мають бути високо-чутливими і специфічними.

### **5.5.2. 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 токсичних речовин органічними розчинниками (гексаном, етером, хлороформом) або метод дистиляції з водяною парою.

При дослідженні об'єктів тваринного походження перед екстракцією ФОС рекомендовано робити осадження білків для руйнування протеїн-фосфоліпідних зв'язків і вивільнення жиру, а потім екстракцію ФОС з 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.

### **5.5.3. МЕТОДИ ОЧИСТКИ ЕКСТРАКТІВ**

Для очищення ФОС і ХОС найчастіше застосовують такі методи:

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

Інші методи (перегонка з водяною парою, сублімація у вакуумі, діаліз) використовуються вкрай рідко.

Джонс і Рідік вивчали розподіл пестицидів між ацетонітрилом та гексаном і встановили, що гексан і ацетонітрил є хорошою системою розчинників для очищення екстрактів від суми супутніх домішок, виділених із біологічного матеріалу: жирів, восків, пігментів. Крім зазначеної системи, з метою очистки пестицидів можуть бути використані такі пари розчинників, як петролейний етер-ацетонітрил, гексан-диметилформамід.

Хроматографічні методи очистки включають адсорбційну колонкову хроматографію, хроматографію на папері, у тонкому

шарі сорбенту. Останній метод знайшов широке застосування. Систему з рухомою фазою гексан-ацетон у різноманітних співвідношеннях рекомендовано для очищення екстрактів, що містять ФОС. На нерозчинності жирів і восків у холодному ацетоні базується метод очистки 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.

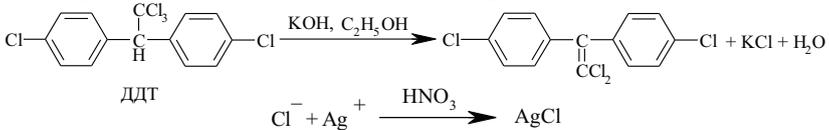
#### 5.5.4. МЕТОДИ ВИЯВЛЕННЯ ПЕСТИЦИДІВ

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

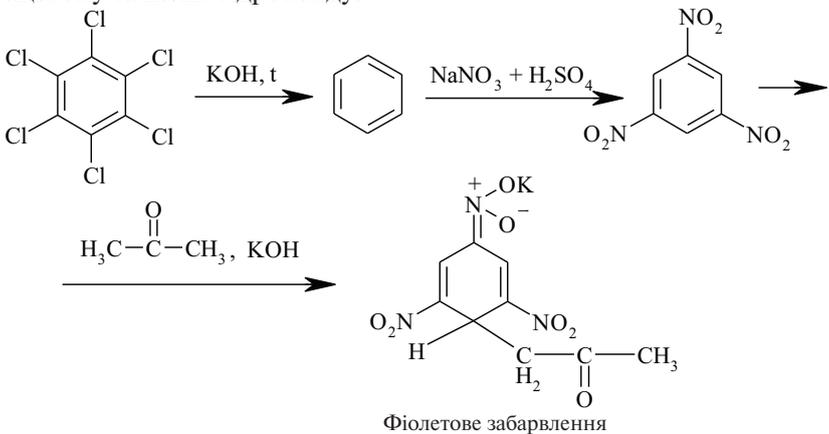
Інші методи, зокрема спектральні в УФ- та ІЧ-ділянках, використовують досить рідко.

##### *Виявлення пестицидів хімічним методом*

ХОС визначають за *хлором* — переводять ковалентно зв'язаний хлор в іонний стан, після чого виконують реакцію на хлорид-іон з аргентум нітратом у нітратнокислому середовищі:



ХОС визначають за *реакцією утворення аци-солі* хіноїдної будови після проведення дехлорування і нітрування бензенового кільця з наступним додаванням до *м*-динітробензену краплі ацетону та калій гідроксиду:



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

Для виявлення ФОС хімічними реакціями найбільше практичне застосування мають реакції *на фосфор і гідроперекисна проба*.

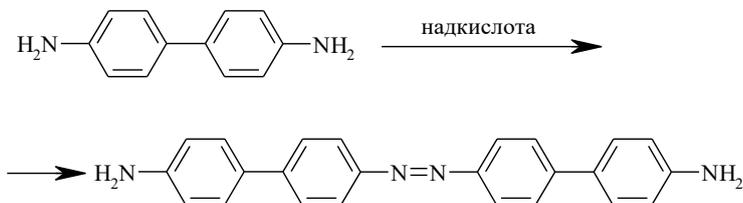
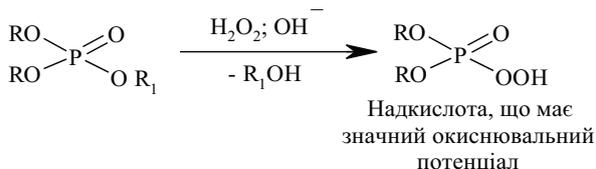
ФОС за фосфором визначають після мінералізації пестицидів до фосфат-іона. Використовують *реакцію з амоній молібдатом* у присутності відновників — утворюється фосфорно-молібденова синь. Реакція є високочутливою і загальною для всіх ФОС.

$H_7P(Mo_2O_7)_6$  — фосфорно-молібденова кислота.

$Mo_3 \cdot Mo_2O_5 + nH_2O$  — молібденова синь.

$(NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3 \cdot H_2O$  — фосфорно-молібденова синь.

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



### **Біохімічний метод**

Цей метод використовується для виявлення ФОС за зміною швидкості гідролізу ацетилхоліну до і після контактування з ФОС. Чим більша активність холінестерази, тим швидше йде гідроліз ацетилхоліну (при цьому більше виділяється ацетатної кислоти) — тим нижче буде значення рН середовища. На зміну рН середовища реагують індикатори, зокрема бромтимоловий синій у буферному розчині. Цей індикатор у присутності кислоти ацетатної змінює синє забарвлення на зелене, а потім на жовте. Паралельно обов'язково проводиться контрольний дослід. Описано різноманітні модифікації вказаного методу. У деяких випадках проводять виявлення не за кислотою ацетатною, а за



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

Застосовуються й інші проявники.

### **Метод газо-рідинної хроматографії**

Цей метод є найбільш чутливим і ефективним для розділення та виявлення ХОС і ФОС.

При аналізі пестицидів використовують полуменеві-іонізаційний детектор; детектори за захватом електронів та термоіонний.

При визначенні пестицидів цим методом потрібне ретельне очищення екстрактів від супутніх домішок, інакше колонка хроматографа може бути швидко виведена з ладу, а на хроматограмах можуть з'являтися додаткові піки, що ускладнює ідентифікацію.

Метод ГРХ доцільно використовувати для проведення попереднього дослідження на ФОС або ХОС при неспрямованому аналізі, а при спрямованому дослідженні є основним методом аналізу вказаних пестицидів. При використанні сорбенту хроматрон-N-супер і детектора за захватом електронів за певних умов можливо визначити  $1 \cdot 10^{-9}$ — $5 \cdot 10^{-12}$  г ФОС в аналізованій пробі.

### **5.5.5. МЕТОДИ КІЛЬКІСНОГО АНАЛІЗУ ФОС І ХОС**

При виявленні пестицидів обов'язково проводиться їх кількісне визначення. Для цього найчастіше застосовують фізико-хімічні, біохімічні методи і метод газо-рідинної хроматографії. З фізико-хімічних методів найчастіше застосовують фотокolorиметричний метод, що базується на одержанні комплексу синього кольору з амоній молібдатом у 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, реакцією з гідроксиламіном у лужному середовищі з ферум(III) хлоридом.

Останній метод високочутливий, але, на відміну від хімічного визначення, потребує дорогих реактивів.

Метод газо-рідинної хроматографії для визначення ФОС базується на прямій залежності висоти піку на хроматограмі від кількості етеру в аналізованій пробі. Метод високочутливий і специфічний при застосуванні селективних детекторів (на фосфор).

Кількісне визначення ХОС проводять об'ємними методами (йодометричним, аргентометричним за хлором); методом ГРХ або денситометрично (ТШХ) за інтенсивністю забарвлення плям.

### *Хіміко-токсикологічна оцінка результатів дослідження*

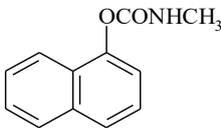
1. Біохімічне дослідження на ФОС одночасно з ТШХ або ГРХ дає можливість надійно визначити не тільки до якої групи належить пестицид, але й ідентифікувати конкретну речовину в об'єкті дослідження.

2. 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.

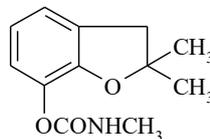
## **5.6. МЕТОДИ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ ОБ'ЄКТІВ БІОЛОГІЧНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ПЕСТИЦИДИ — ПОХІДНІ КИСЛОТИ КАРБАМІНОВОЇ**

Похідні кислоти карбамінової широко застосовують у різних галузях господарства, головним чином як інсектициди, акарициди, гербіциди, фунгіциди і бактерициди.

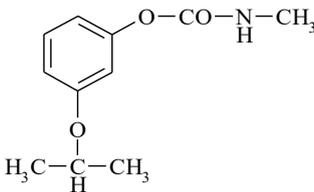
З арилових етерів кислоти N-метилкарбамінової найбільше застосування отримали карбофуран, пропоксур, тіурам D та деякі інші препарати, які виробляються промисловістю у великих кількостях, зокрема карбарил (севін).



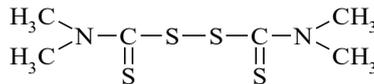
Карбарил (севін)



Карбофуран



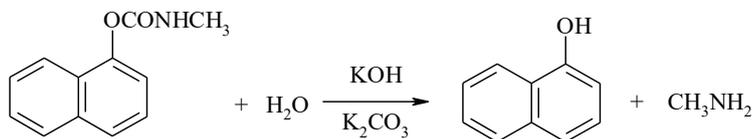
Пропоксур



Тіурам D

**Фізико-хімічні властивості.** Карбарил (севін, арилат, ветокс, динаком, карбамат, карботокс, севінокс) — 1-нафтил-N-метилкарбамат.

Це біла кристалічна сполука ( $t_{пл.} = 142\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), слабкорозчинна у воді (менш 0,1 % при  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), добре розчиняється у більшості органічних розчинників. Карбарил при кімнатній температурі стійкий до дії кисню повітря і світла, у лужному середовищі — швидко гідролізується:



**Поведінка в організмі.** Карбарил швидко всмоктується зі шлунка. Через 5 хв після надходження карбарилу до шлунка він з'являється у крові, а через 30 хв спостерігається його максимальне накопичення в органах. Через 2–3 доби після потрапляння до організму карбарил не виявляється у біологічному матеріалі. Швидко виводиться з організму нирками і через ШКТ. Характеризується незначною функціональною кумуляцією.

**Метаболізм.** Основні напрями метаболічних перетворень карбарилу — це окиснення та гідроліз. Основні метаболіти карбарилу: *O*-(4-гідроксинафтил-1)-*N*-метилкарбамат, *O*-(5-гідроксинафтил-1)-*N*-метилкарбамат, *O*-(7-гідроксинафтил-1)-метилкарбамат, *N*-гідроксиметил-*O*-(нафтил-1)-карбамат та нафтол-1.

**Токсична дія на організм.** Карбарил належить до речовин, які пригнічують холінестеразу. При тривалому впливі порушується вуглеводнева, білковоутворююча та антитоксична функції печінки.

Карбарил належить до пестицидів середньої токсичності.  $\text{LD}_{50}$  для шурів і мишей складає 310–850 мг/кг.

**Зберігання:** у паперових мішках з поліетиленовими вкладками.

**Симптоми отруєння та невідкладна допомога** ті ж самі, як і для ФОС.

**Виділення карбарилу з біологічного матеріалу.** Для цього використовують метод, що базується на настоюванні біологічних об'єктів з бенzenом. Потім органічний розчинник відганяють до сухого залишку, який розчиняють у невеликому об'ємі спирту етилового. Отриманий розчин використовують для ідентифікації та кількісного визначення карбарилу.

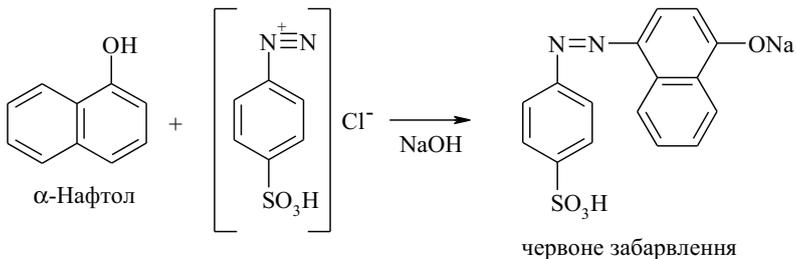
**Методи виявлення карбарилу.** Для виявлення карбарилу використовують кольорові реакції і хроматографічні методи.

*Реакція з кислотою пікриною.* 31 % розчином кислоти пікринової карбарил утворює темно-жовті кристали, зібрані у пучки.

*Реакція зі свіжоприготовленим розчином ферум(III) хлориду.* При наявності карбарилу утворюється рожеве забарвлення (чутливість реакції — 10 мкг у пробі).

*Реакція із сумішшю купрум(II) хлориду і натрій броміду.* При підлученні розчину карбарилу натрій гідроксидом і подальшому нагріванні розчину у пробірці на водяній бані (55 °С) з повітряним холодильником протягом 10 хв і подальшому додаванні розчину кислоти хлористоводневої до рН 5–6 та свіжоприготовленої суміші купрум(II) хлориду і калій броміду (при нагріванні) утворюється синьо-фіолетове забарвлення.

*Реакція утворення азобарвника.* При взаємодії продукту гідролізу севіну ( $\alpha$ -нафтолу) з лужним розчином кислоти діазотованої сульфанілової утворюється азобарвник:



*Виявлення карбарилу за допомогою ТШХ.* На хроматографічних пластинках продукт гідролізу карбарилу виявляють за реакцією утворення азобарвника (при обробці пластинки розчином кислоти діазотованої сульфанілової). При цьому утворюються плями, забарвлені у червоний колір.

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

## 5.7. МЕТОДИ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ ОБ'ЄКТІВ БІОЛОГІЧНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ПЕСТИЦИДИ ГРУПИ МЕРКУРІЙОРГАНІЧНИХ СПОЛУК

До цієї групи пестицидів належать гранозан, агрозан, агронал та ін.

**Гранозан** — це суміш, яка містить 2 % етилмеркурхлориду, 1 % барвника, 1 % мінеральної олії та наповнювач. Основною діючою речовиною є етилмеркурхлорид.



**Етилмеркурхлорид** — біла кристалічна речовина зі специфічним запахом ( $t_{\text{пл.}} = 192,5\text{ }^\circ\text{C}$ ). Погано розчинна у воді, добре — у гарячому етанолі, ацетоні та 10 % розчині натрій гідроксиду. Летка речовина, може попадати у повітря у вигляді пари навіть при кімнатній температурі.

Використовується для передпосівної обробки насіння зернових і технічних культур з метою боротьби з грибковими та бактеріальними захворюваннями. Описані випадки масового отруєння гранозаном після вживання насіння соняшнику, обробленого цим препаратом.

**Поведінка в організмі.** Етилмеркурхлорид може потрапляти до організму через ШКТ, легко проникає крізь неушкоджену шкіру та через дихальні шляхи. В організмі піддається розпаду з утворенням іонів меркурію. Накопичується у високих концентраціях і на довгий час депонується в організмі. Спостерігається матеріальний тип кумуляції (мозок). Виводиться нирками, печінкою (з жовчю), кишечником, а також з грудним молоком.

**Токсична дія на організм.** Меркурійорганічні сполуки депонуються в головному та спинному мозку, легенях, печінці, нирках, стінках шлунка та кишечника, кістковому мозку.

Розрізняють три стадії отруєння МОС:

- короткочасне збудження;
- стадія адинамії, пригнічення;
- термінальна стадія (судоми, паралічі, кома, смерть).

Меркурійорганічні сполуки (гранозан, церезин, абавит та ін.) належать до особливо токсичних речовин. Вони більш токсичні, ніж меркурій хлорид (сулема) та інші неорганічні сполуки меркурію. Смертельною дозою є 0,2–0,4 г.  $LD_{50}$  50–70 мг/кг. Пари гранозану значно токсичніші, ніж пари меркурію. ГДК складає 0,005 мг/м<sup>3</sup>.

**Механізм токсичної дії.** Меркурійорганічні сполуки здатні блокувати активні групи білків — ферментів і структурних білків. Найбільше значення має блокування сульфгідрильних (тіолових) груп, які забезпечують активність понад 50 % білків-ферментів. У результаті цього спостерігається глибоке порушення обмінних процесів. Уражаються центральна нервова система, ШКТ, нирки, серцево-судинна система.

**Симптоми отруєння.** Ураження при надходженні через ШКТ проявляються у вигляді нудоти, болю при ковтанні, металічного смаку у роті, болями у животі. У важких випадках — пронос, шлункові та кишкові кровотечі.

При інгаляційних отруєннях гранозаном спостерігається збудливість, безсоння, роздратування, ускладнення при ковтанні.

При попаданні на шкіру з'являються виразки, запальний інфільтрат.

**Невідкладна допомога.** Проводять промивання шлунка зі введенням 50–100 мл 5 % розчину унітіолу через зонд на початку і в кінці промивання для зв'язування отрути, яка не всмокталася. Шлунок необхідно промивати 2–3 рази на добу. Призначають натрій тіосульфат — 10–20 мл 30 % розчину внутрішньо, форсований діурез, гемодіаліз.

**Засоби застереження** — при використанні препарату слід уникати потрапляння його на шкіру і особливо в очі, у випадку такого потрапляння — терміново змити великою кількістю води.

**Зберігання.** В металевій тарі практично необмежений час.

**Ізолювання етилмеркурхлориду з біологічного матеріалу.** Ізолювання базується на виділенні його 3–9 М розчином кислоти хлоридної та екстракції хлороформом, після чого отриманий екстракт використовують для ідентифікації та кількісного визначення етилмеркурхлориду.

**Методи виявлення етилмеркурхлориду.** Для виявлення етилмеркурхлориду використовують кольорові реакції і хроматографічні методи.

1. **Проба з мідним дротом** — базується на здатності металічної міді витіснити меркурій з етилмеркурхлориду. Спостерігається червоне або жовто-червоне забарвлення.

2. **Виявлення етилмеркурхлориду за допомогою ТШХ.** Метод базується на переведенні етилмеркурхлориду у дитизонат та наступному виявленні етилмеркурхлориду дитизонату. Як розчинник використовується *n*-гептан-хлороформ (2:5). При наявності етилмеркурхлориду дитизонату на пластинці виявляються жовті плями.

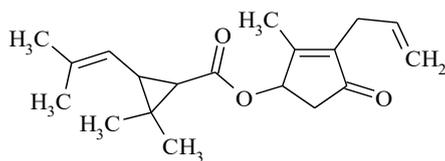
## **5.8. ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ОТРУТОХІМІКАТІВ ІНШИХ ХІМІЧНИХ ГРУП**

### **5.8.1. ГРУПА АЛІЦИКЛІЧНИХ КАРБОНОВИХ КИСЛОТ**

**Загальна характеристика піретроїдів.** З похідних кислоти циклопропанкарбонової найбільше практичне значення мають природні сполуки — піретрини та їх синтетичні аналоги. Природний піретрин з квіток ромашки далмацької складається

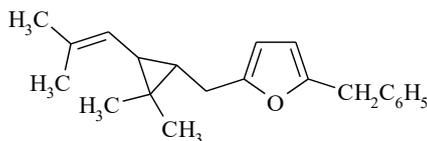
із суміші шести продуктів, які є складними естерами кислот хризантемової або піретринової (за карбоксильною групою при С-атомі циклу) та аліциклічних кетоспиртів піретролону, жасмолону та цинеролону.

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



Алетрин

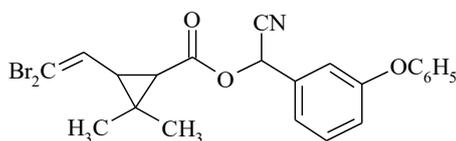
Піретроїди другого покоління (похідні кислоти хризантемової, наприклад, ресметрин):



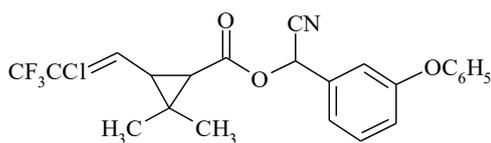
Ресметрин

Піретроїди третього покоління (естери кислот 2-дихлоретенил-3,3-диметилциклопропанкарбонової, так званої кислоти перметринової 2-диброметенил-3,3-диметилциклопропанкарбонової та арилізовалеріанової).

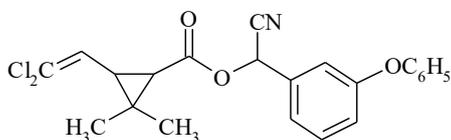
Хімічні формули деяких найбільш важливих піретроїдів третього покоління наведені нижче:



Децис (дельтаметрин)



Цигалотрин



Цимбуш (ципметрин, рипкорд)

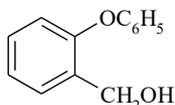
**Фізико-хімічні властивості.** Піретроїди — тверді речовини, добре розчинні в органічних розчинниках — ацетоні, хлороформі, гексані, бензені та ін. Препарати піретроїдів не розчинні у воді.

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

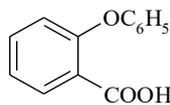
Синтетичні піретроїди третього покоління виявляють високу інсектицидну активність стосовно багатьох шкідливих комах, що обумовлює низьку норму витрат цих препаратів і досить помірну токсичність для теплокровних тварин.

**Поведінка в організмі.** При введенні до організму тварин піретроїди попадають до жирових відкладень і мозку. З жирових тканин вони виводяться протягом 3–4 тижнів, а з мозку — значно швидше. Чим отруйніший препарат, тим швидше піретроїди виводяться з організму тварин.

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



Спирт *m*-феноксибензиловий



Кислота *m*-феноксибензойна

Механізм токсичної дії піретроїдів на організм тварин на молекулярному рівні вивчений недостатньо.

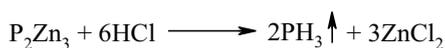
**Методи виявлення та кількісного визначення піретроїдів.** Для ідентифікації цих пестицидів найчастіше використовують метод ТШХ (хроматографія зі «свідками», проявник — розчин аргентум нітрату з подальшою обробкою УФ-світлом). Піретроїди виявляються у вигляді плям сіро-чорного кольору.

Також для виявлення та кількісного визначення піретроїдів використовують метод ГРХ (нерухома фаза SE-30, що нанесена на хроматон N-AW. Рухома фаза — нітроген особливої чистоти).

## 5.8.2. НЕОРГАНІЧНІ ПЕСТИЦИДИ. ФОСФІД ЦИНКУ

З неорганічних сполук фосфору практичне значення як пестициди мають фосфіди цинку, алюмінію і магнію. Фосфід цинку — це темно сірий порошок, що містить 18–24 % фосфору і 70–80 % цинку. Нерозчинний у воді, спирті, слабо розчинний у лугах і оліях, дуже добре розчиняється у кислотах (з розкладанням). Стійкий у сухому вигляді, але під дією світла і вологи повільно розкладається.

Випускається у вигляді порошку, таблеток і паст для приготування приманок для боротьби з дрібними гризунами. Його дія на гризунів обумовлена утворенням у шлунку під дією хлоридної кислоти фосфіну ( $\text{PH}_3$ ).



Смертельна доза для людини не встановлена.  $\text{LD}_{50}$  для білих мишей — 5 мг/кг, для шурів — 30–40 мг/кг. ГДК у повітрі робочої зони — 0,1 мг/м<sup>3</sup>. Залишковий вміст у продуктах харчування не допускається. Заборонений випас великої рогатої худоби 15 днів після застосування препарату.

Об'єктами хіміко-токсикологічного дослідження на фосфід цинку є шлунок зі вмістом і кишечник, у якому ця речовина може знаходитись частково у нативному стані. Для ізолювання подрібнений об'єкт поміщають у колбу, змішують з дистильованою водою, підкислюють 10 % розчином кислоти сульфатної і відразу переганяють. Приймачами служать послідовно з'єднані 4–5 колб. Перша колба містить 25–30 мл, а наступні по 5–10 мл бромної води. Перегонку проводять повільно. Ознакою взаємодії фосфіну з бромною водою є утворення важкого білого туману, що швидко осідає. Бромна вода при цьому частково знебарвлюється. Повного знебарвлення допускати не можна. Відсутність над рідиною білих газоподібних продуктів протягом 3–5 хв свідчить про повноту відгонки. Дистиляти з усіх приймачів зливають разом і випарюють досуха на водяній бані. Сухий залишок розчиняють у 5 мл води і досліджують на фосфатну кислоту реакціями з амоній молібдатом у кислоті нітратній (жовтий осад), з молібденовою синню (реактив Деніже) — сине забарвлення.

Ці реакції у поєднанні з дистиляцією дозволяють зробити висновок про виявлення у досліджуваній пробі летких сполук фосфору. Сполуки цинку ізолюють і досліджують за описаними вище методиками.

## РОЗДІЛ 6

### ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

Кількість отруень лікарськими препаратами неухильно зростає, що обумовлено безліччю різних причин, серед яких низький контроль продажу в аптечній мережі та відносна доступність ліків населенню, нестримна реклама, передозування внаслідок самолікування, взаємодія ліків та їх індивідуальна непереносимість, вживання препаратів з алкоголем, явища наркоманії, токсикоманії, суїциду.

За статистичними даними, отриманими в різних країнах світу, перше місце за кількістю отруень внаслідок самолікування займають нейро- та психотропні засоби: бензодіазепіни, барбітурати, трициклічні антидепресанти (ТЦА) та ін. У Швеції за кількістю летальних отруень перші позиції займають декстропропоксифен, флунітразепам, нітразепам та циталопрам. Останній належить до групи селективних інгібіторів зворотнього захвату серотоніну, а це антидепресант, що найчастіше призначається у вказаній країні. У Великій Британії кількість смертельних отруень ТЦА в 10 разів більша, ніж антидепресантами інших груп. Опіати, антидепресанти, бензодіазепіни, кокаїн, їх сумісне надходження до організму та поєднання з етанолом також відзначають як найбільш поширені причини летальних отруень. Крім того, останніми роками токсикологічного значення набули ненаркотичні анальгетики та НПЗЗ. У США щорічно реєструється 70 тисяч випадків госпіталізації і більш ніж 7 тисяч летальних отруень, пов'язаних з прийомом НПЗЗ. Парацетамол як причина печінкової недостатності займає друге місце в США і перше — у Німеччині та Великій Британії.

#### **6.1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН ЗА ФІЗИКО-ХІМІЧНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ ТА ТОКСИКОКІНЕТИЧНИМИ ОСОБЛИВОСТЯМИ**

Для ефективного виділення досліджуваної речовини з об'єкта необхідно враховувати його характер, а також фізико-хімічні властивості токсиканта та особливості його токсикокінетики.

### *Загальні фізико-хімічні властивості лікарських речовин.*

Лікарські речовини — це переважно білі чи жовтуваті кристалічні порошки, які характеризуються різною розчинністю у воді та органічних розчинниках, а також кислотно-основними властивостями. В гідрофільних розчинниках (вода, етанол) добре розчинні солі речовин кислого й основного характеру (наприклад, солі алкалоїдів), які утворюють заряджені іони в розчинах. В органічних розчинниках (хлороформ, діетиловий етер) добре розчинні лікарські речовини в неіонізованій формі (основи алкалоїдів). Деякі речовини зі вказаної групи являють собою леткі рідини: основи алкалоїдів, похідні піридину і піперидину — оліїсті леткі рідини, основи похідних фенотіазину — сироподібні рідини.

**Токсикокінетика.** 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 дослідження.

Основні шляхи надходження лікарських речовин до організму: через рот (таблетки, порошки, частини рослин), дихальні шляхи (нікотин, анабазин — при палінні; кокаїн — при явищі «кокаїнізму»), парентерально, ректально.

Всмоктування, розподіл і локалізація токсичних речовин залежить від їх фізико-хімічних властивостей. Речовини кислого характеру (кислота саліцилова, барбітурати) всмоктуються в шлунку (рН 1); речовини основного характеру (алкалоїди, похідні фенотіазину, кислоти *n*-амінобензойної) всмоктуються в тонкому кишечнику (рН 5,07–7,07), нікотин і анабазин всмоктуються через слизові оболонки рота та в легенях.

**Метаболізм** лікарських речовин протікає головним чином у печінці. Розподіл і локалізація препаратів залежать від складу і функціональних особливостей органів та 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 токсичної речовини також залежить від характеру отруєння: при гострому отруєнні вона розподіляється у шлунку, кишечнику, печінці, нирках; при хронічному — у головному та кістковому мозку.

Виводяться лікарські речовини в нативному вигляді та як метаболіти нирками, кишечником і легенями.

*Види об'єктів токсикологічного дослідження на присутність лікарських речовин.* При судово-токсикологічних дослідженнях об'єктами є секційний матеріал (органи і тканини трупа), біологічні рідини (кров, сеча та ін.), а також можуть бути залишки лікарських засобів, що знайдені біля постраждалого (тверді субстанції, таблетки, ін'єкційні розчини) та ємності з-під них).

При клініко-токсикологічних дослідженнях (експрес-аналіз гострих інтоксикацій, аналітична діагностика наркоманічного та токсикоманічного сп'яніння), терапевтичному лікарському моніторингу (ТЛМ), допінг-контролі основними об'єктами є біологічні рідини (кров, сеча, слина, промивні води шлунка, змиви з ротової порожнини та рук тощо). Останнім часом запропоновано досить велику кількість методик з виявлення наркотичних та психотропних речовин, а також лікарських препаратів інших груп у волоссі, наприклад, з метою ТЛМ для немовлят.

При криміналістичних дослідженнях як об'єкти вивчають тверді субстанції, таблетки, ін'єкційні розчини, що містять лікарські та наркотичні засоби, кустарно виготовлені наркотичні та психотропні засоби, зразки рослинного походження та їх екстракти тощо.

Найбільш складними для дослідження є об'єкти біологічного походження, зокрема секційний матеріал, біологічні рідини, методи пробопідготовки яких наведено нижче.

## **6.2. ЗАГАЛЬНІ ТА СПЕЦІАЛЬНІ МЕТОДИ ІЗОЛЮВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ**

В основі класичних методів ізолювання лікарських речовин з біологічних об'єктів лежить рідинно-рідинна екстракція (РРЕ), широкого застосування в сучасних методиках пробопідготовки набув метод твердофазної екстракції (ТФЕ), а також новітні модифікації вказаних методів — рідинно-рідинна мікроекстракція (РРМЕ), твердофазна мікроекстракція (ТФМЕ).

*Загальні та спеціальні методи ізолювання, їх основні етапи та порівняльна характеристика.* До загальноприйнятих методів ізолювання лікарських речовин з біологічного матеріалу відносять настоювання з водою, підкисленою кислотою оксалатною (метод А.О. Васильєвої), настоювання з етанолом, підкисленим кислотою оксалатною (метод Стаса—Отто), а також настоювання з ацетонітрилом (метод Шведзінські) та ацетоном

(метод В.А. Карташова). Вказані методи використовують при неспрямованих судово-токсикологічних дослідженнях.

Ізолювання лікарської речовини з біологічного матеріалу за загальним методом 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 токсичної речовини в об'єкті і чутливості методів дослідження).

3. Екстракція токсичної речовини відповідним розчинником (2–3 рази).

4. Об'єднання екстрактів та очистка об'єднаного екстракту від домішок з біологічного матеріалу (проціджування, фільтрування, центрифугування тощо).

5. Екстракція токсичної речовини з кислої водної фази (рН 2–3) органічним розчинником (хлороформ) — одержання «кислого» хлороформного екстракту.

6. Екстракція токсичної речовини з лужної водної фази (рН 9–10) органічним розчинником (хлороформ) — одержання «лужного» хлороформного екстракту.

У сучасних методиках пробопідготовки крім подрібнення та гомогенізації використовують ультразвукову обробку зразка, зневоднення (наприклад, розтиранням з безводним натрій сульфатом), виморожування, ліофілізацію, що дозволяє підвищити ступінь вилучення токсичної речовини з об'єкта.

За методом А.О. Васильєвої очистку екстрактів проводять тільки від механічних домішок за допомогою проціджування або фільтрування. Методом Стаса—Отто передбачене осадження білкових домішок абсолютним етанолом з концентрованої спиртової витяжки з наступним її фільтруванням.

За методом В.А. Карташова домішки екстрагують гексаном після розведення ацетонової витяжки розчином кислоти хлоридної. Далі досліджувану лікарську речовину екстрагують хлороформом чи етером у присутності висолювача — натрій хлориду чи натрій сульфату.

За методом Шведзінські для очистки ацетонітрильного екстракту від білкових домішок застосовують висолювання, для цього до ацетонітрильного екстракту додають розчин натрій сульфату, а далі проводять екстракцію токсиканта органічним розчинником (гексаном, етером, хлороформом).

*Переваги та недоліки загальних методів.* Метод А.О. Васильєвої малопридатний для аналізу біологічного матеріалу, який піддався гнилісним змінам, через те, що продукти розкладу

біологічних тканин (низькомолекулярні аміни) добре розчинні у підкисленій воді, а також у зв'язку з утворенням стійких емульсій на стадії екстракції речовин з водної витяжки органічним розчинником і недостатньою очисткою екстрактів. Цей метод також малопридатний для аналізу барбітуратів й інших речовин, які погано розчиняються у підкисленій воді. Методи Стаса—Отто, Шведзінські та В.А. Карташова значною мірою позбавлені цих недоліків.

Проте метод А.О. Васильєвої є більш експресним та не пов'язаний з використанням токсичних розчинників — ацетону та ацетонітрилу. Йому зазвичай віддають перевагу у вітчизняних судово-токсикологічних лабораторіях при дослідженні об'єктів, що не піддалися гнилісним змінам.

*Спеціальні методи ізолювання лікарських речовин* використовують при направлених судово-токсикологічних дослідженнях на певну хімічну групу речовин чи індивідуальні речовини.

Для ізолювання барбітуратів з біологічного матеріалу використовують метод П. Валова (екстракція водним розчином натрій гідроксиду) і метод В.І. Попової (екстракція водою, підкисленою кислотою сульфатною з подальшою очисткою екстрактів від домішок методом гель-хроматографії).

Для ізолювання алкалоїдів використовують метод В.П. Крамаренка. Згідно зі вказаним методом токсичну речовину екстрагують водою, підкисленою кислотою сульфатною.

Для ізолювання лікарських речовин — похідних фенотіазину використовують методи Є.М. Саломатіна: модифікація методу Стаса—Отто (екстракція етанолом, підкисленим кислотою оксалатною) і модифікація методу Шведзінські (екстракція ацетонітрилом, підкисленим кислотою хлоридною).

При дослідженні біологічного матеріалу на вміст похідних 1,4-бензодіазепіну запропоновано проводити кислотний гідроліз гомогенізованої проби (при цьому нативні сполуки, а також продукти їх біотрансформації перетворюються на бензофенони) з наступною екстракцією бензофенонів сумішшю хлороформ—пентанол (9:1) (метод Б.М. Ізотова).

У процесі ізолювання з біологічного матеріалу група лікарських речовин поділяється на дві підгрупи.

Перша — *речовини, які екстрагуються хлороформом з кислого водного середовища*, вони виявляються в так званому «кислому» хлороформному екстракті. До них належать речовини кислого характеру, наприклад, саліцилова кислота та її похідні, барбітурати;

речовини нейтрального характеру (ноксирон, парацетамол); речовини слабоосновного характеру (алкалоїди — похідні пурину, індолу), які не утворюють стійких солей з кислотами. Частково в «кислий» хлороформний екстракт попадають лікарські речовини середньої основності (похідні піразолону-5, деякі похідні 1,4-бензодіазепіну).

Друга — *речовини, які екстрагуються хлороформом з лужного водного середовища*. Вони потрапляють до «лужного» хлороформного екстракту. До них належать усі речовини з основними властивостями: алкалоїди, синтетичні препарати основного характеру (похідні фенотіазину, більшість похідних 1,4-бензодіазепіну, кислоти *n*-амінобензойної).

У процесі пробопідготовки екстракцію лікарської речовини з біологічного матеріалу проводять в два етапи:

- *I етап — екстракція у системі тверде тіло—рідина*, тобто екстракція лікарської речовини безпосередньо з біологічного об'єкта;

- *II етап — екстракція у системі рідина—рідина*, тобто екстракція лікарської речовини з отриманої водної (спиртової, ацетонітрильної, ацетонової) витяжки органічним розчинником.

Процес екстракції токсичної речовини у системі тверде тіло—рідина є багатостадійним, і основні стадії цього процесу становлять собою проникнення екстрагенту до клітини і тканини секційного матеріалу; розчинення досліджуваної речовини і домішок в екстрагенті; перенос розчиненої токсичної речовини і домішок через оболонки клітин у міжклітинний простір і змішування вилучених із клітин речовин з основною масою екстрагенту.

Вибір умов ізолювання визначається ступенем гнилісних змін, яким піддався біологічний матеріал, і відповідно, кількісним співвідношенням досліджуваної токсичної речовини і домішок. Значний вміст домішок в екстракті вимагає багатостадійної очистки, що є однією з причин втрати токсичної речовини. Ефективність виділення лікарських речовин з біологічного матеріалу залежить від низки факторів, які на кожній стадії ізолювання впливають на ступінь екстракції токсичної речовини і супутніх домішок.

У таблиці 6.1 наведено характеристику загальних та спеціальних методів, які використовують для ізолювання лікарських речовин із біологічного матеріалу.

### Характеристика загальних та спеціальних методів ізолювання лікарських речовин з біологічного матеріалу

№ з/п	Група речовин	Метод ізолювання	Методи очистки від домішок, які використовуються у відповідному методі ізолювання
1	Лікарські речовини кислого і основного характеру	Водою, підкисленою кислотою оксалатною (метод А.О. Васильєвої)	Проціджування. Центрифугування
2	Лікарські речовини кислого і основного характеру	Етанолом, підкисленим кислотою оксалатною (метод Стаса–Отто)	Випаровування витяжок до сироподібного стану. Осадження білків абсолютним етанолом. Фільтрування
3	Лікарські речовини кислого і основного характеру	Ацетоном (метод В.А. Карташова)	Центрифугування. Фільтрування. Екстракція домішок гексаном (рН 2–3)
4	Алкалоїди	Водою, підкисленою кислотою сульфатною (метод В.П. Крамаренка)	Проціджування. Центрифугування. Висолювання домішок за допомогою $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Екстракція домішок етером (рН 2–2,5)
5	Похідні кислоти барбітурової	Водою, підлуженою натрій гідроксидом (метод П. Валова)	Проціджування. Центрифугування. Осадження білків натрій вольфраматом. Екстракція домішок етером (рН 2)
		Водою, подкисленою кислотою сульфатною (метод В.І. Попової)	Проціджування. Центрифугування. Гель-хроматографія
6	Похідні фенотіазину	Етанолом, підкисленим кислотою оксалатною (модифікація методу Стаса–Отто за Є.М. Саломатіним)	Випаровування витяжки до сироподібного стану. Осадження білків етанолом. Фільтрування. Екстракція домішок етером (рН 2–3)
		Ацетонітрилом, підкисленим кислотою хлоридною (модифікація методу Шведзінські за Є.М. Саломатіним)	Фільтрування. Висолювання домішок за допомогою $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Екстракція домішок етером (рН 2–3)
7	Похідні 1,4-бензодіазепіну	Екстракція амінобензофенонів після кислотного гідролізу похідних 1,4-бензодіазепіну (метод Б.М. Ізотова)	Центрифугування. Фільтрування

**Фактори, які впливають на ступінь ізолювання лікарських речовин із біологічного матеріалу.** На I етапі — екстракції у системі тверде тіло—рідина впливають ступінь подрібнення біологічного матеріалу; значення рН середовища; природа і властивості рідин, вибраних для ізолювання; природа кислоти, що використовується для підкислення екстрагента; іонна сила розчинів (використання електролітів).

Збільшення ступеня подрібнення біологічного матеріалу за допомогою ножиць (шматочки 0,3–0,5 см), м'ясорубки (шматочки 0,05–0,1 см) або гомогенізатора (шматочки розміром близько 0,01 см) сприяє зростанню ступеня ізолювання як токсичної речовини, так і домішок. Це вимагає багатостадійної очистки витяжки з можливою втратою частини досліджуваної речовини.

Ефективним методом вилучення токсичної речовини з біологічного матеріалу є його заморожування з наступним відтаюванням; при цьому відбувається розрив клітин і вивільнення їх вмісту для екстрагента.

Оптимальним значенням рН середовища, при якому максимально руйнується зв'язок «лікарська речовина—білок», є значення рН 2–3. Вибір рН середовища обумовлений значеннями ізоелектричної точки білкових речовин, які залежать від їх природи. Білкові речовини є амфотерними сполуками. Залежно від рН середовища вони можуть дисоціювати як кислоти і як основи. При відповідному значенні рН середовища (ізоелектрична точка) кількість позитивних і негативних зарядів у білку стає однаковою. У цьому випадку сумарний заряд білка буде дорівнювати нулю і білок стане нерухомим в електричному полі. Наприклад, ізоелектрична точка альбуміну відповідає рН 4,8;  $\alpha$ -глобуліну — 5,2;  $\gamma$ -глобуліну — 6,4; фібриногену — 5,4. При значеннях рН вищих, ніж ізоелектрична точка, білки мають негативний заряд, відповідно, при значеннях рН нижчих, ніж ізоелектрична точка, — позитивний заряд.

У живому організмі є необхідні умови (рН крові 7,35–7,40; рН середовища в тканинах і органах 6,8–7,2) для взаємодії лікарських речовин і білків. Таким чином, при значеннях рН 2–3 і білкові молекули, і лікарські речовини (такі як нітрогеновмісні органічні основи) мають позитивний заряд, що сприяє умовам для руйнування зв'язку «лікарська речовина—білок».

При цьому створення значень рН 2–3 при екстракції лікарських речовин водою з біологічного об'єкта збільшує також

і кількість білкових домішок у витяжці, що обумовлено підвищенням гідратації молекул білків, пептидів, амінокислот, пігментів і поліпшенням їхньої розчинності у воді.

*Природа рідини, вибраної для ізолювання токсичної речовини*, обумовлює її здатність проникати до клітин і тканин біологічного матеріалу; розчиняти досліджувану токсичну речовину, її метаболіти та її солі; розчиняти певні кількості домішок з біологічного матеріалу. Останнє знижує ефективність пробопідготовки.

При надходженні токсичної речовини до організму людини вона проникає через мембрану до клітини, розподіляється також у позаклітинній рідині і жировій тканині. З огляду на те, що до складу плазматичної мембрани клітини входять білки і ліпіди, велике значення має здатність розчинників змішуватися з водою і ліпідами тканин, органів, тобто гідроліпофільні властивості. Залежно від цього розчинники поділяють на три групи:

1) *гідрофільні* — змішуються з водою і не змішуються з ліпідами (високополярні розчинники — водні розчини кислот, основ, буферні розчини);

2) *ліпофільні* — змішуються з ліпідами і не змішуються з водою (малополярні розчинники — хлороформ, етер, бензен, гексан та ін.);

3) *гідроліпофільні (амфіфільні)* — мають властивості змішуватися як з водою, так і з ліпідами (метанол, етанол, ацетонітрил, ацетон та ін.).

Отже, через клітинну мембрану легше всього проникають гідроліпофільні розчинники, які мають спорідненість і до гідрофільної (білкової), і до гідрофобної (ліпідної) ділянок мембрани. Однак такі екстрагенти будуть розчиняти білкові і 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 та неіонізованій (молекулярній) формах. Для ізолювання речовин в іонізованій формі найбільш придатні гідрофільні розчинники, а для ізолювання речовин у молекулярній формі — ліпофільні розчинники та розчинники з амфіфільними властивостями.

Розчинність токсичних речовин залежить від діелектричної проникності розчинників. При зниженні діелектричної проникності екстрагентів сили притягання між молекулами досліджуваних токсичних речовин зростають, що погіршує їх розчинність.

*Природа кислоти, взятої для підкислення екстрагенту, впливає на ступінь ізолювання алкалоїдів і синтетичних лікарських сполук основного характеру з біологічного матеріалу, що обумовлено різною розчинністю солей нітрогеновмісних основ з різними кислотами. Наприклад, для ізолювання сильних основ — алкалоїдів — використовують воду, підкислену кислотою сульфатною, з якою алкалоїди утворюють солі, добре розчинні у воді.*

На покращення розчинності токсичних речовин впливає *іонна сила розчинів*, яка залежить від концентрації електролітів у цих розчинах (ефект висолування).

Фактори, що впливають на ступінь екстракції лікарської речовини на II етапі ізолювання — *екстракції у системі рідина—рідина*: природа досліджуваної речовини; значення рН водного середовища; природа органічного розчинника, який обрано як екстрагент; температура; наявність висолувачів; співвідношення об'ємів водної та органічної фаз; кількість повторних екстракцій.

**Теоретичне обґрунтування методу ізолювання лікарських речовин на основі PPE.** Кількість екстрагованої речовини залежить від її здатності до іонізації у водному середовищі. Розглянемо схему іонізації кислоти:



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

де  $K_a$  — константа дисоціації (іонізації) кислоти;

$[\text{H}^+]$ ,  $[\text{A}^-]$ ,  $[\text{HA}]$  — рівноважні концентрації катіона, аніона та недисоційованої кислоти, відповідно;

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

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

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

Таким чином, як виходить з останнього рівняння, при зміні рН водної фази змінюється і співвідношення іонізованої і молекулярної форм лікарської речовини у водній витяжці, що впливає на ступінь екстракції речовини у неіонізованій формі органічним розчинником. Виходячи з останнього рівняння, можна вважати, що кислота буде іонізована повністю при  $\text{pH} = \text{p}K_a + 3$ , а основа — при  $\text{pH} = \text{p}K_a - 3$ . Ці закономірності виконуються для водних розчинів, а у змішаних та неводних розчинниках вони можуть змінюватися.

Вибір оптимальних умов екстракції (рН середовища, природи органічного розчинника) залежить від фізико-хімічних

властивостей досліджуваної речовини. При екстракції з водного середовища органічним розчинником недисоційовані молекули досліджуваної речовини переходять в органічну фазу, а іони, що добре гідратовані молекулами води, залишаються у водній. При розробці методик ізолювання лікарських речовин на основі РРЕ попередньо експериментально встановлюють ступінь екстракції досліджуваної речовини залежно від природи органічного розчинника і рН водного середовища. Наприклад, максимальна кількість кокаїну екстрагується з водної фази хлороформом при рН 7,0–8,5 (80–83 %), мінімальна кількість — діетиловим етером при рН 8,0–8,5 (57–62 %). Використовують також загальний підхід: для екстракції речовин кислотного характеру необхідно створити в розчині  $\text{pH} = \text{pK}_a - 2$ , для речовин основного характеру —  $\text{pH} = \text{pK}_a + 2$ .

Зміна температури впливає на константу розподілу екстрагованої речовини (при зміні температури неоднаково змінюється розчинність токсикантів і домішок у водній і органічній фазах, а також змінюється взаємна розчинність фаз); співвідношення дисоційованої та асоційованої форм речовини у відповідній фазі; кількість співекстрактивних домішок. Оптимальною температурою для проведення процесу екстракції токсичних речовин є 25 °С, тому що при збільшенні температури зростає кількість домішок.

Наявність висолувачів ( $\text{NaCl}$ ;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) також збільшує ступінь екстракції і токсичних речовин, і домішок.

Розрахунок кількості повторних екстракцій ( $m$ ), необхідних для практично повної екстракції досліджуваних речовин з розчинів, проводиться за формулою:

$$m = \lg \frac{(C_{\text{init}})_B}{(C_m)_B} / \lg \left( 1 + \frac{P_o}{r} \right),$$

де  $(C_{\text{init}})_B$  — початкова концентрація речовини у водному розчині, моль/л;

$(C_m)_B$  — концентрація речовини, що залишилася у водному розчині після  $m$  екстракцій, моль/л;

$P_o$  — константа розподілу;

$r$  — відношення об'єму водної фази до об'єму органічного розчинника ( $V_B / V_o$ ).

*Константа розподілу* ( $P_o$ ) — це постійна величина, яка виражає відношення концентрацій речовини, що розподіляється в органічній та водній фазах (після встановлення рівноваги) в одній і тій самій формі:

$$P_o = \frac{C'_o}{C'_B},$$

де  $C'_o$  та  $C'_B$  — концентрації речовини в органічній та водній фазах, відповідно, моль/л.

Ступінь екстракції ( $R$ , %) (процент екстракції) — це відношення кількості екстрагованої речовини до початкової кількості цієї речовини у водному розчині:

$$R = \frac{N_o}{(N_{init})_B} \cdot 100,$$

де  $N_o$  — кількість речовини, що екстрагована органічним розчинником;

$(N_{init})_B$  — початкова кількість речовини у водному розчині.

Кількість речовини  $N_o$ , екстрагованої органічним розчинником, можна визначити експериментально, застосовуючи відповідний метод кількісного визначення. Таким чином, на підставі відомих величин початкової кількості речовини у водній фазі ( $(N_{init})_B$  та кількості цієї речовини, що перейшла в фазу органічного розчинника ( $N_o$ ), розраховують ступінь екстракції ( $R$ ).

Використовуючи розраховане значення  $R$  та відношення об'ємів водної та органічної фаз ( $r$ ), можна розрахувати константу розподілу ( $P_o$ ) за допомогою рівняння:

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

Експериментально доведено, що зазвичай для практично повної витяжки досліджуваних речовин з водних розчинів достатньо триразової екстракції, при цьому загальний об'єм органічного розчинника дорівнює об'єму водної фази.

### 6.3. МЕТОДИ ВИДІЛЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН З БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

Для ізолювання лікарських речовин з біологічних рідин використовують методи рідинно-рідинної та твердофазної екстракції. Попередня підготовка біологічної рідини до дослідження включає розведення та депротейнізацію крові, отримання плазми або сироватки, гідроліз кон'югатів досліджуваних речовин при пробопідготовці сечі (кислотний або ферментативний).

**Рідинно-рідинна екстракція.** Екстракцію лікарських речовин з плазми, сироватки або сечі проводять органічними

розчинниками з кислого або лужного середовища залежно від природи токсичної речовини у присутності електролітів або без них. Умови ізолювання обирають на основі попередніх досліджень з вивчення ступеня екстракції досліджуваної речовини залежно від природи органічного розчинника та рН водного розчину.

Лікарські речовини кислого характеру (барбітурати, саліцилати) екстрагують органічними розчинниками з кислого середовища (рН 1–3), речовини основного характеру (алкалоїди, похідні феногіазину, кислоти *n*-амінобензойної, опіоїди, трициклічні антидепресанти та ін.) екстрагуються органічним розчинником з лужного середовища при відповідному значенні рН. Як екстрагенти лікарських речовин із біологічних рідин найчастіше використовуються хлороформ, діетиловий етер, хлористий метилен, іноді — дихлоретан, бензен або суміш органічних розчинників.

При дослідженні сечі перед екстрацією проводять гідроліз кон'югатів — продуктів II етапу біотрансформації лікарських речовин, які є водорозчинними сполуками, у вигляді яких токсична речовина виділяється з організму. Використовують кислотний гідроліз (для цього до досліджуваної проби біологічної рідини додають 0,1 М розчин кислоти хлоридної та настоюють суміш протягом 10–12 год) або більш «м'який» ферментативний гідроліз. Останній потребує спеціальних матеріалів та обладнання.

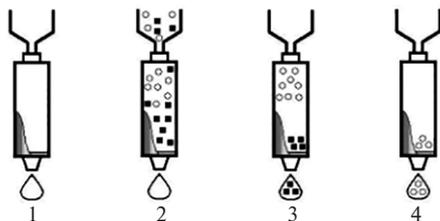
При дослідженні цільної крові попередньо необхідно провести осадження формених елементів крові (еритроцитарної маси) за допомогою кислот — хлоридної, трихлорацетатної концентрованих, натрій гідроксиду або нагріванням із наступним центрифугуванням.

При дослідженні плазми проводять депротейнізацію з метою розриву зв'язку «лікарська речовина–білок». Велика кількість лікарських речовин зв'язується з білками (іноді до 90 %), в основному з альбумінами, рідше з глобулінами. Для депротейнізації до плазми додають метанол, етанол, ацетон, ацетонітрил, так, щоб об'єм розчинника перевищував об'єм проби більше ніж у 10 разів. У деяких методиках пропонується розведення зразка водою.

**Твердофазна екстракція.** Альтернативою рідинно-рідинній екстракції при ізолюванні лікарських речовин із біологічних рідин є сорбція на полімерних смолах, модифікованих силікагелях, активованому вугіллі тощо (твердофазна екстракція). Токсична

речовина сорбується на твердому сорбенті, після чого її елюють відповідним розчинником.

Процес розділення компонентів біологічної матриці і досліджуваної речовини за допомогою ТФЕ наведено на рисунку 6.1.



**Рис. 6.1. Схема розділення компонентів біологічної матриці і досліджуваної речовини на патронах для ТФЕ:**

1 — промивка (конденціювання) колонки за допомогою кондиціонуючого розчинника; 2 — внесення досліджуваної проби, розчиненої у відповідному розчиннику; 3 — промивка колонки відповідним розчинником для видалення домішок; 4 — елювання досліджуваної речовини

Для ізолювання речовин кислого характеру біологічну рідину, наприклад сечу (50 мл), підкисляють до рН 2 за допомогою кислоти хлоридної. Для ізолювання речовин основного характеру біологічну рідину підлугуюють розчином амоній гідроксиду до рН 8–9. Оброблену таким чином пробу пропускають через колонку з сорбентом зі швидкістю 1,5–2 мл/хв. Речовини кислотного та нейтрального характеру, які утримуються гідрофобними групами сорбенту, елюються розчинниками середньої полярності, наприклад етилацетатом або сумішшю етилацетату та ацетону.

Оптимальним елюентом для речовин основного характеру, які утримуються протонною формою катіонообмінних груп сорбенту, є суміш хлороформ–ізопропанол (9:1 або 4:1). Потім органічні розчинники видаляють при 40°C під струмом нітрогену.

Метод твердофазної екстракції дозволяє не тільки ефективно виділити та сконцентрувати токсичні речовини (чутливість методу  $10^{-7}$ – $10^{-5}$  г), але й отримувати досить чисті зразки для подальшого аналізу та прискорити час аналізу (можна обробляти декілька проб біологічних рідин одночасно).

Нині промисловістю випускається широкий асортимент патронів для твердофазної екстракції, що розрізняються за природою, об'ємом сорбенту і конструкцією самого патрона (наприклад, концентруючі патрони Діапак, картриджі Oasis, Chromabond та ін.).

## 6.4. МЕТОДИ ОЧИСТКИ ВИТЯЖОК ВІД СУПУТНИХ ДОМІШОК І КОНЦЕНТРУВАННЯ ВИДІЛЕНИХ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

Для очистки досліджуваних лікарських речовин в екстрактах від співекстрактивних компонентів біологічної матриці (білки, жири, пігменти та ін.) використовують різні методи: фільтрування і центрифугування; осадження білків; екстракцію (PPE, TFE); хроматографію (на папері, тонкошарову, гель-хроматографію); електрофорез; дистиляцію з водяною парою (для летких речовин); сублімацію; діаліз.

**Фільтрування** дозволяє очистити витяжки від механічних домішок (дрібних частинок біологічного матеріалу). Однак при фільтруванні витяжок можлива адсорбція отрути на фільтрі і часткова її втрата, а також неповна очистка витяжки від домішок, обмежена діаметром пор фільтра. Ці недоліки усуваються **центрифугованням**.

Для **осадження білків** використовуються різні способи: додавання відповідних реактивів, нагрівання, висолювання, зміна рН середовища. Осадження білків за допомогою відповідних реактивів обумовлено утворенням мало розчинних у воді комплексів з фосфорно-вольфрамовою, фосфорно-молібденовою, вольфрамовою, трихлороцтовою, метафосфорною кислотами або коагуляцією білків при дії етанолу (ацетону).

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

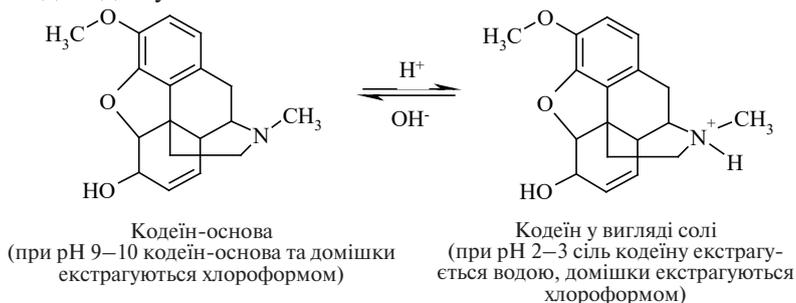
Ефективність висолювання як методу очистки витяжки залежить від концентрації і природи електролітів. При низьких концентраціях електроліти ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;  $\text{NaCl}$ ;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) підвищують розчинність білків, що обумовлено зміною ступеня дисоціації іонізованих (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

Осадження білків з витяжок можливе при зміні рН середовища до значення, що відповідає ізоелектричній точці білка, при якій кількість позитивних і негативних зарядів у молекулі білка однакова. Результатом досягнення відповідного значення рН розчину є відсутність електростатичного відштовхування молекул білків, що приводить до їх осадження.

Недоліком методів очистки витяжок при осадженні білків є здатність осадів домішок адсорбувати на своїй поверхні досліджувані речовини, що може бути однією з причин їх втрати під час пробопідготовки.

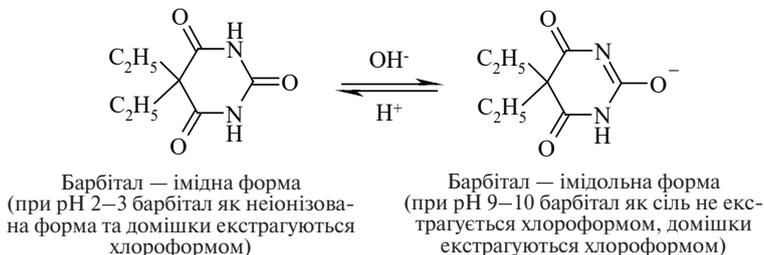
В основі **екстракційного методу очистки** лежить закон розподілу речовин між розчинниками, що не змішуються, а також їх здатність розчинятися в органічних розчинниках, а солей, які вони утворюють, — у воді. Метод простий, доступний і ефективний.

Екстракційна очистка речовин основного характеру на прикладі кодеїну.



Для екстракції домішок з витяжок необхідне встановлення відповідного значення рН середовища і застосування відповідного розчинника. При неправильному виборі цих чинників разом з домішками можуть екстрагуватися й аналізовані токсичні речовини.

Екстракційна очистка речовин кислого характеру на прикладі барбітуратів.



В основі очистки за допомогою **методу тонкошарової хроматографії (ТШХ-очистка)** лежить різниця в розподілі речовин між рухомою рідкою фазою і твердою фазою, нанесеною на тверду підложку. Обирають такі рухомі фази, у яких домішки залишаються на старті чи рухаються разом із фронтом рідкої фази. Метод простий, доступний, дозволяє не тільки відділити

досліджувану речовину від домішок, але й одночасно провести її виявлення.

Для очистки екстрактів, отриманих з об'єктів, що знаходяться на стадії гnilісних змін, ефективне сполучення екстракційної та ТШХ-очистки.

В основі методу *електрофорезу на папері* лежить розподіл речовин на папері, що знаходиться в електроліті, під дією електричного поля. Іони досліджуваної суміші рухаються до електрода протилежного знака. За ефективністю цей метод наближається до ТШХ-очистки, але вимагає спеціального обладнання.

Очистка екстрактів за допомогою *гель-хроматографії* базується на різній поведінці молекул стосовно пор гелю: відносно невеликі молекули лікарської речовини проникають у пори гелю і затримуються в них, великі молекули домішок обходять пори чи утримуються на поверхні гелю. Метод гелі-хроматографії застосовується для очистки водних витяжок. Він трудомісткий, але ефективний.

*Дистиляція з водяною парою і метод сублимації* ґрунтується на летких властивостях окремих лікарських речовин (алкалоїди, похідні піридину і піперидину, барбітурати). Цей метод простий, але його використання раціональне при дослідженні об'єктів, що містять відносно великі кількості токсичної речовини, що трапляється рідко при проведенні токсикологічних досліджень.

*Метод діалізу* базується на застосуванні напівпроникних мембран, через пори яких здатні проходити іони, невеликі молекули органічних речовин у той час як великі молекули (білки, пептиди та ін.) залишаються по інший бік мембран. Метод має обмежене застосування для очищення лікарських речовин в екстрактах, оскільки він тривалий, можливі значні втрати досліджуваних речовин.

**Методи концентрування екстрактів.** До методів концентрування відносять екстракційне концентрування, випаровування на повітрі при 40 °С або у потоці нітрогену, випаровування під вакуумом, адсорбцію токсикантів твердим сорбентом з наступною десорбцією.

Перспективним методом пробопідготовки є ТФЕ, яка поєднує ізолювання токсиканта (при дослідженні біологічних рідин), очистку від біогенних домішок та концентрування.

## 6.5. МЕТОДИ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

### 6.5.1. ЗАГАЛЬНА СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ НА ВМІСТ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

Вибір схеми токсикологічного дослідження біологічного об'єкта на вміст лікарської речовини залежить від таких факторів, як походження об'єкта (секційний матеріал, біологічні рідини трупа, біологічні рідини живої людини та ін.); напрями токсикологічного дослідження: судово-токсикологічне дослідження секційного матеріалу, що передбачає виявлення та визначення лікарських речовин у токсичних та летальних дозах ( $10^{-4}$ – $10^{-6}$  г у пробі), клініко-токсикологічні дослідження біологічних рідин при аналітичній діагностиці інтоксикацій, встановлення факту прийому наркотичних та психотропних препаратів, терапевтичного лікарського моніторингу, допінг-контролю у спорті (аналіз лікарських речовин у терапевтичних та токсичних дозах —  $10^{-6}$ – $10^{-12}$  г у пробі).

Основні етапи ненаправленого судово-токсикологічного дослідження біологічних об'єктів на вміст лікарських речовин наведено на рис. 6.2.

Об'єктами судово-токсикологічного дослідження є секційний матеріал (органи та тканини трупа), біологічні рідини трупа (кров, сеча, слина, промивні води шлунка, внутрішньоочна рідина, жовч), а також деякі інші об'єкти — вміст шлунка, волосся, кістки, нігті тощо. Пробопідготовка включає ізолювання досліджуваної речовини з об'єкта та відокремлення (очистку) її від ендогенних компонентів біологічної матриці. Секційний матеріал зважують, подрібнюють (гомогенізують, піддають ліофілізації) та проводять ізолювання за допомогою загальних методів: екстракції водою, підкисленою кислотою оксалатною за методом А.О. Васильєвої, або екстракції етанолом, підкисленим кислотою оксалатною за методом Стаса—Отто. Ізолювання лікарських речовин з біологічних рідин проводять методом рідинно-рідинної екстракції (PPE) з використанням органічних розчинників або твердофазної екстракції (ТФЕ). Очистку отриманих екстрактів проводять за допомогою PPE, ТФЕ, тонкошарової хроматографії. Ефективним є поєднання PPE та ТШХ.

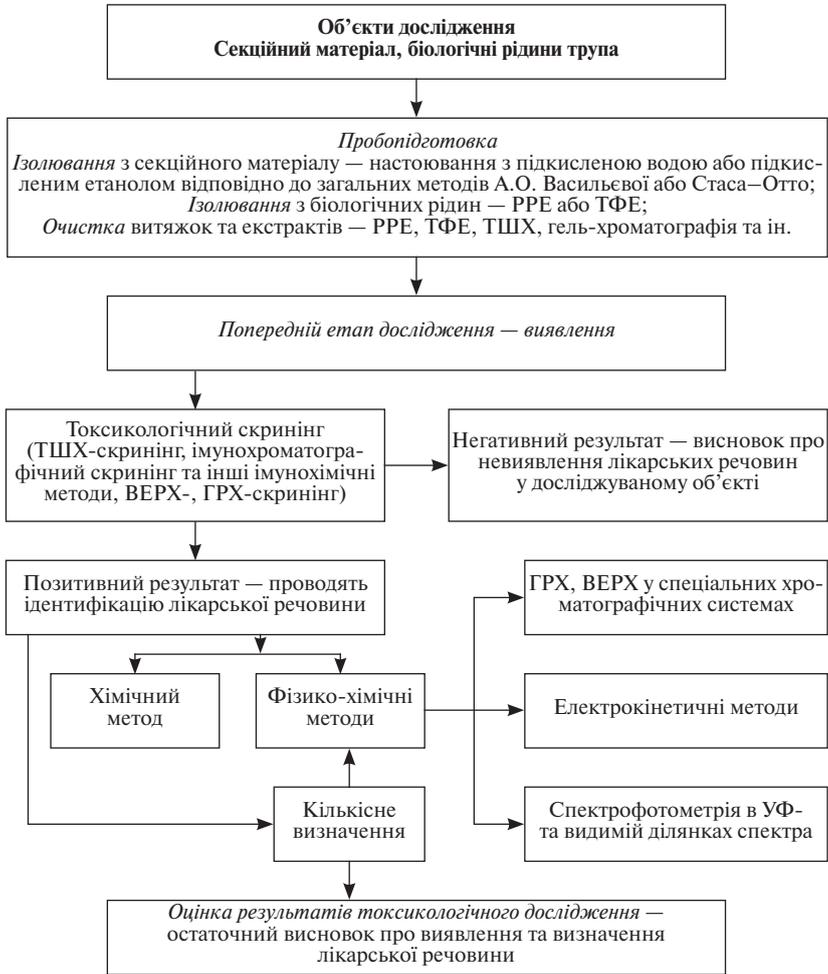


Рис. 6.2. Схема ненаправленого судово-токсикологічного дослідження біологічних об'єктів на вміст лікарських речовин

Попередній етап судово-токсикологічного дослідження (виявлення) дозволяє виявити токсикант в екстракті та віднести його до певної групи хімічних сполук. Вказаний етап базується на методології «скринінгу» (від англ. *screening* — просіювання, тобто система відбору за відповідним параметром). Методологія скринінгу допускає хибнопозитивні результати, але повністю виключає хибнонегативні. Тобто негативний результат скринінгу приймають як остаточний без будь-якої на те перевірки. Токсикологічний скринінг реалізують за допомогою таких

методів, як імунохімічний (імунохроматографічний), ТШХ, ГРХ та ВЕРХ.

При отриманні негативного результату на етапі токсикологічного скринінгу роблять висновок про невиявлення токсичних та летальних доз лікарських речовин у досліджуваному об'єкті. При отриманні позитивного результату на етапі токсикологічного скринінгу проводять підтверджуюче дослідження з ідентифікації та кількісного визначення токсичної речовини. Для цього використовують комплекс хімічних, фізико-хімічних, імунохімічних методів. Згідно з рекомендаціями ТІАФТ, результати судово-токсикологічного дослідження мають бути отримані з використанням мінімум двох фізико-хімічних методів аналізу, які базуються на різних фізичних явищах (наприклад, хроматографічні та спектральні методи аналізу).

Кількісне визначення токсичних речовин, виділених з біологічного об'єкта, є заключним етапом хіміко-токсикологічного аналізу та проводиться після їх ідентифікації. При ідентифікації можуть бути виявлені токсичні речовини, які були прийняті потерпілим у терапевтичних дозах (з лікувальною метою) і які не стали причиною отруєння. При токсикологічних дослідженнях для кількісного визначення лікарських речовин, виділених з біологічного матеріалу та біологічних рідин, а також з таких об'єктів, як порошки, тверді субстанції, таблетки, ін'єкційні розчини тощо, що були знайдені біля потерпілого, застосовують інструментальні методи аналізу: спектрофотометрію в УФ і видимій ділянках спектра, ГРХ, ВЕРХ, денситометрію (після дослідження методом ТШХ), електрокінетичні методи (капілярний зонний електрофорез, міцелярна електрокінетична хроматографія) та деякі інші методи. Через малу чутливість титриметричних методів вони практично не застосовуються в хіміко-токсикологічному аналізі. Виділені з біологічного матеріалу речовини, які підлягають кількісному визначенню, мають бути добре очищені від білкових сполук, продуктів їх розкладу, які утворюються в трупному матеріалі, та від інших домішок.

Результати кількісного визначення токсичних речовин, виділених з біологічного матеріалу, мають велике значення для вирішення питання щодо причини отруєння. При цьому необхідно враховувати, що у деяких випадках результати цих визначень можуть бути занижені. Це зумовлено низкою факторів. Токсичні речовини в організмі значною мірою піддаються біотрансформації, нерівномірно розподіляються в органах та тканинах організму.

В одних органах ці речовини знаходяться у більших кількостях, ніж в інших, а в деяких органах та тканинах ці речовини можуть бути відсутні. Тому результати хіміко-токсикологічного аналізу залежать від правильного вибору органів та тканин, що направляються на дослідження.

Токсичні речовини в організмі зв'язуються з білковими та іншими сполуками. Кількість речовин, що переходять у втяжки з біологічного матеріалу, залежить від обраного методу ізолювання токсичної речовини. Кількість токсичних речовин, які виділені з біологічного матеріалу, залежить також від ступеня гнилісного розкладу досліджуваних об'єктів та інших чинників.

Методи кількісного визначення окремих речовин наведено у відповідних розділах, де розглядається хіміко-токсикологічний аналіз лікарських речовин кислого, нейтрального та основного характеру.

Оцінка результатів токсикологічного дослідження включає формулювання остаточного висновку про виявлення лікарської речовини в об'єкті та співставлення результатів кількісного визначення з токсичними та летальними концентраціями досліджуваної речовини у відповідних тканинах та біологічних рідинах людини у випадках отруєнь вказаною речовиною. Такі дані є доступними у багатьох фахових виданнях з судової, клінічної та аналітичної токсикології (Clarke's Analytical Forensic Toxicology, 2008; Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4-th edition, 2011; Baselt C.R. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, 2011 та ін.).

Вибір методу аналізу для відповідного етапу токсикологічного дослідження (скринінг, ідентифікація, кількісне визначення) обумовлений такими валідаційними характеристиками, як межа виявлення (кількісне визначення) та селективність (специфічність) аналітичної методики. Межа виявлення для аналітичної методики становить мінімальну кількість досліджуваної речовини в об'єкті, яка може бути виявлена. Межа кількісного визначення для аналітичної методики являє собою мінімальну кількість досліджуваної речовини в об'єкті, яка може бути кількісно визначена з потрібною правильністю і точністю. Так, хімічний метод аналізу дозволяє виявляти мінімальні кількості токсичних речовин, що знаходяться в діапазоні  $10^{-3}$ – $10^{-6}$  г у пробі; УФ-спектрофотометричний метод —  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  г у пробі; ТШХ —  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  г у пробі; ГРХ —  $10^{-8}$ – $10^{-10}$  г у пробі; ВЕРХ —  $10^{-8}$ – $10^{-10}$  г у пробі; мас-спектрометрія та тандемні методи з її використанням (ГРХ-МС, ВЕРХ-МС), а також імунохімічні методи дозволяють виявляти до  $10^{-10}$ – $10^{-12}$  г токсичних речовин у пробі.

Селективність (специфічність) методики — це здатність методики однозначно оцінювати аналізовану речовину у присутності інших компонентів, які можуть бути наявні в об'єкті дослідження (ендогенні компоненти біологічної матриці — біологічні домішки, а також фармакологічні, хімічні аналоги досліджуваної речовини, лікарські речовини, які можуть призначатися сумісно з досліджуваною речовиною або надходити до організму разом з нею не за медичним призначенням, наприклад, алкоголь, наркотичні та психотропні речовини).

Результати досліджень, отримані на основі хімічного, імунохроматографічного методів або ТШХ, обов'язково мають бути підтверджені фізико-хімічними методами аналізу. Результати тандемних методів аналізу, таких як ГРХ-МС або ВЕРХ-МС, що базуються на поєднанні хроматографічних характеристик (параметрів утримування) та мас-спектра досліджуваної речовини, підтвердження іншими методами аналізу не потребують.

Вибір методів аналізу значною мірою залежить від оснащення судово-токсикологічної (хіміко-токсикологічної) лабораторії (інструментальна база, наявність розчинників, реактивів та інших матеріалів).

### **6.5.2. ТШХ-СКРИНІНГ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН**

Вибір тонкошарової хроматографії для пошуку лікарської речовини при токсикологічних дослідженнях обумовлений такими перевагами вказаного методу, як можливість дослідження та розділення суміші речовин різних хімічних груп в одній хроматографічній системі, досить висока чутливість щодо токсичних та летальних доз, експресність, відтворюваність, можливість поєднання з іншими методами дослідження, відокремлення співекстрактивних речовин біологічної матриці. Простота і низька вартість обладнання, необхідного для ТШХ-дослідження, також сприяють широкому використанню вказаного методу в аналітичній токсикології, зокрема для здійснення токсикологічного скринінгу в судовій токсикології (ТШХ-скринінг).

Тонкошарова хроматографія є рідинно-твердофазною хроматографією, в якій сорбент знаходиться у вигляді тонкого шару на пластинці. Хроматографічне розділення обумовлене перенесенням компонентів рідкої рухомої фази вздовж шару нерухомої (стаціонарної) фази (сорбент) з різними швидкостями у відповідності з коефіцієнтами розподілу компонентів, що розділяються. Найбільш поширеним є метод висхідної хроматографії, в якій рідка рухома фаза надходить на пластинку вгору під дією

капілярних сил. Як хроматографічну камеру використовують ємність з плоским дном та щільно закритою кришкою, в якій вільно вміщується хроматографічна пластинка.

Як стаціонарні фази найчастіше застосовують силікагель, алюміній оксид, поліамідні смоли. Силікагель являє собою гідратовану кислоту силікатну, яка утворюється при дії мінеральних кислот на натрій силікат з наступною сушкою золю, що утворився. Після розмелювання золю використовують фракцію певної зернистості, яка зазначена на пластинці (зазвичай 5–20 мкм). Так, фракціонований силікагель КСКГ зазвичай має розмір частинок 5–40 мкм (звичайні ТШХ-пластини) або 2–10 мкм (пластини для високоефективної ТШХ). Товщина шару сорбенту становить 110–130 мкм. Можуть випускатися пластини з товщиною шару до 200 мкм. Найважливіша вимога до хроматографічної пластини — рівномірний за товщиною розподіл шару сорбенту. Силікагель є полярним сорбентом, як активні центри виступають гідроксильні групи. Він легко сорбує на поверхні воду і утворює водневі зв'язки. Силікагель є універсальним адсорбентом, який можливо застосовувати для розділення більшості хімічних речовин.

Алюміній оксид є слабоосновним сорбентом, характеризується сильними адсорбційними властивостями, використовується зазвичай для розділення слабоосновних і неполярних речовин. Недоліком пластин із шаром алюміній оксиду є обов'язкова активація перед використанням у сушильній шафі при високій температурі (100–150 °С) і низька, порівняно з силікагелем, адсорбційна ємність шару.

На поліамідних смолах можна ефективно розділяти речовини, що містять гідроксильну групу, зв'язану з ароматичним кільцем, наприклад, феноли.

Для закріплення сорбенту на підкладці застосовують гіпс, крохмаль, силіказоль та інші речовини. Як матеріали підкладки використовують скло, алюміній або полімери, наприклад політерефталат.

Випускаються хроматографічні пластини, в яких сорбент містить флюоресцентний індикатор з поглинанням при 254 нм (інколи при 366 нм). Поверхня силікагелю може бути модифікована з використанням щеплених фаз, наприклад, заміщених алкілхлорсиланів, що містять полярні групи, такі як нітрильні, аміногрупи та ін. Застосування щеплених фаз дозволяє тонко керувати сорбційними властивостями поверхні нерухомої фази і підвищувати ефективність розподілу речовин.

Як рухому фазу використовують різні розчинники (метанол, ацетон, етилацетат, бензен тощо) або їх суміші у певному співвідношенні. При підборі рухомої фази обирають такі розчинники, в яких досліджувані речовини мають обмежену розчинність. При високій розчинності досліджуваної речовини в рухомій фазі вона буде переміщуватися з фронтом розчинників, при низькій розчинності — залишатися на старті. При виборі складу рухомої фази також необхідно враховувати природу досліджуваних речовин. Так, при хроматографуванні речовин основного характеру система не повинна мати кислотних властивостей і навпаки. Розчинники, що входять до складу рухомої фази, мають бути доступними, малотоксичними, хімічно інертними щодо речовин, що розділяються. В обраній рухомій фазі речовини повинні мати різні значення  $R_f$  і розподілятися по всій довжині хроматограми. Бажано, щоб значення  $R_f$  досліджуваної речовини знаходилось в межах 0,05–0,85.

**Методи детектування (візуалізації) при ТЛХ-дослідженні.** Для визначення місця розташування плям досліджуваних речовин на хроматограмі використовують ультрафіолетове світло (в основному випромінювання з довжиною хвилі 366 і 254 нм) та різноманітні хромогенні реактиви. Кольорові реакції використовуються в тонкошаровій хроматографії надзвичайно широко. Вони дозволяють не тільки встановити локалізацію компонентів після розділення, а й визначити як клас досліджуваної сполуки, так і провести ідентифікацію речовин за наявності специфічних реакцій.

Положення плями речовини на хроматограмі (хроматографічна рухливість) характеризують величиною  $R_f$  (від англ. *ratio of fronts* — відношення фронтів). Величину  $R_f$  визначають як відношення відстані ( $l_x$ ), яка пройдена речовиною (відстань від лінії старту до центру плями речовини), до відстані від лінії старту до лінії фронту рухомої фази ( $l_o$ ):

$$R_f = l_x / l_o$$

Значення  $R_f$  є важливою величиною, яка характеризує хроматографічні властивості речовин, що розділяють, у заданих умовах хроматографічної системи. Основою для ідентифікації є співпадіння значень  $R_f$  досліджуваної речовини і відомої речовини-стандарту. При проведенні досліджень з виявлення речовин з передбачуваним складом, наприклад, при направленому токсикологічному дослідженні, застосовують метод хроматографування зі свідком — відомою речовиною.

Значення  $R_f$  завжди менше за одиницю, тому для зручності часто використовують параметр  $hR_f$ , який завжди виражається як ціле число:

$$hR_f = R_f \cdot 100.$$

Відносні параметри хроматографічної рухливості є більш відтворюваними, ніж їх абсолютні значення. Одним із таких параметрів є  $R_{st}$ , що обчислюють як відношення відстані ( $l_x$ ), пройденої досліджуваною речовиною, до відстані, яку пройдено деякою еталонною речовиною-стандартом ( $l_{st}$ ):

$$R_{st} = l_x / l_{st}.$$

Використання ТШХ як скринінгового методу у систематичному токсикологічному аналізі передбачає застосування стандартних ТШХ-систем та баз даних з параметрів хроматографічної рухливості, які представлені в спеціальній літературі з аналітичної токсикології (Clarke's Analytical Forensic Toxicology, 2008; Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4-th edition, 2011 та ін.). Для використання таких баз даних насамперед необхідне створення умов для відтворення значень  $R_f$ . Для цього перед використанням приготовленої хроматографічної системи необхідно провести її апробацію з використанням зразків порівняння (референтних речовин). Одержані значення величин  $R_f$  для референтних речовин мають співпадати з даними наукових джерел. Зазвичай використовують суміш референтних речовин, які рівномірно розподіляються на хроматограмі у всьому діапазоні величин  $R_f$ .

Для токсикологічного скринінгу запропоновано використання скорельованих значень параметрів хроматографічної рухливості  $R_f^{cor}$ . Їх обчислюють з використанням двох референтних речовин, з яких одна речовина елююється до досліджуваного токсиканта (речовина  $A$ ), інша — після нього (речовина  $B$ ) за формулою:

$$R_f^{cor}(X) = R_f^1(A) + \Delta^1 / \Delta^o [R_f^o(X) - R_f^o(A)],$$

де  $\Delta^1 = R_f^1(B) - R_f^1(A)$ ;

$\Delta^o = R_f^o(B) - R_f^o(A)$ ;

$R_f^o(X)$ ,  $R_f^o(A)$  і  $R_f^o(B)$  — значення  $R_f$  токсиканта ( $X$ ) та референтних речовин ( $A$ ) і ( $B$ ) відповідно у стандартних розчинах, отримані одночасно в одному досліді;

$R_f^{cor}(X)$ ,  $R_f^1(A)$  і  $R_f^1(B)$  — значення  $R_f$  токсиканта ( $X$ ) у досліджуваному розчині, референтних речовин ( $A$ ) і ( $B$ ) у стандартних розчинах, отримані одночасно у цьому досліді.

Встановлено, що при використанні скорельованих значень  $R_f$  їх стандартні відхилення зменшуються на 50 %.

Як вказано вище, умови ТШХ-системи характеризуються вибором стаціонарної та рухомої фаз, набору референтних речовин, а також способом детектування токсиканта. На сьогодні запропоновано різні варіанти ТШХ-скринінгу лікарських речовин.

Комітетом з систематичного токсикологічного аналізу Міжнародної асоціації судових токсикологів (The International Association of Forensic Toxicologists, TIAFT) рекомендовано 11 хроматографічних систем, для яких база даних включає величини з хроматографічної рухливості близько 1600 токсикологічно важливих речовин та є доступною у низці уже згаданих видань з аналітичної токсикології.

База даних скринінгової системи Merck Tox Screening System (MTSS) містить дані з хроматографічної рухливості не тільки у тонкому шарі сорбенту (для систем, рекомендованих TIAFT), а й з інших хроматографічних методів, а також дані зі спектральних параметрів токсичних речовин.

*G. Romano та співавт.* (1994) представлено базу даних для 443 речовин у 4 ТШХ-системах, рекомендованих TIAFT, але декілька модифікованих відносно нерухомої фази (як нерухому фазу використано сорбент «high-performance silica gel TLC»).

У системі токсикологічного скринінгу UniTox запропоновано три ТШХ-системи, в двох з яких використано обернено-фазну ТШХ, що дозволяє доповнити дані, отримані на силікагелі, та підвищити надійність ідентифікації. База даних UniTox охоплює 375 найбільш важливих у токсикологічному відношенні речовин, включаючи великий перелік амфетамінів.

Система для ТШХ-скринінгу «Toxi-Lab-AB», що включає комплекс обладнання для екстракції, розділення та виявлення токсичних речовин, пропонує поєднання нормально- та обернено-фазної ТШХ, а також результати хромогенних реакцій. Це дозволяє надійно детектувати та ідентифікувати досліджувану речовину.

Б.М. Ізотовим та В.А. Карташовим зі співавт. запропоновано низку скринінгових ТШХ-систем та референтних речовин, які поділяють хроматографічну пластину на зони залежно від величини  $R_f$ . Авторами наведено дані з розподілу за відповідними хроматографічними зонами для найбільш важливих у токсикологічному відношенні речовин кислого, нейтрального та основного характеру.

У вітчизняній практиці судово-токсикологічних досліджень для скринінгу психотропних та наркотичних речовин широко використовують такі рухомі фази, як толуен—ацетон—етанол—25 % розчин амоній гідроксиду (45:45:7,5:2,5) та хлороформ—діоксан—ацетон—25 % розчин амоній гідроксиду (47,5:45:5:2,5), які зазвичай забезпечують ефективне розділення речовин кислого, нейтрального та основного характеру.

**Умови ТШХ-скринінгу.** Найширше застосування у судовій токсикології знайшли скринінгові системи, рекомендовані ТІАФТ. З 11 хроматографічних систем, які наведено в табл. 6.2, чотири системи (№1—4а) використовують для розділення речовин кислого та нейтрального характеру, сім систем (№4б—10) — для виявлення речовин нейтрального та основного характеру.

Таблиця 6.2

**ТШХ-системи, які рекомендовано ТІАФТ  
для токсикологічного скринінгу**

№ з/п	Рухома фаза	Стационарна фаза	Референтні речовини	$hR_f$ референтних речовин
1	2	3	4	5
1	Хлороформ—ацетон (80:20)	Силікагель	Парацетамол Клоназепам Секобарбітал Метилфенобарбітал	15 35 55 70
2	Етилацетат	Силікагель	Сульфатіазол Фенацетин Салициламід Секобарбітал	20 38 55 68
3	Хлороформ—метанол (90:10)	Силікагель	Гіпотіазид Сульфазуразол Фенацетин Прозепам	11 33 52 72
4	а) Етилацетат—метанол—25 % розчин амоній гідроксиду (85:10:5) (для речовин кислого та нейтрального характеру)	Силікагель	Сульфадимезин Гіпотіазид Теназепам Паразепам	13 34 63 81
	б) Етилацетат—метанол—25 % розчин амоній гідроксиду (85:10:5) (для речовин основного характеру)	Силікагель	Морфін Кодеїн Гідроксизин Триміпрамін	20 35 53 80
5	Метанол	Силікагель	Кодеїн Триміпрамін Гідроксимін Діазепам	20 36 56 82

1	2	3	4	5
6	Метанол– <i>n</i> -бутанол (60:40)	Силікагель	Кодеїн Дифенгідрамін Хінін Діазепам	22 48 65 85
7	Метанол–25 % роз- чин амоній гідроксиду (100:1,5)	Силікагель, імпрегнований 0,1 М р-ном КОН та висушений	Атропін Кодеїн Хлорпротиксен Діазепам	18 33 50 75
8	Циклогексан–толуол–ді- етиламін (75:15:10)	Те саме	Кодеїн Дезіпрамін Прозепам Триміпрамін	6 20 36 62
9	Хлороформ–метанол (90:10)	Те саме	Дезіпрамін Фізостигмін Триміпрамін Лідокаїн	11 36 54 71
10	Ацетон	Те саме	Амітриптилін Новокаїн Папаверин Циннарізин	15 30 47 65

**Примітки:**

1. Розчинники змішують в об'ємних відношеннях. Для усіх систем, крім 5 та 6, використовують насичені камери.
2. Концентрація розчинів референтних речовин становить 2 мг/мл.

**Детектування.** Хроматограму досліджують в УФ-світлі. При цьому виявляються речовини, які мають власну флюоресценцію при опроміненні світлом певної довжини хвилі. Так, велика кількість ароматичних сполук має власну флюоресценцію при 360 нм, що дозволяє їх виявити при вказаній довжині хвилі у вигляді плям з жовтою флюоресценцією на темному фоні.

При застосуванні сорбенту з флюоресцентним індикатором в УФ-променях з довжиною хвилі 254 нм флюоресціює вся нерухома фаза (спостерігається рівномірне жовто-зелене світіння), за винятком зон сполук, що гасять флюоресценцію; ці сполуки виявляються у вигляді темних плям на світлому фоні, що флюоресціює.

Більш специфічним методом виявлення (проявлення) досліджуваної речовини на хроматографічній пластинці є обробка її хімічними реагентами (проявниками), що утворюють хромофори з функціональними групами речовин.

Для токсикологічного скринінгу ТІАФТ рекомендоване використання стандартної процедури детектування, що включає застосування комплексу хромогенних реактивів, наведених нижче.

### **Візуалізація речовин кислого характеру:**

*УФ-світло* ( $\lambda_{254}$  і  $\lambda_{366}$  нм).

*Реактив Ван-Урка* — при нагріванні до 100 °С протягом 5 хв (1 г *n*-диметиламінобензальдегіду в 100 мл етанолу і 10 мл кислоти хлоридної) — жовті плями дають сульфаніламід та мепробамат.

*Розчин ферум(III) хлориду 5 %* — блакитні або фіолетові плями дають феноли (саліцилати).

*Розчин ртуті(II) нітрату насичений* — темні плями дають барбітурати.

*Розчин ртуті(II) нітрату 5 % та розчин дифенілкарбазону в хлороформі 0,1 %* послідовно — фіолетові плями дають барбітурати.

*Калій перманганату підкислений розчин* — жовто-коричневі плями на фіолетовому фоні з'являються у присутності речовин з ненасиченими аліфатичними зв'язками, наприклад секобарбіталу.

### **Візуалізація речовин основного характеру:**

*УФ-світло* ( $\lambda_{254}$  і  $\lambda_{366}$  нм).

*Нінгідрину розчин в n-бутанолі або ацетоні* — при обробці хроматографічної пластини реактивом з наступним нагріванням при 100 °С протягом 5 хв з'являються фіолетові та рожеві плями за наявності первинних або вторинних амінів (фенілалкіламіни: ефедрин, ефедрон, амфетамін, метамфетамін та ін.).

*Реактив ФПН* (5 мл ферум(III) хлориду 10 % розчину + 45 мл кислоти перхлорної 20 % розчину + 50 мл кислоти нітратної 50 % розчину) — червоні або коричнево-червоні плями дають фенотіазини.

*Реактив Драгендорфа* — оранжеві, жовті, коричневі плями дають третинні аміни (алкалоїди). Реактив може бути використаний після попередньої обробки пластини нінгідрином або кислотою сульфатною.

*Розчин калій йодплатинату підкислений* — фіолетові, блакитно-фіолетові, сіро-фіолетові, коричнево-фіолетові плями на рожевому фоні дають третинні та четвертинні аміни.

*Реактив Манделіна* — плями різноманітних кольорів дають багато лікарських речовин.

*Реактив Маркі* — чорні, фіолетові плями дають опіати та багато інших лікарських речовин.

*Розчин калій перманганату підкислений* — жовто-коричневі плями дають речовини з ненасиченими аліфатичними зв'язками.

*Розчин кислоти сульфатної в етанолі 50 %* — фіолетові, блакитно-фіолетові, рожеві плями дають фенотіазини.

### **Візуалізація речовин нейтрального характеру:**

УФ-світло ( $\lambda_{254}$  і  $\lambda_{366}$  нм).

Фуральдегід — фіолетові, синьо-чорні плями дають карбамати.

*Розчин калій йодплатинату підкислений.* При ТШХ-скринінгу на хроматографічну пластину наносять декілька аліквот досліджуваного екстракту (приблизно 1/25 частину загального об'єму екстракту, випареного до мінімального об'єму, 2–5 мкл), решту екстракту наносять на пластину смугою. Після розвитку та висушування хроматограми кожну з зон, що відповідає одній пробі екстракту, обробляють відповідними хромогенними реактивами. Останню зону, яка відповідає пробі екстракту, що була нанесена смугою, реактивами для проявлення не обробляють. При виявленні токсиканта його елюють з непроявленої зони. Отриманий елюат використовують для проведення підтверджуючого етапу дослідження.

**Оцінка результатів ТШХ-скринінгу.** Згідно з рекомендаціями ТІАФТ виявлення токсичної речовини на етапі ТШХ-скринінгу вважається надійним за умови використання не менш ніж двох ТШХ-систем з низькою кореляцією значень  $R_f$  та застосування не менш ніж чотирьох хромогенних реактивів при детектуванні на одній хроматографічній пластині.

### **6.5.3. ІМУНОХІМІЧНІ МЕТОДИ**

Імунохімічні методи аналізу базуються на специфічному зв'язуванні імунних агентів — антитіл (*Am*) і антигенів (*Ag*).

*Антигени* — це чужорідні речовини, які при потраплянні до організму здатні викликати специфічну імунну відповідь, у результаті чого продукуються антитіла. *Антитіла* — це білки-імуноглобуліни, специфічність яких обумовлена первинною послідовністю розташування амінокислот у варіабельній ділянці fab-фрагмента (від англ. *fragment antigen binding*), що відповідає за зв'язування з антигеном. При цьому відповідна ділянка в структурі антитіла специфічно зв'язується не з цілою молекулою антигена, а з окремим її фрагментом. Тобто антитіла специфічні не до індивідуальних речовин, а до їх певної групи, що характеризується наявністю в хімічній структурі вказаного фрагмента. Наприклад, виробляються антитіла, специфічні до опіатів, амфетамінів, канабіноїдів тощо.

*Біосинтез антитіл.* Імунна система є відповідальною за біосинтез антитіл, вона складається з низки органів, основними з яких є тимус, селезінка і периферичні лімфоїдні структури.

Антитіла виробляються В-лімфоцитами, на поверхні яких є рецептори, що специфічно зв'язують антигени. Антиген, зустрічаючись у кровотоці з комплементарним рецептором, проводить добір (селекцію) відповідного В-лімфоцита, який потім, трансформуючись до плазматичної клітини і багаторазово поділяючись, утворює клан клітин. Важливо відзначити, що кожен клан плазматичних клітин секретує гомогенні за своєю структурою антитіла. Антиген активує в крові відразу кілька типів В-лімфоцитів, що містять рецептори різного ступеня специфічності стосовно вихідного антигену. Така імунна відповідь називається поліклональною, а антитіла — поліклональними.

Сироватку тварини, що містить специфічні до даного антигену антитіла, називають антисироваткою. Принципово важливим є те, що поліклональні антитіла навіть проти однієї єдиної антигенної детермінанти гетерогенні як за структурою активного центру, так і за фізико-хімічними властивостями. Це обумовлює можливість неспецифічного зв'язування і отримання певної кількості хибнопозитивних результатів при використанні імунохімічних методів аналізу.

Роботи Келлера і Мільштейна (1975 р.) з гібридизації тваринних клітин відкрили новий шлях одержання антитіл. Суть методу полягає в тому, що з організму імунізованої тварини виділяються лімфоцити, які спеціальним чином «зливаються» (гібридизуються) з мієломними клітинами. Клітини, що утворюються, одержали назву *гібридоми*. Особливістю таких клітин є їх здатність розмножуватися і утворювати антитіла в штучних умовах поза організмом. За допомогою спеціальних методів клонування можна виділити одну гібридну клітину, яка, розмножуючись, буде секретувати антитіла тільки одного виду — *моноклональні*. Основною властивістю, на якій ґрунтується застосування моноклональних антитіл в імуноаналізі, є висока специфічність взаємодії.

Слід зазначити, що низькомолекулярні органічні сполуки, до яких належать більшість лікарських речовин, не індукують вироблення антитіл. Однак ці речовини перетворюють у досить антигенні шляхом приєднання їх молекул до білка чи штучного поліпептиду за допомогою ковалентного зв'язку. Отримані у такий спосіб сполуки називаються *гаптенами* (Г). При парентеральному введенні в організм тварин гаптени індукують утворення антитіл. Таким шляхом отримують антисироватки для визначення лікарських речовин імунохімічним методом.

Для реєстрації результатів дослідження, отриманих імунохімічним методом, антигени (або відповідні ім гаптени) і антитіла зв'язують з «мітками», у цьому випадку їх називають *міченими* —  $G(m)$  або  $At(m)$ . Залежно від «мітки», яка використовується в імунохімічному методі аналізу, розрізняють такі його види: *радіоімунний* (РІА) (як мітку використовують радіоактивний ізотоп), *імуноферментний* (ІФА) (як мітку використовують фермент), *імунофлюоресцентний* (як мітку використовують флюоресцентний агент) і деякі інші.

Для експрес-діагностики наркотичного та токсикоманічного сп'яніння або встановлення факту вживання психотропних речовин широкого застосування набуває імунохроматографічний метод.

*Імунохроматографічний скринінг.* Імунохроматографічний метод реалізується у форматі тест-смужок або тест-касет. Перевагами цього методу є висока чутливість; групова специфічність; можливість визначення як нативних сполук наркотичних та психотропних речовин, так і їх метаболітів; висока швидкість виконання аналізу (до 10 хв); відсутність стадії пробопідготовки зразка; відсутність необхідності у складному інструментальному оформленні аналізу та особливих вимог до кваліфікації персоналу; можливість проведення аналізу у місці отримання зразка, що є необхідною умовою при проведенні масових обстежень; наявність системи внутрішнього контролю, що дає можливість виключити технічні помилки.

В Україні зареєстровані та сертифіковані імунохроматографічні тести SNIPER фірми Alfa Scientific Design Inc, USA, поставальником яких є медична компанія «Фармаска». Вони призначені для тестування зразка сечі людини в умовах *in vitro* на наявність наркотичних та психотропних речовин та їх метаболітів.

Зазначені тест-смужки мають три робочі зони: ділянку занурення у біологічну рідину, тест-зону «Т» та контрольну зону «С». На тест-смужку поблизу ділянки занурення нанесені рухомі моноклональні антитіла, специфічні до антигену — наркотика, який визначається. Ці антитіла мічені (ковалентно зв'язані) барвником — колоїдним золотом. У тест-зоні містяться жорстко іммобілізовані антигени, які є структурними аналогами антигенів — наркотиків, що визначаються, та отримані рекомбінантним шляхом. У контрольній зоні тест-смужки знаходяться іммобілізовані вторинні антитіла, специфічні до рухомих антитіл, які містяться поблизу ділянки занурення тест-смужки.

При зануренні відповідної частини тест-смужки у сечу внаслідок капілярних сил рідина починає мігрувати вздовж смужки. При наявності психотропної речовини (або її метаболітів) у зразку, її молекули зв'язуються з рухомими антитілами, й імунокомплекс, що утворився, мігрує вздовж смужки, не реагуючи з антигенами тест-зони («Т»). Вказаний імунокомплекс, що містить барвник, досягає контрольної зони, де зв'язується з нерухожими вторинними антитілами. Внаслідок концентрування барвника (колоїдного золота) виникає забарвлення в контрольній зоні («С»). Таким чином, при наявності наркотиків чи психотропних речовин (або їх метаболітів) у досліджуваному зразку сечі на тест-смужці з'являється одна забарвлена смуга у контрольній зоні «С».

Якщо у зразку сечі наркотик відсутній, то рухомі мічені антитіла мігрують до зони «Т», де зв'язуються з іммобілізованими там антигенами — аналогами наркотиків. Внаслідок концентрування барвника в зоні «Т» виникає забарвлення. Мічені рухомі антитіла (їх кількість завжди більша, ніж кількість іммобілізованих у зоні «Т» антигенів), що не зв'язалися з антигенами в зоні «Т», мігрують до зони «С». У цій зоні вони зв'язуються з вторинними антитілами, внаслідок концентрування барвника виникає забарвлення і в зоні «С». Таким чином, при відсутності наркотичної (психотропної) речовини або її метаболітів у досліджуваному зразку сечі на тест-смужці з'являються дві забарвлені смуги — в зонах «Т» та «С» (рис. 6.3).



**Рис. 6.3. Імунохроматографічні тести SNIPER**

(тест-смужки з двома забарвленими смугами — у зонах «Т» та «С» при відсутності наркотичної (психотропної) речовини або її метаболітів у досліджуваному зразку сечі)

Тест-система SNIPER містить систему внутрішнього контролю, яка забезпечує виключення технічних помилок при

виконанні дослідження. Наявність смуги у зоні «С» свідчить про відсутність процедурних помилок. При відсутності забарвленої смуги у зоні «С» результати тесту вважаються недійсними внаслідок будь-яких порушень техніки експерименту і мають бути повторені з новою тест-системою.

Компанія «Фармаско» пропонує як індивідуальні тест-смужки на одну групу наркотичних та психотропних речовин, так і багатопрофільні тести, до складу яких входять від 5 до 10 тест-смужок на різні групи контрольованих речовин, які вміщено в пластмасову касету. Групи психотропних речовин, на які розроблено тест-системи: опіати, канабіноїди, кокаїн, амфетаміни, фенциклідин (РСР — дисоціативний галюциноген), метадон, барбітурати, бензодіазепіни, трициклічні антидепресанти, доксиламін (донорміл). Мінімальні концентрації деяких контрольованих речовин, які можуть бути виявлені імуноферментним методом: канабіноїди та їх метаболіти — від 15 до 50 нг/мл; морфін (морфін глюкуронід), кодеїн — 300 нг/мл (1 нг/мл); кокаїн гідрохлорид (екгонін гідрохлорид) — 780 нг/мл (32 нг/мл); амфетаміни — від 1 нг/мл (L-амфетамін) до 1500 нг/мл (мефентермін).

**Імуноферментний метод.** В основі цього різновиду імунохімічного методу визначення лікарських речовин лежить конкурентна взаємодія міченого антигену  $Az(m)$  і неміченого антигену ( $Az$ ) — аналіту з антитілами ( $Am$ ):



Кількість міченого антигену, яка зв'язується з антитілами, зворотно-пропорціональна кількості неміченого антигену, тобто аналіту.

Імуноферментний метод аналізу реалізують у двох модифікаціях: *гомогенний* і *гетерогенний*. Гомогенний ІФА, або метод ЕМІТ (від англ. Enzyme Immunoassay Technique), ґрунтується на ефекті модуляції антитілами активності ферменту-мітки. При гомогенному ІФА усі компоненти реакції — антитіла (антисироватка), антиген, кон'югований з ферментною міткою — кон'югат, антиген — досліджувана речовина, хромогенний субстрат знаходяться в одному агрегатному стані — розчині. Мічений антиген (кон'югат) одержують за допомогою специфічних хімічних реакцій, в результаті яких аналіт ковалентно зв'язується з ферментом. Необхідною умовою здійснення гомогенного варіанту ІФА є зниження активності ферменту у комплексі  $Az(m) - Am$ , яке реєструється зазвичай за допомогою хромогенних агентів.

На першому етапі аналізу до реакційного середовища вносять аліквоти досліджуваної біопроби, кон'югату (антиген з ферментною міткою) і антисироватки, які містять антитіла. Внаслідок зворотності реакції зв'язування «антиген—антитіло» досліджувана речовина біопроби і кон'югат (мічений антиген) конкурують між собою за обмежену можливість зв'язування з антитілами.

На другій стадії аналізу до реакційної суміші додають хромогенний субстрат, який під дією ферменту-мітки піддається хімічній зміні, результатом якої є утворення забарвленої сполуки. Отримане забарвлення реєструють візуально або за допомогою спектрофотометра. У гомогенному ІФА як мітки використовуються такі ферменти, як лізоцим, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, малатдегідрогеназа та ін.

*Основні етапи гомогенного варіанта визначення опіатів методом ІФА:*

1. Попереднє визначення активності кон'югату — морфін—лізоцим.

2. Контакт зазначеного кон'югату з антитілами, специфічними до морфіну (при утворенні імунного комплексу активність ферменту падає).

3. Введення в досліджувану систему аналізованої рідини.

4. Вимірювання активності ферменту за ступенем забарвлення субстрату, що піддався хімічній зміні під дією ферменту. При цьому ступінь відновленої активності ферменту знаходиться в прямопропорційній залежності від кількості антигену в об'єкті дослідження. За величиною світлопоглинання проводять кількісне визначення з використанням градуювального графіка. Градуювальний графік становить собою залежність відношення величин світлопоглинання стандартного розчину аналіту і «сліпого» досліді від десятичного логарифму концентрації стандартних розчинів.

Гетерогенний варіант ІФА передбачає розділення вільних і зв'язаних з ферментом-міткою досліджуваних антигенів або антитіл. У найбільш розповсюджених техніках гетерогенного ІФА антитіла іммобілізують на будь-якому твердому носії, наприклад пробірках, полістирольних планшетах (рис. 6.4). Антиген, мічений ферментом, конкурує з неміченим досліджуваним антигеном за антитіла на твердій фазі. За другим варіантом біологічні рідини реагують з іммобілізованими на твердій фазі антитілами, після чого решту суміші видаляють і в реакцію вводять мічені ферментом антитіла, які зв'язуються вже іммобілізованим

антигеном. Серед гетерогенних методів широко застосовується твердофазний ІФА, або метод ELISA (від англ. *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*), в основі якого лежить приєднання до утворених на твердій фазі імунних комплексів антигенів або антитіл, ковалентно зв'язаних з ферментами (кон'югатами).

При гетерогенному ІФА опіатів у сечі в лунках планшета, виготовленого з полістиролу, адсорбують гаптени — кон'югати морфіну з білком. Міцна адсорбція гаптену відбувається за рахунок білкової молекули у структурі кон'югату. До лунок вносять надлишок розчину гаптену так, щоб усі активні центри планшета були зайняті. Незв'язані гаптени відмивають і до лунок вносять зразки біорідини, що містить антигени, які визначають. Після додавання антисироватки, яка містить мічені антитіла, внаслідок конкурентної взаємодії утворюються імунні комплекси:  $G - Am(m)$ , що іммобілізований на планшеті, і  $A_2 - Am(m)$ , який не зв'язаний з його поверхнею. Проводять відмивання, в результаті якого реагенти, що не прореагували, та комплекс  $A_2 - Am(m)$  видаляються з реакційної суміші. Додають хромогенний субстрат, який взаємодіє з ферментом — міткою, що міститься у комплексі  $G - Am(m)$ , та вимірюють інтенсивність світлопоглинання отриманих забарвлених розчинів. Інтенсивність світлопоглинання забарвлених розчинів знаходиться в зворотньо-пропорційній залежності від концентрації антигену в об'єкті дослідження, оскільки кількість зв'язаного з поверхнею планшета комплексу  $G - Am(m)$  зворотньо-пропорційна кількості антигенів у біорідині.

Проводять «позитивний контроль» зі стандартним розчином аналіту, в якому концентрація досліджуваної речовини значно перевищує концентрацію гаптену. При цьому після видалення з реакційної суміші комплексу  $A_2 - Am(m)$  та надлишку антисироватки  $Am(m)$  хромогенний субстрат не буде утворювати забарвлення внаслідок відсутності ферменту-мітки («позитивна відповідь»). Для гетерогенного ІФА як мітки найчастіше використовуються такі ферменти, як пероксидаза,  $\beta$ -галактозидаза, рідше — ацетилхолінестераза, глюкоамілаза і глюкозооксидаза.

*Основні етапи гетерогенного варіанта визначення опіатів методом ІФА:*

1. Адсорбція антигену (морфіну, зв'язаного з білком) на планшеті. Промивання планшета детергентом.
2. Внесення стандартних розчинів в лунки планшета для отримання «позитивної відповіді» і побудови градуального графіка.

3. Внесення досліджуваних зразків.
4. Внесення розчину для отримання «негативної відповіді» («сліпий» дослід).
5. Внесення антисироватки, що містить мічені антитіла. Зв'язування антигенів з антитілами, міченими пероксидазою хрину. Промивання лунок планшета детергентом.
6. Внесення субстрату — розчину *o*-фенілєндіаміну з додаванням гідроген пероксиду. Реєстрація результатів аналізу (оцінка інтенсивності забарвлення візуально або вимірювання світлопоглинання спектрофотометрично).

**Методика визначення морфіну методом ІФА (гетерогенний варіант)**

1. *Адсорбція гаптену (Г) (морфін, зв'язаний з білком) на планшеті.* Планшети заздалегідь обробляють етанолом і висушують у термостаті. В усі лунки планшета вносять по 0,2 мл розчину гаптену — модифікованого морфіну для адсорбції (іммобілізація гаптену на планшеті за рахунок білкової молекули) і вміщують планшет у холодильник на 18 год ( $t = 2-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), після чого розчин з лунок видаляють струшуванням.

У всі лунки вносять по 0,2 мл розчину детергенту типу Твін-20 і через хвилину видаляють розчин струшуванням. Сліди розчину детергенту видаляють постукуванням перевернутого планшета по фільтрувальному паперу. Операцію повторюють 3 рази. Промиті планшети готові для проведення імуноферментного аналізу і можуть зберігатися протягом 5 діб при температурі  $2-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Рис. 6.4. Планшет для визначення опіатів методом ІФА

2. *Внесення позитивного контролю і стандартного розчину в лунки планшета.* У лунки A1 і B1 вносять по 0,05 мл позитивного розчину (стандарт) морфіну в сольовому розчині (у лунці A1 — позитивний контроль). У лунки з B1 до H1 вносять по 0,05 мл розчину детергенту. Перемішують вміст лунки B1 (послідовно

набирають і випускають вміст за допомогою мікропіпетки), відбирають 0,05 мл і переносять у лунку С1, перемішують і послідовно переносять по 0,05 мл у наступні лунки, досягаючи лунки Н1. З лунки Н1 0,05 мл розчину видаляють. Після закінчення цієї процедури в кожній лунці з А1 до Н1 має бути по 0,05 мл стандартних розчинів з концентрацією морфіну 500, 250, 125, 62, 31, 15,5 і 7 нг/мл (для побудови градувального графіка можна приготувати на планшеті 2–3 ряди стандартних розчинів).

3. *Внесення досліджуваних зразків біопроб.* Відбирають 0,1 мл аналізованої сечі, до неї додають 0,9 мл розчину детергенту, після чого розведений у 10 разів зразок сечі вносять до двох лунок по 0,05 мл у кожному.

4. *Внесення негативного контролю.* Негативний контроль (сольовий розчин з бактеріостатиком) у кількості 0,1 мл доводять розчином детергенту до об'єму 10 мл і по 0,05 мл вносять у лунки А11 і А12.

5. *Зв'язування антигенів з антитілами, міченими пероксидазою хрину.* В усі лунки з розчинами вносять по 0,05 мл розчину кролячих антитіл, мічених пероксидазою хрину (кон'югат), струшують планшет протягом 5 хв і інкубують протягом 30 хв у термостаті при  $37 \pm 2$  °С.

В усі заповнені лунки вносять по 0,2 мл розчину детергенту і через 1 хв видаляють розчини струшуванням планшета (операцію повторюють 3 рази).

6. *Внесення субстрату.* Розчин *o*-фенілендіаміну з додаванням гідроген пероксиду, приготований безпосередньо перед визначенням, відразу ж вносять по 0,2 мл в усі аналізовані лунки планшета, витримують 10–15 хв (залежно від якості води, реактивів і деяких інших факторів) при кімнатній температурі і зупиняють реакцію, додаючи в усі лунки планшета по 0,025 мл 2 М розчину кислоти хлоридної. Додавання кислоти для зупинки реакції необхідно робити максимально швидко, щоб інтервал часу між додаванням кислоти в першу й останню лунку був мінімальним.

Результати аналізу оцінюють візуально, порівнюючи забарвлення лунок стандартного розчину морфіну (А1-Н1) із забарвленням лунок у досліджуваних пробах або спектрофотометрично при довжині хвилі  $\lambda = 492$  нм за допомогою плейтфотометра ІФКО-2.

Концентрацію морфіну в досліджуваній пробі визначають за значенням світлопоглинання (середнє 2–3 паралельних дослідів) із використанням градувального графіка, який являє собою

залежність відношення значень світлопоглинання стандартних розчинів морфіну і «сліпого» досліду від десятичного логарифма концентрації стандартних розчинів морфіну.

Таблиця 6.3

**Дані для побудови градувального графіка  
для гетерогенного ІФА опіатів**

№	C, нг/мл	IgC	A	A <sub>0</sub>	A/A <sub>0</sub>
1	2	3	4	5	6
1	500	0,40	0,40	0,88	0,47
2	250	0,30	0,30	0,88	0,33
3	125	0,38	0,38	0,88	0,42
4	62	0,41	0,41	0,88	0,46
5	31	0,49	0,49	0,88	0,54
6	15	0,61	0,61	0,88	0,68
7	7	0,68	0,68	0,88	0,80

*Хіміко-токсикологічна оцінка імунохімічних методів.* Імуноферментний метод не поступається за чутливістю радіоімунному, але у порівнянні з ним є більш простим і безпечним. Імунофлюоресцентний метод перевищує за чутливістю імуноферментний, але вимагає спеціальних реактивів (флуорохромів) та обладнання для вимірювання ступеня флюоресценції.

Імунохімічні методи аналізу характеризуються високою чутливістю, вони дозволяють виявляти антигени в кількостях до  $1 \cdot 10^{-11}$  г. У цьому перевага імунохімічних методів перед іншими (хімічний, ТШХ, УФ-спектрометрія). Але імунохімічні методи мають недостатню точність та специфічність — близько 70–80 %, що обумовлено можливістю неспецифічного зв'язування антигенів з антитілами.

Імунохімічні методи аналізу є одними з найбільш перспективних напрямків лабораторної експрес-діагностики гострих інтоксикацій лікарськими речовинами. Вони відрізняються простотою виконання, дозволяють одночасно аналізувати велику кількість проб, не вимагають додаткового очищення екстракту. Метод ІХА зручний при проведенні серійних аналізів біологічних рідин на вміст лікарських речовин. Нині випускаються готові комерційні набори реагентів для виявлення основних груп психотропних речовин (опіати, барбітурати, фенотіазини, бензодіазепіни та ін.).

**Поляризаційний флуороімуноаналіз (ПФІА).** Одним із напрямів пошуку оптимального імунохімічного методу для визначення низькомолекулярних сполук є модифікація методів

флюоресцентного імуноаналізу. Метод *поляризаційного флюороімуноаналізу* базується на опромінюванні молекули плоскополяризованим світлом і вимірюванні поляризації флюоресценції. Досліджуваний розчин опромінюють світлом, яке поляризоване у вертикальній площині, а емісію флюоресценції вимірюють у перпендикулярному напрямку щодо променя збудження. Використовують два поляризатори, площі поляризації яких розташовані перпендикулярно, перший — для поляризації світла, яким опромінюють досліджуваний розчин, другий — для поляризації випромінювання збудженими молекулами. Для методу ПФІА як флуорофор найчастіше використовують флуоресцеїн.

Флуоресцеїн-натрій (розчинна сіль флуоресцеїну, резорцин-фталейн-натрій,  $C_{20}H_{12}O_5$ ) — барвник, що має яскраву флюоресценцію (поглинання 494 нм / емісія 521 нм). Малі молекули флуоресцеїну у водному середовищі обертаються досить швидко, так що між поглинанням та емісією вони рівновирігдно приймають будь-яку орієнтацію. Таким чином, водний розчин флуоресцеїну характеризується низьким ступенем поляризації флюоресценції. Тому при опроміненні молекули флуоресцеїну плоскополяризованим світлом випромінювання емісії є частково або повністю дополяризованим. Великі молекули при емісії частково зберігають ту ж саму молекулярну орієнтацію, яку вони мали при поглинанні світла, тому їх флюоресценція має більший ступінь поляризації. При асоціації таких молекул у молекулярний комплекс (наприклад, імунний) ступінь поляризації флюоресценції зростає.

Метод ПФІА ґрунтується на конкурентному зв'язуванні досліджуваного антигену і антигену, міченого флюоресцентною міткою (трейсером), зі специфічними до них антитілами. Поляризація флюоресценції вільного трейсеру — флуоресцеїну в розчині має низьке значення, вона збільшується при зв'язуванні трейсеру в імунний комплекс з антитілами. Таким чином, аналітичний сигнал — величина поляризації флюоресценції — залежить від співвідношення зв'язаної в імунний комплекс і вільної фракції трейсеру і є зворотно-пропорційною концентрації досліджуваного антигену.

Метод ПФІА є гомогенним, експресним через мінімальну кількість числа етапів піпетування (дозволяє провести визначення антигенів протягом декількох хвилин), універсальним для визначення низькомолекулярних сполук, для багатьох з яких отримано специфічні антитіла, характеризується високою чутливістю

та правильністю. Сьогодні фірмою Abbot (США) та деякими іншими випускаються автоматизовані аналізатори ТДх для вимірювання поляризації флюоресценції та набори реагентів для ПФІА, призначені для визначення близько 100 лікарських препаратів.

#### **6.5.4. ХІМІЧНИЙ МЕТОД ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАКТІВ**

Для виявлення лікарських речовин використовують хімічні реакції — забарвлення (кольорові), осадження і мікрокристалоскопічні.

**Реакції забарвлення.** Хімічні перетворення, що лежать в основі реакцій забарвлення, супроводжуються окисненням досліджуваних речовин (наприклад, за допомогою калій дихромату у присутності кислоти сульфатної концентрованої), конденсацією з альдегідами у присутності речовин, які поглинають воду (наприклад, реакція з формальдегідом у присутності кислоти сульфатної концентрованої), відокремленням води (у присутності кислоти сульфатної концентрованої), одночасним окисненням і відокремленням води.

Реакції забарвлення виконують у порцелянових чашках (або на порцелянових пластинах із заглибленнями, або на шматочках хроматографічних пластин) з сухими охолодженими залишками досліджуваних речовин після випаровування органічного розчинника. Паралельно проводять «сліпий» дослід, тобто до біологічного екстракту, отриманого з відповідного біологічного об'єкта, що не містив лікарських речовин, додають відповідний реактив. Також досліджують модельний екстракт — екстракт з відповідного біологічного об'єкта, до якого додано речовину, присутність якої передбачається. Для проведення кольорових реакцій на лікарські речовини переважно використовують такі реактиви: концентровані мінеральні кислоти (сульфатна, нітратна, хлоридна та деякі ін.); реактиви: Маркі (кислота сульфатна концентрована та формальдегід); Фреде (кислота сульфатна концентрована і амоній молібдат); Ердмана (кислоти сульфатна і нітратна концентровані); Манделіна (кислота сульфатна концентрована і амоній ванадат) та ін.

**Хіміко-токсикологічна оцінка результатів реакцій забарвлення.** При негативному результаті відповідної реакції можна з подальшого дослідження виключити окремі лікарські речовини або групу лікарських речовин, наприклад, опіати — при негативному результаті з реактивом Маркі, похідні фенотіазину — при негативному результаті з реактивом ФПН тощо. Це дозволяє

скоротити час аналізу та вибрати раціональну схему дослідження біологічного екстракту.

Позитивний результат відповідної реакції дає можливість припустити наявність певних хімічних груп лікарських речовин (наприклад, забарвлення з реактивом Маркі орієнтує на пошук алкалоїдів, похідних ізохіноліну), але отриманий результат необхідно підтверджувати більш специфічним методом.

Недоліком кольорових реакцій є неспецифічність, невисока чутливість, нестійкість отриманого забарвлення, яке може змінюватися під впливом окисників повітря та світла або зникати.

Головною умовою надійності результатів, отриманих на основі кольорових реакцій, є високий ступінь очистки екстрактів з біологічних об'єктів, тому що залишки білкових домішок під дією кислоти сульфатної обуглюються, нітратної — окиснюються, що може заважати правильно оцінити реакції.

**Осадкові реакції.** В їх основі лежить утворення важко розчинних у водному середовищі солей, наприклад, при взаємодії алкалоїдів з кислотою фосфорно-молібденовою (реактив Зонненшейна), з кислотою фосфорно-вольфрамовою (реактив Шейблера), кислотою пікриною, кислотою дубильною (таніном), або утворення комплексів з важкими металами, які майже нерозчинні у водному середовищі, наприклад, при взаємодії нітрогеновмісних органічних основ з реактивами Драгендорфа, Марме, Майєра тощо.

Осадкові реакції проводять на предметному склі з водними розчинами солей нітрогеновмісних органічних основ: алкалоїдів, синтетичних лікарських речовин основного характеру. Паралельно проводять три досліди: з досліджуванним екстрактом, з екстрактом, отриманим у «сліпому» досліді, та з екстрактом, до якого додано речовину, присутність якої передбачається в об'єкті.

**Хіміко-токсикологічна оцінка результатів осадкових реакцій.** Основна перевага реакцій осадження з загальноалкалоїдними реактивами — висока чутливість. Зазвичай межі виявлення вказаних реакцій становлять близько  $10^{-6}$  г і нижче. Найбільшою чутливістю характеризуються кислоти фосфорно-молібденова, фосфорно-вольфрамова та реактив Драгендорфа, найменшою — танін. Недоліком реакцій осадження є неспецифічність, тому що алкалоїди, їх синтетичні аналоги та інші органічні речовини основного характеру з реактивами групового осадження дають відповідні осадки; до того ж, білкові домішки з біологічного об'єкта також можуть давати аморфні осадки з вказаною групою реактивів.

Хіміко-токсикологічне значення має негативний результат осадових реакцій з реактивами групового осадження алкалоїдів, тобто при відсутності осаду подальші дослідження екстракту на наявність нітрогеновмісних органічних основ не проводять.

**Мікрокристалоскопічні реакції** базуються на осадженні досліджуваних речовин за допомогою відповідних реактивів та на визначенні форми кристалів, що утворюються. Паралельно проводять три досліди, як наведено для осадових реакцій. Форми кристалів, отримані для досліджуваного екстракту, та модельного екстракту, що містить відому речовину, присутність якої передбачається, порівнюють.

**Оцінка результатів мікрокристалоскопічних реакцій.** Вказані реакції високочутливі та специфічні в умовах певної лабораторії, у якій проводяться дослідження. Ускладненням є те, що форма кристалів, які утворюються, залежить від багатьох факторів, серед яких концентрація досліджуваної речовини, концентрація реактиву, співвідношення об'ємів розчинів досліджуваної речовини та реактиву, температура, рН середовища, наявність домішок, поліморфізм кристалів, що утворюються.

#### **6.5.5. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН У БІОЛОГІЧНИХ ЕКСТРАКТАХ**

У хіміко-токсикологічному аналізі лікарських речовин переважно використовують такі спектральні методи: спектрофотометрія в УФ-, видимій та ІЧ-ділянках (областях) спектра, мас-спектрометрія, хроматографічні ТШХ, ГРХ, ВЕРХ; електрокінетичні — капілярний зонний електрофорез (КЗЕ), міцелярна електрокінетична хроматографія (МЕКХ).

##### ***Спектрофотометрія в УФ- і видимій ділянках спектра в хіміко-токсикологічному аналізі лікарських речовин***

Це один із методів електронної абсорбційної спектроскопії. Спектри поглинання у видимій і ультрафіолетовій ділянках пов'язані з електронними переходами, тому одержали назву електронних. Область електронних переходів охоплює інтервал спектра електромагнітних хвиль від 100 до 800 нм ( $10^6$ – $10^4$  см<sup>-1</sup>). Вона поділяється на ультрафіолетову — з діапазоном від 100 до 400 нм, і видиму — з інтервалом довжин хвиль від 400 до 800 нм. Остання також поділяється на ближню ультрафіолетову — від 200 до 400 нм, і дальню (вакуумну) — від 100 до 200 нм.

Електрони, що входять до складу атомів і молекул, розрізняються за своїм енергетичним станом (*1s*-, *2s*-, *2p*-електрони та ін.). Для їх порушення потрібно випромінювання з різною довжиною хвилі (енергією). Найбільша енергія необхідна для

порушення електронів простого С–С-зв'язку ( $\sigma$ -електрони). Трохи менша енергія потрібна для порушення електронів інших простих зв'язків, наприклад, атома карбону з атомом, що містить неподілену пару електронів ( $\pi$ -електрони). Молекули органічних речовин, що не мають парних зв'язків, не дають характерного поглинання в робочій зоні УФ-ділянки спектра (200–400 нм). Групи атомів, що містять один чи кілька парних зв'язків, називають *хромофорами*, вони викликають вибіркове поглинання електромагнітного випромінювання в УФ-ділянці (табл. 6.4). Якщо ж є зв'язок (сполучення) хромофорів один з одним або з  $\pi$ -електронними системами — *ауксохромами* ( $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_3$  та ін.) (табл. 6.5), то максимум поглинання речовини зсувається в довгохвильову область (*батохромний зсув*).

Таблиця 6.4

**Максимуми поглинання деяких хромофорів**

Хромофор	$\lambda_{\text{max}}$ , нм
$>\text{C}=\text{C}<$	165
$>\text{C}=\text{C}=\text{C}<$	225
$>\text{C}=\text{N}-$	240–250
$-\text{NO}_2$	271
$>\text{C}=\text{O}$	280
$-\text{N}=\text{N}-$	340
$=\text{C}=\text{C}=\text{C}<$	620
$-\text{N}=\text{C}<$	665
Бензен	180, 203, 254
Нафталін	275, 314

Таблиця 6.5

**Вплив замісників на положення смуг поглинання монозаміщених похідних бензену (розчини в етанолі)**

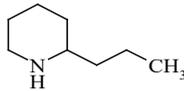
R	Смуга поглинання	
	друга	третя
$-\text{H}$	203	256
$-\text{CH}_3$	206	225
$-\text{Cl}$	210	264
$-\text{OH}$	211	270
$-\text{SH}$	236	271
$-\text{NH}_2$	230	280
$-\text{CH}=\text{CH}_2$	244	282
$-\text{NO}_2$	259	-
$-\text{OCH}_3$	217	269
$-\text{COOH}$	230	279

Залежно від характеру світлопоглинання молекул в УФ-ділянці спектра (робоча зона від 200 до 400 нм) органічні речовини можна поділити на декілька груп, які наведені нижче.

Речовини, у структурі яких відсутні хромофори, *не мають характерного поглинання* в УФ-ділянці спектра, наприклад, пахікарпін, коніїн.

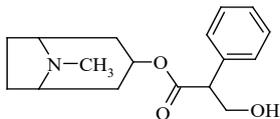


Пахікарпін



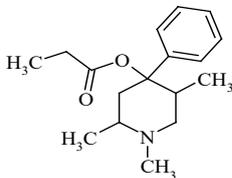
Коніїн

Речовини, які містять у своїй структурі хромофори, мають вибіркове поглинання в УФ-ділянці спектра, при цьому положення максимумів світлопоглинання не залежать від рН середовища, наприклад, атропін, кофеїн, кодеїн, промедол та ін.



Атропін

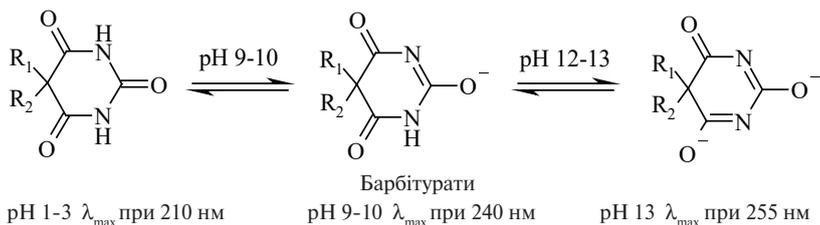
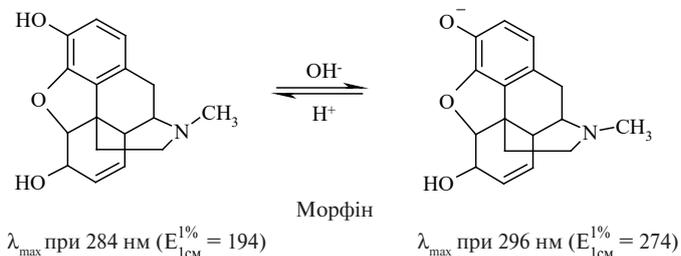
$\lambda_{\max}$  в етанолі при 252, 258, 265 нм, у розчині 0,1 М кислоти сульфатної при 251, 257 ( $E_{1\text{см}}^{1\%} = 2,9$ ), 263,5 нм



Промедол

$\lambda_{\max}$  в етанолі при 252, 258, 264 нм, у розчині 0,1 М кислоти хлоридної при 251, 257 ( $E_{1\text{см}}^{1\%} = 6,3$ ), 263 нм

Речовини, в структурі яких хромофори сполучені з ауксохромами, *мають* вибіркове поглинання в УФ-ділянці спектра, характер якого залежить від рН-середовища, наприклад, морфін, барбітурати, хінін та ін. У результаті іонізації таких молекул при зміні рН розчинів смуги поглинання зміщуються в довгохвильову чи короткохвильову область спектра. Деякі речовини, наприклад барбітурати, які не мають характерного поглинання в кислому середовищі в ділянці робочої зони (200–400 нм), при підлугуванні починають поглинати у зв'язку з появою хромофорного угруповання.



Характер світлопоглинання барбітуратів в УФ-ділянці спектра наведено на рисунку 6.4.

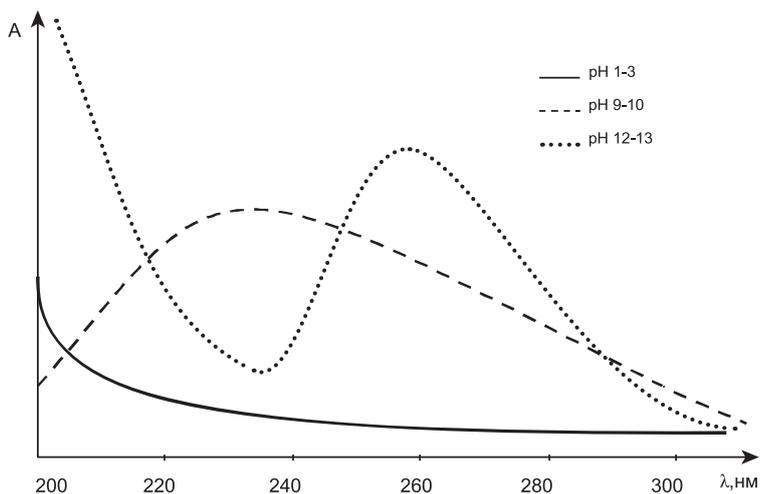


Рис. 6.5. Характер світлопоглинання барбітуратів в УФ-ділянці спектра залежно від рН середовища

Зсув у довгохвильову ділянку спектра, який дають морфін, барбітурати, називається *батохромним*. *Гіпсохромний* зсув (у короткохвильову ділянку спектра) дають ароматичні аміни. При підкисленні внаслідок протонування утворюється четвертинна аміногрупа, що зумовлює зсув у короткохвильову область, який у деяких випадках може перевищувати 30 нм, та різке

падіння поглинання. Спектри поглинання, що характеризуються вибіркоvim поглинанням в УФ-ділянці, яке залежить від рН-середовища, є найбільш інформативними для цілей хіміко-токсикологічного аналізу лікарських речовин. Рекомендоване вивчення характеру УФ-спектрів досліджуваної речовини в розчинах кислоти та лугу, а також при необхідності в різних розчинниках після ретельної очистки екстрактів від ендогенних біологічних домішок.

Спектрофотометрію в УФ- і видимій ділянках спектра використовують для кількісного визначення лікарських речовин при токсикологічних дослідженнях. В основі лежить закон Бугера–Ламберта–Бера, який виражає залежність інтенсивності монохроматичного світлового потоку, який пройшов крізь шар поглинаючої речовини ( $I$ ), від інтенсивності світлового потоку, який падає на нього ( $I_0$ ), концентрації поглинаючої речовини ( $c$ ), товщини поглинаючого шару ( $L$ ) і молярного показника світлопоглинання ( $\epsilon$ ), який характеризує природу поглинаючої речовини:

$$I = I_0 \times 10^{-\epsilon c L}.$$

Спектрофотометри зазвичай вимірюють не інтенсивність електромагнітного потоку, а його ослаблення, обумовлене поглинанням речовини аналізованої. Ступінь поглинання електромагнітного випромінювання характеризують величиною світлопоглинання ( $A$ ), яка становить собою негативний десятичний логарифм відношення інтенсивності монохроматичного світлового потоку, що пройшов через шар поглинаючої речовини ( $I$ ), до інтенсивності світлового потоку, який падає на нього ( $I_0$ ):

$$A = -\lg(I/I_0).$$

Закон Бугера–Ламберта–Бера набуває вигляду:

$$A = k c L,$$

де  $k$  — показник світлопоглинання (молярний  $\epsilon$ ), якщо концентрація ( $c$ ) розчину виражена в молях на 1 літр; питомий ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ), якщо концентрація ( $c$ ) розчину виражена у відсотках).

Таким чином, за законом Бугера–Ламберта–Бера, величина світлопоглинання залежить від природи речовини і прямо пропорційна концентрації речовини і товщині поглинаючого шару. Діапазон концентрацій, в яких виконується прямо пропорційна

залежність величини світлопоглинання від концентрації речовини, що визначається, відповідає межах підпорядкування світлопоглинання закону Бугера–Ламберта–Бера.

Найбільш поширеним способом кількісного визначення концентрації речовини при токсикологічних дослідженнях є застосування калібрувального графіка. Для цього готується серія розведень (робочі стандартні розчини — РСР) стандартного розчину (СР) в інтервалі концентрацій, при яких спостерігається підпорядкування закону Бугера–Ламберта–Бера та вимірюється їх світлопоглинання. Отримані значення світлопоглинання для РСР (кількість 6–8) обробляють методом лінійної регресії, загальний вигляд якої описується рівнянням виду:  $Y = bX + a$ .

Згідно з вимогами до валідації біоаналітичних методик відповідно до документів U.S. FDA, Європейського медичного агентства (EMA), а також Управління Організації Об'єднаних Націй з наркотиків та злочинності (UNODC), основними валідаційними параметрами методик кількісного визначення є селективність щодо співекстрактивних речовин біологічної матриці, лінійність (діапазон застосування методики), межі виявлення та кількісного визначення, правильність та точність на трьох концентраційних рівнях (низькому, середньому та високому) в межах лінійності аналітичної методики, стабільність.

Метод УФ-спектрофотометрії та спектрофотометрії у видимій області характеризується досить низькими значеннями межі виявлення (кількісного визначення) відносно токсичних та летальних концентрацій лікарських речовин в екстрактах з біологічних об'єктів тільки за умов ретельного очищення досліджуваних речовин від супутніх домішок, що не завжди вдається при хіміко-токсикологічному дослідженні об'єктів біологічного походження. Тому у відповідному документі UNODC, що стосується вимог до валідації аналітичних методик у судовій токсикології (*Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens*, 2009), спектрофотометрія рекомендована для кількісного визначення наркотичних та інших контрольованих речовин в об'єктах, які було вилучено з незаконного обігу. Для кількісного визначення психотропних речовин у тканинах та біологічних рідинах організму рекомендовано методи ГРХ, ВЕРХ, капілярного електрофорезу.

### ***Використання ІЧ-спектроскопії для ідентифікації лікарських речовин при токсикологічних дослідженнях***

ІЧ-спектроскопія — метод дослідження структури речовин, в основі якого лежить поглинання ІЧ-випромінювання, в результаті чого відбувається посилення коливальних і обертальних рухів молекул. При цьому більше виявляються коливальні рухи, тому ІЧ-спектри називають коливальними (або молекулярними). Ці спектри пов'язані з періодичною зміною відносного розташування атомних ядер, тобто з коливальним рухом молекули. Енергія, необхідна для збудження коливань атомів у молекулі, відповідає енергії квантів світла з довжиною хвилі 1–15 мкм або хвильовим числам в інтервалі 400–4000 см<sup>-1</sup> (хвильове число  $k$  зв'язане з довжиною хвилі  $\lambda$  співвідношенням:  $k = 2\pi/\lambda$ , у системі СІ одиниця вимірювання хвильового числа становить м<sup>-1</sup>, але зазвичай використовують см<sup>-1</sup>). Цей інтервал відповідає електромагнітному випромінюванню середньої інфрачервоної області. Початок ІЧ-ділянки зазвичай розглядають, починаючи з червоного краю видимого спектра, тобто приблизно з 14000 см<sup>-1</sup> (*інфра*, означає нижче червоного). Ділянки, що примикають до неї, називаються, відповідно, *ближньою інфрачервоною* (між 14000 і 3600 см<sup>-1</sup>) і *дальньою інфрачервоною* (від 300 до 20 см<sup>-1</sup>).

Так звана *фундаментальна ІЧ-ділянка* починається приблизно від 3600 см<sup>-1</sup> і поширюється до 300 см<sup>-1</sup>. Саме в ній проявляється велика кількість смуг поглинання функціональних груп, тому вона широко використовується для аналізу органічних молекул. Раніше спектральний інтервал від 1500 см<sup>-1</sup> до 700 см<sup>-1</sup> вважали областю «відбитків пальців». Нині у зв'язку з прогресом методу до неї відносять усю фундаментальну область ІЧ-спектра.

Спектри молекул є складним набором різних коливань, кожне з яких проявляється у вузькому інтервалі частот. Рекомендують отримати («зняти») спектр речовини, що аналізується, і стандартного зразка цієї самої сполуки в однакових умовах (агрегатний стан, розчинник, товщина шару та ін.). Ідентифікацію проводять на основі співпадання картини отриманих спектрів (кількість смуг, їх частота, форма контуру). Якщо стандартний зразок відсутній, то рекомендовано порівнювати отриманий спектр аналізованої речовини зі спектром, наведеним у спеціальній довідковій літературі. При цьому вказані спектри мають бути отримані в однакових умовах.

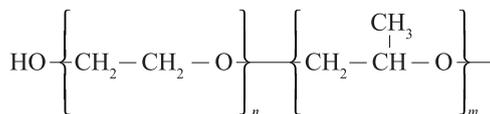
ІЧ-спектри більш складні для тлумачення, ніж ультрафіолетові спектри. Умовою застосування вказаного методу аналізу

є наявність відносно великої кількості аналізованої речовини. Так, для дослідження лікарських речовин у субстанціях і таблетках їх вміст у зразку становить 5–15 мг досліджуваної речовини. Також необхідно забезпечити високий ступінь очистки досліджуваної речовини від домішок. Тому при токсикологічних дослідженнях біологічних об'єктів на вміст лікарських речовин ІЧ-спектроскопія використовується відносно нечасто. Застосовується ІЧ-спектроскопія для ідентифікації лікарських речовин у таких об'єктах, як субстанції, порошки, таблетки, ін'єкційні розчини тощо.

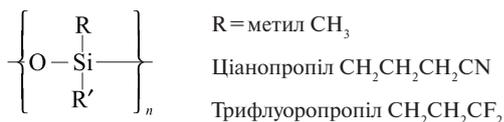
### ***Газова хроматографія в хіміко-токсикологічному аналізі лікарських речовин***

Газо-рідинна хроматографія (ГРХ) є одним із найбільш поширених методів колонкової хроматографії, які знайшли застосування в хіміко-токсикологічному аналізі лікарських речовин. Широкий вибір рідких нерухомих (стаціонарних) фаз та способів детектування дозволяє проводити розділення, ідентифікацію та скринінгові дослідження (ГРХ-скринінг) лікарських речовин та продуктів їх біотрансформації.

За хімічною природою виділяють два основні типи рідких стаціонарних фаз: висококиплячі полімери—полісилоксани (PSXs) і поліетиленгліколі (PEGs). Стандартна фаза PSX є на 100 % метил-заміщеним полісилоксаном. Коли присутні інші замісники, то їх кількість вказується в процентах від загального числа груп-замісників. Наприклад, якщо 5 % атомів Si зв'язано з фенільними групами, а решта 95 % атомів Si є метил-заміщеними, це можна записати у вигляді (5 % дифеніл / 95 % диметил)-PSX, (5 % феніл / 95 % метил)-PSX, або просто як (5 % феніл)-PSX.



Поліалкіленгліколь, PEG

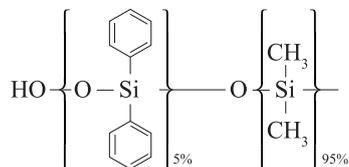


R = метил CH<sub>3</sub>

Ціанопропіл CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN

Трифлуоропропіл CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>

Полісилоксани, PSXs



PSX-5  
Полі(5%-дифеніл-95%-диметил)силоксан

Нерухомі рідкі фази класифікують за полярністю, показники якої наведені у спеціальних довідкових виданнях. Чим вища полярність рідкої фази, тим більш високими є параметри утримування для полярних речовин, що хроматографуються. PSXs, як правило, менш полярні за своєю природою, ніж PEGs. 100 % метил-заміщений PSX часто приймають за «стандартну» неполярну фазу, вона широко представлена в довідкових виданнях з індексів утримування. Ця стаціонарна фаза є ідеальним вибором для початку розробки нової методики.

До полярних фаз відносять Карбовакс-20М (поліетиленгліколь з молярною масою 20000), OV-17 (фенілметилсилан), XE-60 (ціаноетилсилан), а також рідкі фази на основі поліестерів, поліамідів тощо. Так, Карбовакс-20М використовують для розділення алкалоїдів та інших речовин основного характеру. Найбільш розповсюдженими неполярними рідкими фазами є Апіезони L, M, N, SE-30, OV-1, OV-101. Так, Апіезон L за хімічною будовою є вуглеводнем і використовується в аналізі широкого кола токсикантів: барбітуратів, алкалоїдів та інших нітрогенвмісних сполук, а також спиртів, вуглеводнів тощо. SE-30, OV-1, OV-101 є полімерами диметилсилану. Фази OV-1 надають перевагу при хроматографуванні у високотемпературному режимі вище 350 °С.

У ГРХ-аналізі лікарських речовин використовують детектори: полуменево-іонізаційний (ПІД), електронного захоплення, нітроген-фосфорний (NPD, або термоіонний), фотоіонізаційний (ФІД) та ін.

При використанні ГР для аналізу малолетких та полярних сполук, якими є більшість лікарських речовин, необхідна дериватизація. У процесі дериватизації отримують більш леткі сполуки — похідні аналізованої речовини шляхом зниження їх полярності. Дериватизація полягає у перетворенні полярних груп (наприклад,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $=\text{NH}$ ) у неполярні, у той час як основна структура молекули залишається без змін. Використовують реакції ацилювання (наприклад, з оцтовим ангідридом

у піридині), силілювання (отримання триметилсилілопохідних із силілюючими агентами за групами  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $=\text{NH}$ ), отримання метилових естерів органічних кислот за реакцією з діазо-метаном, отримання трифлуороацилпохідних з флуороалкілангідрідами кислот або флуороациламидами за групами  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $=\text{NH}$ . При дослідженні речовин з різними функціональними групами отримують змішані похідні. Реакція дериватизації може бути проведена під час екстракції з біологічної рідини (екстракційне алкілування), з сухим залишком після видалення органічного розчинника (наприклад, силілування) або при введенні проби в хроматограф (наприклад, метилювання).

У результаті дериватизації виключаються втрати досліджуваної речовини внаслідок низької леткості та сорбції, покращуються характеристики аналізу завдяки отриманню більш симетричних форм піків, що призводить до підвищення точності визначення та межі виявлення (кількісного визначення).

У ХТА ГРХ використовують для ідентифікації, кількісного визначення токсикантів, а також розвиваються підходи для здійснення токсикологічного скринінгу на основі вказаного методу. При ГРХ-скринінгу для виявлення речовин рекомендовано використання *індексів утримування* (RI — Retention indices), які забезпечують більш високу внутрішньо- та міжлабораторну відтворюваність даних за утримуванням, ніж абсолютні (час та об'єм утримування) та відносні параметри утримування на основі одного стандарту (відносний час (об'єм) утримування).

Система індексів утримування (розроблена Ковачем, 1958 р.) використовує порівняння виправленого часу (об'єму) утримування досліджуваної речовини та виправлених часу (об'єму) утримування двох стандартних речовин — *n*-алканів, які обрано таким чином, що один із них елюється до, а інший — після токсиканта. В основі системи лежить прямопропорційна залежність логарифма виправленого часу утримування *n*-алканів від числа атомів вуглецю в його молекулі. Так, RI для гомолога  $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$  дорівнює  $100 \cdot n$ . Міжлабораторне стандартне відхилення RI становить 15–20 одиниць, при скринінгу, коли величина RI невідомої досліджуваної сполуки порівнюється з величинами RI відомих речовин, «пошукове вікно» становить 50–60 одиниць RI.

Для розрахунку індексів утримування при лінійному програмуванні температури колонки на основі абсолютного часу утримування використовують формулу:

$$RI(x) = 100 (P_{z+n} - P_z) \frac{\log t_r(x) - \log t_r(P_z)}{\lg t_r(P_{z+n}) - \log t_r(P_z)} + 100 P_z,$$

де  $P_z$  — число атомів карбону в молекулі  $n$ -алкану, який елююється до досліджуваної речовини;  $P_{z+n}$  — число атомів карбону в молекулі  $n$ -алкану, який елююється після досліджуваної речовини;  $t_r$  — абсолютний час утримування;  $x$  — невідома досліджувана речовина.

Іноді при хроматографуванні лікарських речовин використання  $n$ -алканів як стандартів ускладнене, наприклад, при використанні нітроген-фосфорного детектора, який практично не дає сигналу на вуглеводні. У таких випадках як стандарти використовують нітрогеновмісні сполуки, величини RI яких визначено за  $n$ -алканами в тих же умовах газохроматографічного аналізу. Розрахунок величини RI досліджуваної речовини проводять за наведеною формулою, обравши як стандарти дві лікарські речовини, так що одна елююється до, а інша — після токсиканта.

Комітетом з систематичного токсикологічного аналізу Міжнародної асоціації судових токсикологів (TIAFT) запропоновано оптимальні умови для ГРХ-скринінгу органічних сполук з середньою та низькою леткістю, до яких і належать найбільш важливі у токсикологічному відношенні лікарські речовини — системи *GA* і *GB*. У системі *GB* використовується дещо полярніша хроматографічна колонка, яка дозволяє отримати кращі форми піків для гідроксильованих сполук (чимала кількість метаболітів психотропних речовин є гідроксипохідними). У системі *GA* використовується менш полярна хроматографічна колонка, що дозволяє отримати краще розділення структурних ізомерів і поліпшити форми піків для первинних амінів. При використанні індексів утримування умови щодо хроматографічних колонок можуть певною мірою варіювати залежно від умов та можливостей конкретної лабораторії.

#### **Система *GA***

*Колонка:* 3 % SE-30 або OV-1 на 100 меш Chromosorb G HP (промитий кислотою та оброблений диметилдихлоросиланом) скляна (2 м × 2 мм внутрішній діаметр); важливо, щоб твердий носій був повністю дезактивований.

*Температура:* 100–300 °C (програмована); при ізотермічному режимі величина RI ділиться на 10.

*Газ-носій:* N<sub>2</sub>, 45 мл/хв.

*Капілярна колонка:* 100 %-диметил-PSX (X-1) (10–15 м × 0,32 або 0,53 мм; внутрішній діаметр — 1,5–3 мкм).

*Газ-носій:* He.

*Температура:* 135 °C протягом 4 хв до 200 °C (при 13 °C/хв) до 312 °C (при 6 °C/хв) протягом 6 хв.

*Колонка:* HP1 (100 % диметил-PSX) капілярна з кварцового скла (12 м × 0,2 мм; внутрішній діаметр — 0,33 мкм).

*Інжектор:* 280 °С (режим вводу — без поділу потоку).

*Температура програмована:* 100 °С протягом 2 хв до 310 °С (при 30 °С/хв) протягом 8 хв.

*Газ-носії:* He, 1 мл/хв.

### **Система GB**

*Колонка:* 5 % феніл-95 % диметил-PSX (X-5) капілярна (20–30 м × 0,2 або 0,25 мм; внутрішній діаметр — 0,5–1 мкм).

*Газ-носії:* He, 1 мл/хв.

*Температура програмована:* 90 °С протягом 0,7 хв до 240 (градієнт 35 °С/хв до 290 °С (градієнт 8 °С/хв) до 325 °С (градієнт 25 °С/хв) протягом 6 хв.

*Референтні речовини:* *n*-алкани з відповідним числом атомів вуглецю або суміш, що містить амфетамін (1125), ефедрин (1365), бензокаїн (1545), метилфенілат (1725), димедрол (1870), трипеленамін (1976), метаквалон (2135), тріміпрамін (2215), кодеїн (2375), нордіазепам (2490), празепам (2648), папаверин (2825), галоперідол (2930) і стрихнін (3116) (у дужках наведено значення RI для системи GA).

Дані з індексів утримування лікарських речовин для загальних систем GA і GB та додатково їх мас-спектрометричні характеристики (для аналізу з МС-детектуванням) представлено в спеціальній літературі з аналітичної токсикології (Clarke's Analytical Forensic Toxicology, 2008; Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4-th edition, 2011 та ін.). У вказаних джерелах також наведені відповідні дані для 15 хроматографічних систем, рекомендованих для окремих груп лікарських речовин (амфетамінів, бензодіазепінів, анальгетиків, протисудомних і барбітуратів, антидепресантів та ін.). «Вікно пошуку» обирають ± 50 одиниць RI у випадку використання *n*-алканів як стандарти, або ± 30 одиниць RI — при використанні референтної суміші лікарських речовин.

**Хромато-мас-спектральний аналіз.** У наш час метод ГХ-МС як високоспецифічний, чутливий та досить експресний набув широкого застосування у судовій та клінічній токсикології.

Мас-спектрометр є ідеальним детектором для газового хроматографа, а методи аналізу, в яких поєднуються два фізико-хімічних методи, називаються тандемними.

**Мас-спектрометрія** — метод встановлення структури речовини, що базується на реєстрації спектра мас іонів (частіше відношення маси до заряду  $m/z$ ), утворених внаслідок іонізації молекул (або атомів) проби. Маса іона визначається за його відхиленням у магнітному полі.

Мас-спектральні прилади складаються з системи введення проби (у ГХ-МС кінець хроматографічної колонки введено в область іонізації мас-спектрометра — метод прямого вводу проби),

джерел іонів, мас-аналізатора (пристрій для розділення іонів), детектора (приймач іонів), вакуумних насосів, які забезпечують досить глибокий вакуум у всій вакуумній системі приладу, і системи управління і обробки даних. Сучасні прилади з'єднують з ЕОМ.

Найбільш поширеним варіантом ГХ-МС був і залишається аналіз із застосуванням іонізації електронним ударом (ЕУ). Для ЕУ зазвичай використовують електрони з енергіями 70–100 еВ, при цьому відбувається видалення електрона з молекули речовини і утворення молекулярного іона — позитивно зарядженого іон-радикала  $M^+$ , що має енергію 2–8 еВ. Іони з мінімальним запасом енергії досить стійкі і досягають приймача. Іони з великим запасом внутрішньої енергії розпадаються на шляху руху на іони з меншою молекулярною масою (осколкові іони), які є характерними для сполуки певної хімічної будови.

Хімічна іонізація (ХІ) з утворенням позитивно (ПХІ) або негативно (НХІ) заряджених іонів здійснюється при зіткненні молекул досліджуваної речовини з іонами реагентного газу, останні утворюються при бомбардуванні реагентного газу електронами з різним запасом енергії. При використанні електронів з енергією 70–500 еВ відбувається ХІ з утворенням позитивно заряджених іонів ( $MH^+$ ). ХІ з утворенням негативно заряджених іонів здійснюється при застосуванні електронів з пониженою енергією.

Існують методи польової іонізації (здійснюється в сильному електричному полі, різниця потенціалів між польовим анодом та катодом становить 10 кВ) та фотоіонізації.

Специфічність методу ГХ-МС зумовлена поєднанням специфічної спектральної характеристики речовини, якою є мас-спектр, з параметрами утримування, які отримують у хроматографічному процесі. В сучасних приладах для ГХ-МС програмне забезпечення передбачає комп'ютерний пошук з використанням бібліотек мас-спектрів, що значно полегшує ідентифікацію невідомої речовини, робить можливим аналіз без наявності в лабораторії стандартних зразків і сприяє розвитку токсикологічного скринінгу на основі вказаного методу. Для проведення скринінгу використовують мас-спектри, отримані при стандартних умовах іонізації, зазвичай використовують іонізацію ЕУ при 70 еВ, що дає можливість використання бібліотечних мас-спектрів.

На рис. 6.6–6.8 наведено мас-спектри амітриптиліну та двох продуктів його біотрансформації, які виділено з сечі людини

при прийомі терапевтичної дози препарату. Іонізацію проведено ЕУ (70 еВ), структуру сполук встановлено за молекулярними іонами, а також, з використанням відомої бібліотеки мас-спектрів NIST (Баюрка С.В., Карпушина С.А., 2017).

Хімічну іонізацію з детектуванням позитивних або негативних іонів зазвичай використовують для підвищення селективності методу. Стандартизація спектрів на основі ХІ ускладнена, тому її рідко застосовують у скринінгових методиках. Проте відтворюваність таких спектрів на конкретному приладі, як правило, є задовільною і дозволяє успішно проводити якісний (за молекулярним іоном) і кількісний аналіз окремих компонентів суміші. Найчастіше ХІ використовується для цільового визначення аналітів або їх груп.

На сьогодні розроблено велику кількість ГХ-МС-методик скринінгу лікарських препаратів і наркотичних засобів. Запропоновано методику для скринінгових тестів волосся і сечі для одночасного визначення більше 100 наркотиків, зокрема героїну та його метаболітів. Методика одночасного визначення опіатів, кокаїну та їх основних метаболітів у волоссі людини в режимі ЕУ забезпечує межі виявлення 0,1–0,8 нг/мл вказаних речовин. Розроблено методику кількісного визначення амфетамінів, кокаїну і опіатів у волоссі людини з використанням ТФЕ і дериватизації (сумішшю кислоти пропіонової і піридину) з межами виявлення 0,05–0,30 нг/мл досліджуваних речовин.

Як уже зазначалося, результати, отримані на основі ГХ-МС, не потребують підтвердження іншими методами при судово-токсикологічних дослідженнях.

ГХ-МС-аналіз може бути здійснений у двох режимах: повне сканування іонів і сканування за селективно обраним іоном (SIM). У режимі повного сканування детектуються всі іони в заданому інтервалі значень  $m/z$  у межах від 10 до 650 атомних одиниць маси (а.о.м.). Зазвичай використовують інтервал 40–550 а.о.м. У режимі SIM сканують окремі попередньо задані іони. Зазвичай для кожної досліджуваної сполуки задається набір з 3–5 іонів, за найбільш інтенсивним («базовим») іоном проводять кількісний аналіз, а інші («характеристичні») використовують для підтвердження ідентифікації. Режим SIM забезпечує чутливість у 100–1000 раз вищу, ніж при повному скануванні, і використовується в кількісному аналізі.

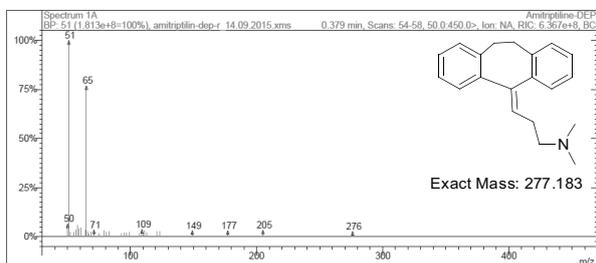


Рис. 6.6. Мас-спектр амітриптиліну, екстрагованого з сечі  
(основні іони  $m/z$  51, 65, 50, 109, 71, 149, 177, 205, 276)

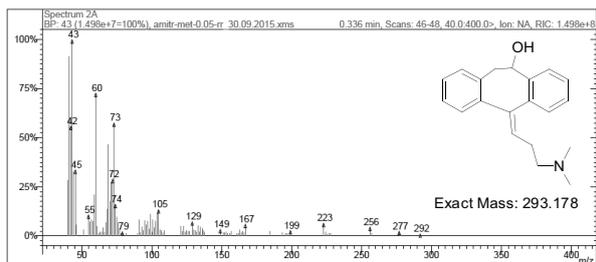


Рис. 6.7. Мас-спектр метаболіту амітриптиліну —  
10-гідроксиамітриптиліну  
(основні іони  $m/z$  43, 60, 73, 42, 45, 72, 74, 105, 55, 129, 223, 167, 256,  
79, 149, 199, 277, 292)

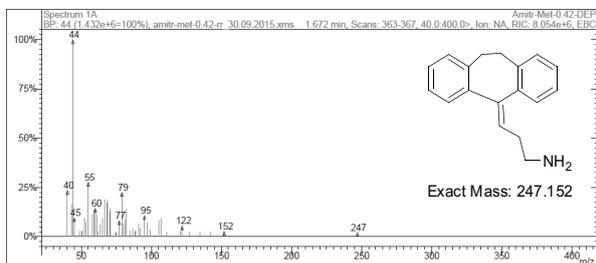


Рис. 6.8. Мас-спектр метаболіту амітриптиліну —  
*N,N*-дидеметиламітриптиліну  
(основні іони  $m/z$  44, 55, 40, 79, 60, 95, 45, 77, 122, 152, 247)

**Кількісний газо-хроматографічний аналіз.** Кількісний вміст токсичної речовини в екстракті визначають за допомогою калібрувального графіка, який являє собою залежність висоти (або площі) піку від концентрації. Для токсикологічних досліджень рекомендовано використання методу внутрішнього стандарту.

Як внутрішній стандарт обирають речовину з близькими до аналіту хроматографічними властивостями, при цьому час утримування внутрішнього стандарту має бути трохи більшим, ніж у досліджуваної речовини. Експериментальні значення з висоти (або площі) піків для РСР (кількість 6–8) обробляють методом лінійної регресії, загальний вигляд якої описується рівнянням виду  $Y = bX + a$ . Згідно з міжнародними документами щодо вимог довалідації біоаналітичних методик (U.S. FDA, EMA), зокрема для застосування у судовій токсикології (UNODC), валідацію проводять за такими параметрами, як селективність щодо співекстрактивних речовин біологічної матриці, лінійність, межі виявлення (LOD) та кількісного визначення (LOQ), правильність та точність на трьох концентраційних рівнях (низькому, середньому та високому) в межах лінійності аналітичної методики, стабільність. Для визначення LOD та LOQ у хроматографічних методах аналізу рекомендовано встановлення концентрації аналіту, при якій відношення «сигнал/шум» (S/N) дорівнює  $\sim 3$  та 10 відповідно.

### ***Високоєфективна рідинна хроматографія в хіміко-токсикологічному аналізі лікарських речовин***

Метод високоєфективної рідинної хроматографії є варіантом рідинної колоночної хроматографії. Як стаціонарну фазу використовують сорбенти з розміром частинок 10–30 мкм, пористі сорбенти (найчастіше силікагелі) з розміром зерен 3,5–10 мкм і як рухому фазу (елюент) — рідину, що подається в колонку за допомогою насоса під тиском 200 і більше атмосфер. Склад рухомої фази підбирається таким чином, щоб забезпечити ефективне розділення речовин при відносно невеликому часі утримування. ВЕРХ (HPLC — High Performance Liquid Chromatography) також називають рідинною хроматографією високих тисків (High Pressure Liquid Chromatography).

Типові ВЕРХ-колонки 10, 15 та 25 см завдовжки та внутрішнім діаметром 4,0 або 4,6 мм (для традиційних типів детекторів), вони можуть бути виготовлені зі сталі, скла або полімерів.

Як стаціонарну фазу найчастіше використовують силікагелі ( $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), до яких прищеплено гідрофобні речовини. Силікагель являє собою структуровану тримірну сітку ( $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$ ) з внутрішньою системою пор, середній розмір яких лежить у межах 4–33 нм, площа поверхні сучасних силікагелів для ВЕРХ становить від 100 м<sup>2</sup>/г до 800 м<sup>2</sup>/г. Важливими характеристиками силікагелів для ВЕРХ, які контролюються при їх виробництві,

є розмір пор і кількість силанових груп (Si—OH) на поверхні пор. Силанові групи надають стаціонарній фазі полярних властивостей, і при використанні органічних елюентів здійснюється варіант адсорбційної хроматографії. Силанові групи також характеризуються слабкокислими властивостями, внаслідок чого основні сполуки сильно зв'язуються зі стаціонарною фазою, що перешкоджає їх розділенню. Тому немодифіковані силікагелі при хроматографуванні основних лікарських речовин можуть бути застосовані тільки з водними елюентами.

У хіміко-токсикологічному аналізі лікарських речовин найчастіше використовують варіант зворотньо-фазової хроматографії, при якому рухома фаза більш полярна, ніж нерухома. Застосовують модифіковані силікагелі, на поверхні яких прищеплено гідрофобні речовини, які зазвичай містять вуглеводневі ланцюги, що забезпечує неполярні властивості поверхні стаціонарної фази. Для цього проводять реакції з органохлоросиланами або з органоалкілсиланами для отримання Si—O—Si—R зв'язків із поверхнею. Найбільш популярною фазою є октадецилсилікагель (ODS), який містить C<sub>18</sub>-ланцюги (наприклад, «Сепарон C<sub>18</sub>»). Як елюенти використовують суміші води (або водні розчини кислот, лугів, буферні розчини) з органічними розчинниками (ацетонітрил, метанол та ін.). У процесі хроматографування склад елюенту може змінюватися — градієнтний режим, а може залишатися постійним — ізократичний режим.

Основні типи детекторів для ВЕРХ: спектрофотометричні (УФ-спектрофотометричний (УФД), мультихвильовий, діодно-матричний (ДМД)), флюоресцентний, рефрактометричний, електрохімічний. Використання мас-спектрометрії як способу детектування для ВЕРХ на сьогодні є основною тенденцією розвитку аналітичних методів у судовій і клінічній токсикології. Перевага тандемних методів полягає в поєднанні параметрів утримування і мас-спектрів речовин, що детектуються.

Ідентифікацію невідомої речовини (А) проводять на основі параметрів утримування: абсолютного часу утримування ( $t_A$ ), виправленого часу утримування ( $t_A - t_o$ ), які однак залежать від таких факторів, як швидкість потоку елюенту, довжина та внутрішній діаметр колонки. Більш стабільною характеристикою утримування є коефіцієнт ємності колонки, який розраховують за формулою:

$$k_A = \frac{V_A - V_o}{V_o} = \frac{t_A - t_o}{t_o},$$

де  $V_A$  — об'єм елюювання досліджуваної речовини (А);  
 $V_o(t_o)$  — об'єм елюювання (час утримування) речовини,  
що не утримується колонкою.

При постійній швидкості потоку елюенту час утримування ( $t_A$  і  $t_o$ ) може бути використаний замість об'єму елюювання.

Як більш стабільні пропонуються також відносні параметри утримування ( $t_A/t_B$ ) при використанні внутрішнього стандарту (речовина В). При цьому виправлений час утримування  $(t_A - t_o) / (t_B - t_o)$  забезпечує кращу відтворюваність результатів, отриманих на різних хроматографах і в різних лабораторіях.

Метод ВЕРХ широко використовується для виявлення і визначення лікарських речовин, продуктів їх біотрансформації в судовій і клінічній токсикології, терапевтичному лікарському моніторингу, вивченні фармако- і токсикокінетики лікарських препаратів, допінг-контролі. Застосування ВЕРХ для загального токсикологічного скринінгу ускладнено через необхідність застосування для кожної окремої групи сполук спеціальних умов розділення. Цей метод є оптимальним у випадку скринінгу, коли коло сполук, присутність яких припускається в об'єкті дослідження, обмежене.

Досить успішно застосовується для систематичного скринінгу в судовій і клінічній токсикології ВЕРХ з УФД і ДМД із використанням автоматизованого пошуку на основі бібліотек параметрів утримування і УФ-спектрів речовин.

ТІАФТ запропоновано декілька систем для загального ВЕРХ-скринінгу (системи *НА*, *НХ*, *НЗ*, *НУ* і *НАА*), в яких використовується набір параметрів утримування (абсолютний та відносний час утримування, коефіцієнт ємності колонки, індекси утримування), що підтверджені багатьма лабораторіями. Їх наведено в спеціальних виданнях з аналітичної токсикології (Clarke's Analytical Forensic Toxicology, 2008; Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4-th edition, 2011).

#### **Система НА**

*Колонка:* SpherisorbS5W (12,5 см × 4,9 мм; внутрішній діаметр — 5 мкм).

*Елюент:* Розчин, що містить 1,175 г (0,01 М) амоній перхлорату в 100 мл метанолу; доводять до рН 6,7 додаванням 1 мл 0,1 М розчину натрій гідроксиду в метанолі.

#### **Система НУ**

*Колонка:* С18 симетричний (250 × 4,6 мм; внутрішній діаметр — 5 мкм).

*Температура колонки:* 40 °С.

*Елюент:* (А:В) кислота сульфатна (0,5 мл 2,5 моль/л) у воді (500 мл) — кислота сульфатна (0,5 мл 2,5 моль/л) в ацетонітрилі (500 мл).

*Градієнтне елюювання:* (98:2) протягом 3 хв до (2:98), протягом більш ніж 23 хв, утримувати протягом 10 хв, повернутися до висхідних умов протягом більш ніж 2 хв, 8 хв для встановлення рівноваги до наступного введення проби.

*Детектор:* ДМД. Стандарти: нітро-*n*-алкани (від C1 до C16), 10 мкл у 10 мл ацетонітрилу.

RI значення: Значення для даної системи наведені у відповідних монографіях.

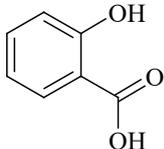
Вказані загальні ВЕРХ-системи та спеціальні хроматографічні системи для окремих груп лікарських, наркотичних і психотропних речовин розроблено для використання у судовій і клінічній токсикології.

**Кількісний аналіз методом ВЕРХ** базується на принципах, розроблених для ГХ.

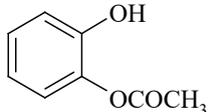
## 6.6. ТОКСИКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ТА ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН КИСЛОГО, НЕЙТРАЛЬНОГО ТА СЛАБООСНОВНОГО ХАРАКТЕРУ

### 6.6.1. ПОХІДНІ КИСЛОТИ САЛІЦИЛОВОЇ

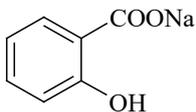
У медичній практиці широко використовуються похідні кислоти саліцилової як нестероїдні протизапальні препарати.



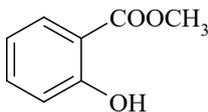
Кислота саліцилова  
(кислота *o*-оксибензойна)



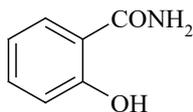
Аспірин  
(кислота ацетилсаліцилова)



Натрій саліцилат



Метилсаліцилат



Саліциламід

**Фізико-хімічні властивості.** За фізичними властивостями препарати відрізняються один від одного: аспірин

та інші похідні саліцилової кислоти (за винятком метилсаліцилату) — це тверді кристалічні речовини. Метилсаліцилат — безбарвна або жовтувата рідина з характерним ароматичним запахом.

Препарати (за винятком натрій саліцилату) мало розчинні або практично нерозчинні у воді, легко розчинні в розчинах їдких лугів, легко розчинні в спирті та інших органічних розчинниках. Натрій саліцилат дуже легко розчинний у воді та спирті.

Кислота саліцилова (*o*-оксibenзойна) — білі голчасті кристали або легкий кристалічний порошок без запаху. Ця кислота переганяється з водяною паром, при обережному нагріванні сублімується. Розчиняється в діетиловому етері (1:3), етиловому спирті (1:4), хлороформі (1:55), слабо розчиняється у воді (1:550), краще — в киплячій воді (1:15).

**Застосування.** Кислота саліцилова використовується для лікування захворювань шкіри, має дезінфікуючу дію, застосовується при підвищеній пітливості. Вона у незначних кількостях міститься в ягодах (вишні, малині, суниці); в побуті може використовуватися як консервант при виробництві вин, овочевих консервів, соків, варення.

Похідні кислоти саліцилової у вигляді солей, складних естерів, амідів застосовуються як жарознижувальні, протизапальні та знеболювальні засоби при лікуванні ревматизму, ревматичного ендокартиту і міокардиту.

Метилсаліцилат застосовується зовнішньо при суглобному і м'язовому ревматизмі, артритих, ексудативному плевриті.

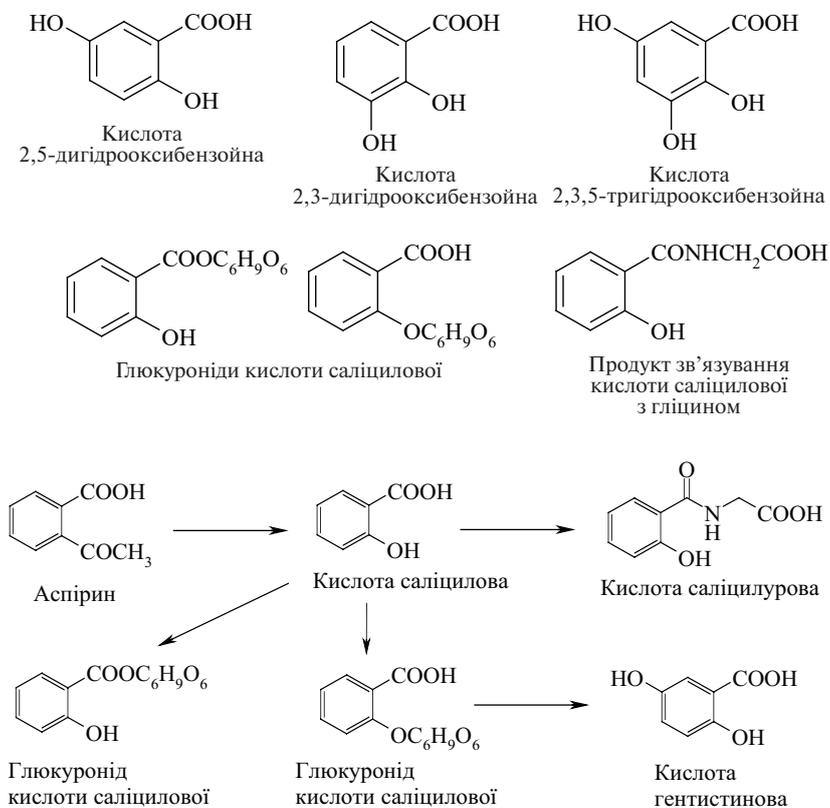
**Поведінка в організмі.** При прийомі через рот кислота саліцилова швидко всмоктується в шлунку, велика її частина зв'язується з білками плазми, виділяється нирками у незмінному виді та у вигляді метаболітів. Естери кислоти частково піддаються гідролізу в тонкому кишечнику.

**Метаболізм.** Кислота саліцилова та її похідні метаболізують у печінці у таких напрямках:

- гідроліз;
- окиснення, гідроксилування;
- утворення кон'югатів з кислотою глюкуроною і гліцином.

Саліциламід переважно виводиться з організму в незмінному вигляді.

Продукти біотрансформації кислоти саліцилової:



**Токсична дія та симптоми отруєння.** При прийомі терапевтичних доз саліцилатів можливі побічні явища: шум у вухах, послаблення слуху, набряки, печія, блювання.

Токсичні дози призводять до загострення бронхіальної астми, появи алергійних реакцій, зменшення синтезу захисного слизу в шлунку й утворення численних виразок слизової оболонки.

При порушеннях згортання крові, особливо при гемофільії, саліцилати сприяють розвитку кровотечі. При підвищенні доз з'являються нервово-психічні розлади, які проявляються в дискоординації мови, занепокоєнні, судомах, порушенні дихання, що призводить до летального отруєння. Летальні дози саліцилатів становлять 2–4 г для дітей, близько 20 г — для дорослих.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Промивання шлунка водою, ізотонічним розчином натрій хлориду, вживання

активованого вугілля (20–30 г на 1 л води). Для скорішого виведення саліцилатів з організму проводять форсований діурез з підлугуванням крові. Для профілактики і ліквідації ацидозу (при відсутності блювоти) призначають пиття лужних розчинів (натрій гідрокарбонату). У випадку гемологічних проявів отруєння призначають вікасол внутрішньом'язово на ізотонічному розчині натрій хлориду.

### Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* шлунок, кишечник, печінка, нирки, кров, сеча, продукти харчування.

Для *ізолювання* кислоти саліцилової і саліцилатів з біологічного матеріалу використовуються загальні методи і проводиться аналіз «кислої» хлороформної витяжки. Для виділення кислоти саліцилової з консервів, варення та інших харчових продуктів проводиться їх настоювання з розчином натрій карбонату. Після цього водну витяжку відфільтровують, підкислюють розчином кислоти сульфатної і кислоту саліцилову екстрагують хлороформом.

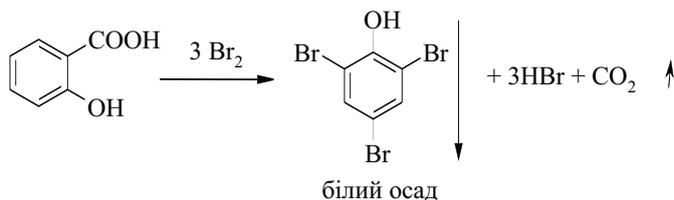
#### *Виявлення та ідентифікація*

**ТЛХ-скринінг.** При проведенні дослідження в загальній рухомій фазі хлороформ–ацетон (4:1) значення  $R_f$  для кислоти саліцилової становить 0,25; у спеціальній рухомій фазі ацетон–циклогексан (5:1) —  $R_f$  0,64.

Проявники: 5 % або 10 % розчин ферум(III) хлориду; плями препарату набувають синьо-фіолетового кольору.

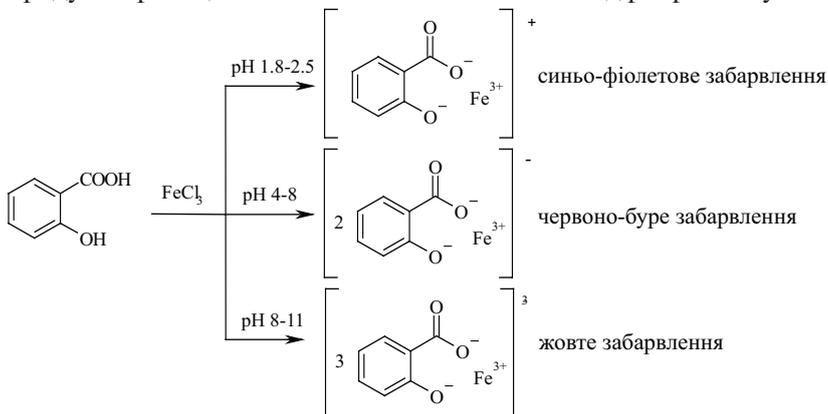
Після очистки «кислого» хлороформного екстракту за допомогою екстракційного методу, сублімації або хроматографічних методів проводять підтвердження наявності кислоти саліцилової хімічними і фізико-хімічними методами.

• *Реакція осадження* проводиться з бромною водою, при цьому утворюється білий осад трибромфенолу.



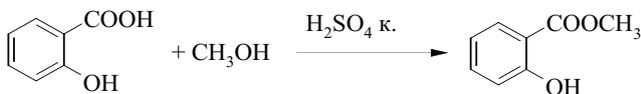
Реакція неспецифічна, високочутлива. Судово-хімічне значення має негативний результат цієї реакції.

• *Реакція забарвлення з ферум(III) хлоридом.* Забарвлення продуктів реакції може змінюватися залежно від рН розчину:



Реакція неспецифічна, чутлива.

• *Реакція утворення метилсаліцилату* — при нагріванні з метанолом у присутності концентрованої кислоти сульфатної з'являється характерний запах метилсаліцилату:



Реакція неспецифічна, чутлива.

• *Виявлення кислоти саліцилової за УФ- і ІЧ-спектрами.* Кислота саліцилова у 0,5 М розчині натрій гідроксиду має максимум поглинання при довжині хвилі 300 нм, а у 0,05 М розчині кислоти сульфатної — при довжині хвилі 302 нм. В ІЧ-ділянці спектра кислота саліцилова (диск із калій бромідом) має основні піки при 1657, 1446, 1288 і 758  $\text{см}^{-1}$ .

Для виявлення кислоти саліцилової в сечі і крові запропоновані попередні проби.

• *Реакція з реактивом Триндлера* — виникнення пурпурового забарвлення свідчить про наявність кислоти саліцилової в сечі.

• *Реакція із ферум(III) нітратом* — при додаванні розчину ферум(III) нітрату в розчині кислоти нітратної з'являється пурпурове забарвлення, що свідчить про наявність кислоти саліцилової в досліджуваних об'єктах.

Ідентифікацію також проводять за допомогою *хроматографічних* методів — ГРХ, ВЕРХ.

*Кількісне визначення кислоти саліцилової* проводять при дослідженні біологічних об'єктів (біологічного матеріалу, біологічних рідин), а також харчових продуктів за допомогою

*спектральних* (УФ-спектрофотометрія; фотоелектроколориметрія; екстракційна фотометрія з основними барвниками) та *хромотографічних* методів (ГРХ; ВЕРХ);

— при дослідженні лікарських препаратів — за допомогою *об'ємних* методів (нейтралізації, броматометрії).

### 6.6.2. ПОХІДНІ КИСЛОТИ БАРБІТУРОВОЇ

Похідні кислоти барбітурової є депресантами ЦНС і часто використовуються як седативно-снودійні засоби.

Гострі отруєння барбітуратами вперше спостерігалися майже відразу після їх впровадження до клінічної практики, на самому початку ХХ сторіччя в Німеччині. Перша звістка про отруєння вероналом відноситься до 1903 року, коли він був вперше синтезований у лабораторії Фішера. У подальшому розширення використання барбітуратів та поява нових препаратів завжди супроводжувалися зростанням кількості отруєнь ними.

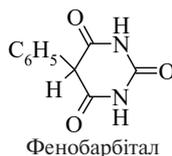
Нині до спеціалізованих центрів з лікування інтоксикацій з отруєннями барбітуратами надходить не менш 20–25 % хворих; вони складають близько 3 % від усіх смертельних отруєнь. Загальна лікарняна летальність при даній патології становить 1–3 %.

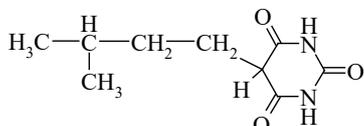
Тривалість дії барбітуратів різна: від 15 хв до одного і більше днів. Існують барбітурати тривалої дії (8–12 год) — фенобарбітал (люмінал); середньої дії (6–8 год) — барбітал (веронал), барбіталнатрій (медінал), барбаміл; короткої дії (4–6 год) — етаміналнатрій (нембутал).

Барбітурати є похідними кислоти барбітурової, але сама вона не виявляє снотворної дії.

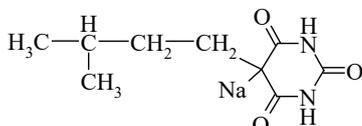
**Причини отруєнь барбітуратами:** вживання з метою самогубства або посягання на самогубство; передозування препаратів (при повторному прийомі може розвинутися звикання, і для отримання снодійного ефекту потрібне збільшення дози).

Найчастіше відзначається зловживання 5,5-заміщеними кислоти барбітурової — фенобарбіталом, барбіталом, барбамілом, етаміналом натрію та ін.





Барбаміл



Етамінал натрію

**Фізико-хімічні властивості.** Барбаміл (амітал-натрій, амобарбітал-натрій, амілобарбітал-натрій), або 5-ізоаміл-5-етилбарбітурат натрію — білий аморфний гігроскопічний порошок без запаху. Добре розчиняється у воді і етиловому спирті, практично нерозчинний у діетиловому етері, екстрагується органічними розчинниками з кислих водних розчинів.

Барбітал (веронал), кислота 5,5-діетилбарбітурова — білий кристалічний порошок. Як фармацевтичний препарат застосовується і натрієва сіль барбіталу (мединал). Барбітал розчиняється в етиловому спирті (1:15), діетиловому етері (1:40), хлороформі (1:75), воді (1:160). Він розчиняється також у розчинах лугів і карбонатів лужних металів. Мединал розчиняється у воді (1:5), слабко розчиняється в етиловому спирті (1:600), практично не розчиняється в діетиловому етері і хлороформі.

Барбітал екстрагується органічними розчинниками з кислих водних розчинів.

Фенобарбітал (люмінал), кислота 5-феніл-5-етилбарбітурова — білий кристалічний порошок, слабко гіркий на смак, розчиняється в етиловому спирті (1:15), хлороформі (1:50), розчинах лугів, слабко розчиняється у воді (1:1000).

Фенобарбітал екстрагується органічними розчинниками з кислих водних розчинів.

Етамінал-натрій (нембутал, пентобарбітал-натрій, пентал), натрій-5-етил-5-(2-аміл)-барбітурат — білий порошок, розчинний у воді та етиловому спирті, практично не розчинний в діетиловому етері. Етамінал-натрій екстрагується органічними розчинниками з кислих водних розчинів.

Ці речовини важко розчиняються у воді, добре розчиняються в етанолі, хлороформі, етері, а також у водних розчинах лугів, що пояснюється імідо-імідоною таутомерією:



Барбітурати здатні сублимуватися.

УФ-спектри більшості барбітуратів характеризуються відсутністю помітного поглинання в області 200–330 нм у кислому та нейтральному середовищі. При лужних значеннях рН УФ-спектри барбітуратів мають два максимуми, що характеризують поглинання іонізованих форм першого (238–240 нм) і другого (254–256 нм) ступенів дисоціації.

**Застосування** препаратів кислоти барбітурової в медичній практиці базується на їх властивості викликати стан, близький до фізіологічного сну. Кислота барбітурова не має наркотичної та снодійної активності, які з'являються у неї при заміщенні атомів гідрогену в п'ятому положенні різними радикалами. Використовуючи снодійні властивості барбітуратів, їх призначають при лікуванні епілепсії, правця, атеросклерозу; застосовують при місцевому знеболюванні, проведенні загального і внутрішньокісткового наркозу. Як заспокійливі засоби барбітурати входять до складу багатьох лікарських препаратів.

Згідно з Переліком наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів, затвердженим Постановою Кабінету Міністрів України №770 від 6 травня 2000 р., більшість барбітуратів належать до психотропних засобів, обіг яких обмежено і відносно яких допускаються виключення деяких заходів контролю (Таблиця III, Список №2).

**Поведінка в організмі.** Барбітурати легко всмоктуються в ШКТ шляхом пасивної дифузії, цей процес значно прискорюється при наявності алкоголю. Найбільша концентрація у плазмі досягається для барбіталу через 4–8 год, для фенобарбіталу — через 12–18 год. Барбітурати розподіляються в усіх тканинах та біологічних рідинах організму, але їх концентрація може бути різною залежно від жиро- та ліпідорозчинності, зв'язків із білками, ступеня іонізації молекул, інтенсивності кровообігу в тканинах та ін. Повторне надходження барбітуратів до організму викликає розвиток толерантності до них, що пов'язано з активністю мікросомальних ферментів печінки і залежить від чутливості ЦНС.

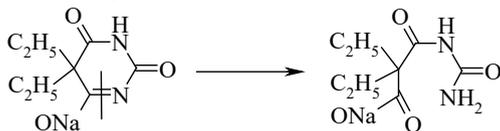
Сила і тривалість дії барбітуратів залежить від їх метаболізму. Період напіввиведення барбіталу складає 4, фенобарбіталу — 3, барбамілу — 8, етаміналу натрію — 15 днів. Найбільша концентрація барбітуратів спостерігається в печінці, нирках, селезінці, мозку.

**Метаболізм.** В організмі людини барбітурати (за винятком стійкого барбіталу) піддаються у печінці таким перетворенням:

- окисненню радикалів у п'ятому положенні до спиртів, кетонів, карбоксипохідних та утворенню глюкуронідів:



- руйнуванню піримідинового циклу:



**Токсична дія та симптоми отруєння.** Барбітурати проявляють пригнічувальну дію на ЦНС з переважним гальмуванням у корі головного мозку. Разом із цією дією вони уражають стовбурний відділ головного мозку, пригнічують дихальний центр, викликають токсичне ураження капілярів головного мозку.

Тривалий прийом терапевтичних доз барбітуратів призводить до кумуляції їх в організмі. При отруєнні легкого ступеня відзначається загальмований стан, млява поведінка, невпевнена хода, зниження частоти дихання. Спостерігається розлад мови, зору, підвищена пітливість.

При важких отруєннях барбітуратами настає стан наркозу, що швидко переходить у тяжку кому, при цьому відзначаються порушення дихання, неврологічні розлади, зниження сухожильних рефлексів і реакції зіниць на світло. Порушення зовнішнього дихання аж до його зупинки, виключення ротової та глотко-ковтальної фаз, гіпотонія язиково-ковтального м'яза, западіння язика є найбільш серйозними ускладненнями дії барбітуратів.

Масовані дози барбітуратів викликають розширення периферичних судин, артеріальну гіпотензію, колапс та шок. Наростаюча асфіксія в результаті порушення дихання веде до ціанозу обличчя, розширення зіниць та набухання поверхневих вен шиї. Асфіксія також уражає нервову систему, що пов'язано з наркотичною та м-холіноміметичною дією барбітуратів, пригніченням активності вегетативних центрів. Початок дії поступовий: спочатку настає сонливість, зниження больової чутливості, потім втрата свідомості (зіниці звужені, різке потовідділення, бронхорея, гіпотермія). Смерть настає через параліч дихання і набряк легень.

Деякі речовини (наркотики, алкоголь, транквілізатори) підсилюють токсичну дію барбітуратів. Особлива небезпека пов'язана з депресивною дією на дихальний центр препаратів

опію, алкоголь, окису карбону. Смертельні дози барбітуратів мають великі індивідуальні відмінності. Смертельним вважається разовий прийом близько 10 терапевтичних разових доз кожного з препаратів або їх суміші. Смертельні дози для деяких барбітуратів становлять: для барбіталу — 3–4 г, для фенобарбіталу — 1,4–2 г, для барбамілу — 4–6 г, для етаміналу натрію — 1 г.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Промивання шлунка питною водою (якщо постраждалий у свідомості), при зупинці дихання — штучне дихання рот в рот; при транспортуванні постраждалого у тяжкому стані до лікарні його голова має бути у нахиленому стані. При наданні допомоги не використовуються речовини, які подразнюють ЦНС, тому що у випадках тяжких отруєнь вони тимчасово стимулюють центри довгастого мозку, а потім посилюють пригнічення дихання за рахунок великої витрати кисню дихальними центрами, що призводить до аритмії та серцевої недостатності. Для боротьби з гіпотермією проводять пасивне відігрівання ковдрами, уникаючи обкладання ємкостями з гарячою водою, тому що це може спричинити омертвіння епідермісу.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

*Об'єкти дослідження:* печінка, нирки, мозок, селезінка, вміст шлунка, кров, сеча.

**Ізолювання.** При спрямованому дослідженні на барбітурати використовують часткові методи ізолювання — екстракцію водним розчином натрій гідроксиду (метод П. Валова) або екстракцію водою, підкисленою кислотою сульфатною (метод В.І. Попової).

*Основні етапи ізолювання барбітуратів за методом П. Валова:*

- 1) настоювання біологічного матеріалу з водним розчином натрій гідроксиду;
- 2) центрифугування;
- 3) звільнення центрифугату від білків (підкислюють кислотою сульфатною до рН 2, додають розчин натрій вольфрамату, кип'ятять і центрифугують);
- 4) проціджування центрифугату;
- 5) екстракція кислого центрифугату діетиловим етером;
- 6) екстракція водою після підлугування;
- 7) екстракція діетиловим етером після підкислення водної витяжки до рН 2.

*Основні етапи ізолювання барбітуратів за методом В.І. Попової:*

- 1) настоювання біологічного матеріалу з водою, підкислою до рН 2–3 кислотою сульфатною (тричі);
- 2) проціджування та центрифугування витяжки;
- 3) очистка центрифугату методом гель-хроматографії (сефадекс 21–25);
- 4) екстракційне концентрування за допомогою хлороформу;
- 5) випарювання хлороформної витяжки.

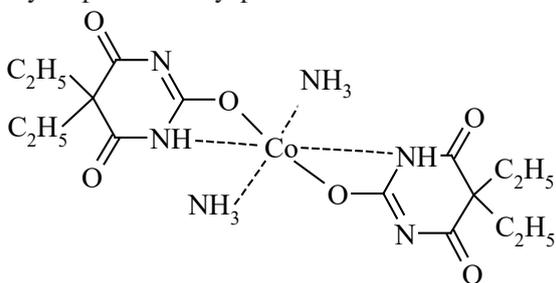
### **Виявлення та ідентифікація**

**ТІХ-скринінг.** При проведенні аналізу в загальній рухомій фазі хлороформ–ацетон (4:1) барбітурати мають значення  $R_f$  0,31–0,41. Як проявник барбітуратів використовують 5 % розчин меркурій сульфату і 0,1 % розчин дифенілкарбазону в хлороформі (послідовно). При наявності барбітуратів з'являються плями, забарвлені в синьо-фіолетовий чи червоно-фіолетовий кольори. Ідентифікацію індивідуальних барбітуратів проводять у спеціальних хроматографічних системах у присутності «свідків».

Після очистки «кислого» хлороформного екстракту за допомогою екстракційного методу, сублімації або хроматографічних методів проводять підтвердження наявності барбітуратів на основі хімічних та фізико-хімічних методів.

Використовують такі реакції забарвлення:

• *реакцію з солями кобальту в присутності амоніаку* — при наявності барбітуратів спостерігається фіолетове забарвлення, обумовлене утворенням внутрішньокмплесної сполуки:



Реакція неспецифічна, тому що її дають пурини, піримідини, сульфаніламідні препарати. Виконанню цієї реакції заважає вода, що розкладає забарвлені сполуки. Реакція є високочутливою і використовується як попередня.

• *мурексидну реакцію* дають більшість барбітуратів (барбітал, барбаміл, фенобарбітал, етамінал натрій та ін.). Вказану реакцію

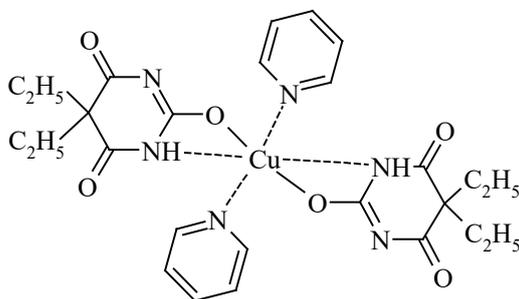
не дають бензонал, гексенал. При наявності барбітуратів спостерігається рожеве забарвлення. Реакція неспецифічна, тому що її дають пурини, піримідини; низькочутлива для барбітуратів.

Для барбітуратів характерні такі мікрокристалоскопічні реакції:

- *виділення кислотної форми барбітуратів*: для барбіталу характерні безбарвні прозорі прямокутні призми; для фенобарбіталу — сфероїди; для барбамілу — пластини або призми, згруповані у вигляді сфероїдів; для етамінал натрію — призматичні кристали. Реакції специфічні, чутливі.

Однак необхідно враховувати можливість появи поліморфних модифікацій, тому для підтвердження наявності індивідуальних барбітуратів проводяться підтверджуючі реакції з такими реагентами:

- з *хлорцинкйодом* (барбаміл, барбітал, етамінал натрій — темно-червоні прямокутні пластинки);
- з *сумішшю розчинів ферум(III) хлориду і калій йодиду* (барбаміл, фенобарбітал, етамінал натрій — оранжево-коричневі або коричневі призми та їх зростки);
- з *калій дийодокупратом у розчині йоду* (барбаміл, етамінал натрій — призми та їх зростки);
- з *підкисленим спиртовим розчином калій йодиду* (барбітал, етамінал натрій — призми та їх зростки);
- з *солями купруму і піридином* (барбітал — фіолетові кристали у формі зірочок, друз і прямокутників). Наявність осаду обумовлена утворенням внутрішньокомплексної сполуки:



Для ідентифікації барбітуратів використовують спектральні методи. Виявлення барбітуратів за спектрами поглинання в УФ-ділянці. Описаний нижче метод дає змогу виявити окремі барбітурати, а також групи барбітуратів, до яких вони належать.

До сухого залишку, одержаного випарюванням витяжок з біологічного матеріалу або лікарських форм, додають 5 мл води.

Після розчинення сухого залишку одержаний розчин фільтрують, потім до фільтрату додають 1 краплю 2 н розчину амоній гідрооксиду ( $\text{pH} \approx 10$ ) і знімають спектр поглинання. При цьому 5,5-заміщені (барбітал, барбаміл, бутобарбітал, фенобарбітал, циклобарбітал, етамінал) і 1,5,5-заміщені (гексенал, бензонал) кислоти барбітурової мають максимум поглинання за довжини хвилі близько 240 нм, а похідні кислоти тіобарбітурової — 2 максимумами (при 305 і 255 нм). Якщо до цього розчину додати 1–2 краплі 2 н розчину кислоти сульфатної ( $\text{pH} \approx 2$ ), то максимум поглинання 1,5,5- та 5,5-заміщених кислоти барбітурової зникає. За цих умов для тіобарбітуратів максимум поглинання зміщується до 290 і 239 нм. Після додавання до цих розчинів 1–2 крапель 4 н розчину натрій гідроксиду ( $\text{pH} 13$ ) з'являється максимум поглинання 1,5,5-заміщених кислоти барбітурової при 240 нм, а для 5,5-похідних цієї кислоти — при 255 нм. Для тіобарбітуратів з'являється максимум при 305 нм, а другий максимум зникає.

**Кількісне визначення барбітуратів** проводять за допомогою фізико-хімічних методів:

- *спектральних* (УФ-спектрофотометрії: прямої та диференційної, фотоколориметрії за реакцією з солями кобальту, екстракційної фотометрії з родаміном Ж);

- *хроматографічних* (ГРХ, ВЕРХ).

Найбільш перспективним серед перелічених методів є диференційна УФ-спектрофотометрія, яка базується на здатності барбітуратів до імідо-імідольної таутомерії. Після вимірювання оптичної густини при різних значеннях рН можна нівелювати вплив домішок на отримані результати:

$$C = \frac{\Delta A}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot l}$$

де  $C$  — концентрація речовини, %;

$\Delta A$  — різниця оптичних густин, що вимірюються при різних значеннях рН:

— при рН 2 (поглинають тільки домішки);

— при рН 10 (поглинають барбітурати в імідольній формі та домішки);

— при рН 13 (поглинають барбітурати в диімідольній формі та домішки);

$E_{1\text{см}}^{1\%}$  — питомий показник поглинання;

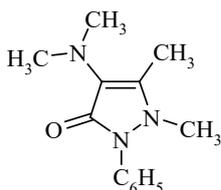
$l$  — товщина поглинаючого шару, см.

При дослідженні внутрішніх органів трупа ΔА визначається при рН 10 та рН 2 і  $\lambda_{\max} = 239$  нм, при дослідженні крові та сечі — при рН 13 та рН 10 і  $\lambda_{\max} = 260$  нм.

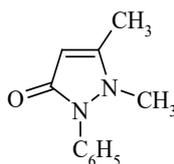
За умов попередньої хроматографічної очистки за допомогою ТШХ диференційна спектрофотометрія забезпечує надійні та відтворювані результати кількісного аналізу барбітуратів.

### 6.6.3. ПОХІДНІ ПІРАЗОЛОНУ-5

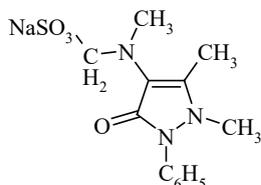
У медичній практиці широко використовуються похідні піразолону як жарознижувальні, протизапальні і болезаспокійливі препарати.



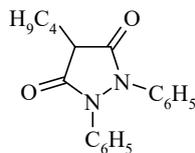
Амідопірин  
(1-феніл-2,3-диметил-4-диметиламінопіразолон-5)



Антипірин  
(1-феніл-2,3-диметилпіразолон-5)



Анальгін  
(1-феніл-2,3-диметил-4-метиламінопіразолон-5-N-метансульфонат натрію)



Бутадіон  
(1,2-дифеніл-4-бутилпіразолідіндіон-3,5)

**Фізико-хімічні властивості.** Амідопірин — 1-феніл-2,3-диметил-4-диметиламінопіразолон-5 — білий кристалічний порошок гіркуватого смаку. Кристали препарату мають вигляд великих прямокутних пластин та їх уламків. Препарат мало розчинний у воді (1:20), легко розчинний в спирті (1:2), діетиловому етері, дуже легко розчинний у хлороформі,  $t_{\text{пл.}} = 107\text{--}109$  °С.

Антипірин — 1-феніл-2,3-диметилпіразолон-5 — безбарвні кристали або білий кристалічний порошок без запаху, гіркуватого смаку. Кристали препарату мають вид великих плоских шестикутників. Дуже легко розчинний у воді (1:1), легко розчинний у спирті,  $t_{\text{пл.}} = 110\text{--}113$  °С.

Анальгін — 1-феніл-2,3-диметил-4-метиламінопіразолон-5-N-метансульфонат натрію — білий або білий з ледь помітним

жовтуватим відтінком кристалічний порошок. У присутності води швидко розкладається. Кристали препарату мають вигляд подовжених призм, у полі зору зустрічаються прямокутні пластини. Легко розчинний у воді (1:1,5), важко розчинний у спирті, нерозчинний в етері.

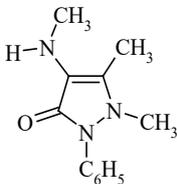
*Бутадіон* — 1,2-дифеніл-4-бутилпіразолідиндіон-3,5 — білий або з ледь жовтуватим відтінком порошок. Кристали препарату мають вигляд тонких подовжених призм, у полі зору видно окремі подовжені прямокутні пластини. Мало розчинний у воді, важко розчинний у спирті (1:28), розчинний в етері (1:15), хлороформі (1:1), у розчині натрій гідроксиду,  $t_{пл.}$  104–106 °С.

**Застосування.** Похідні піразолону застосовуються при невралгіях, ревматизмі, хорей, застудних захворюваннях та міозиті. Препарати зменшують проникність капілярів і перешкоджають розвитку запальних процесів.

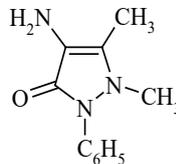
**Поведінка в організмі.** Похідні піразолону за будь-якого способу введення швидко всмоктуються в організмі, їх сліди виявляються в сечі вже через 10–20 хв після введення. Виділяються похідні піразолону в нативному вигляді й у вигляді метаболітів.

**Метаболізм.** Основні напрямки метаболізму похідних піразолону:

- деметилювання до 4-аміноантипірину і 4-монометиламіноантипірину (амідопірин):

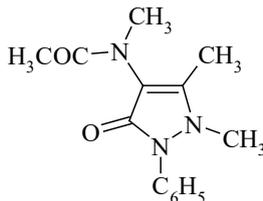


4-Аміноантипірин



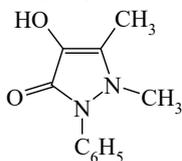
4-Монометиламіноантипірин

- гідроліз до монометиламіноантипірину (анальгін);
- ацетилювання до N-ацетил-4-аміноантипірину (амідопірин, анальгін):

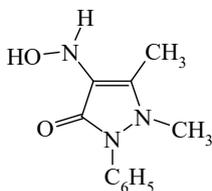


N-ацетил-4-аміноантипірин

- окиснення до 4-гідроксиантипірину (анальгін, амідопірін, антипірін);

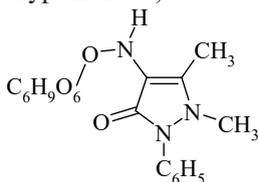


Гідроксиантипірін



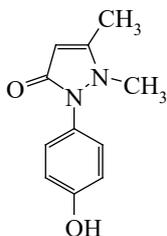
4-*N*-гідроксиаміноантипірін

- кон'югація 4-гідроксиантипірину та 4-гідроксиаміноантипірину з кислотою глюкуроною;



4-Гідроксиаміноантипірінглюкуронід

- гідроксилування в *para*-положенні одного з двох фенільних радикалів бутадіону:



*p*-Гідроксиантипірін

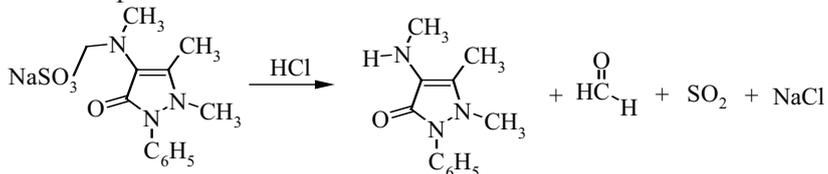
**Токсична дія та симптоми отруєння.** Інтоксикація препаратами обумовлена передозуванням, підвищеною чутливістю до зазначених препаратів, неправильним їх зберіганням. При тривалому прийомі препаратів виникає небезпека хронічного отруєння. Анальгін при повторних прийомах викликає ознаки анемії, чинить нефротоксичну дію та у меншій мірі — гепатотропну. При тривалому застосуванні похідні піразолону сприяють пригніченню кровотворення (лейкопенія, агранулоцитоз), викликають порушення функцій ЦНС, зниження температури тіла, ураження нирок, алергійні реакції (шкірний висип, набряк слизових оболонок, описані окремі випадки анафілактичних реакцій). Летальна доза похідних піразолону — 5–15 г.

### Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* шлунок, кишечник, печінка, нирки, кров, сеча.

**Ізолювання** проводиться за загальними методами (Ста-са—Отто або А.О. Васильєвої), препарати можуть бути знайдені в «кислій» і «лужній» хлороформних витяжках.

Анальгін у кислих водних витяжках гідролізується з утворенням монометиламіноантипірину, який переходить у хлороформний екстракт.



Враховуючи, що похідні піразолону характеризуються слабкими основними властивостями, запропонований частковий метод екстракції похідних піразолону з органів, для чого водну кислоту витяжку відразу підлюговують розчином амоній гідроксиду до рН 8,5–10 і проводять екстракцію хлороформом.

При дослідженні біологічних рідин похідні піразолону вилучаються органічними розчинниками з підкислених об'єктів у присутності висолувачів з попереднім осадженням білків за потреби.

### **Виявлення та ідентифікація**

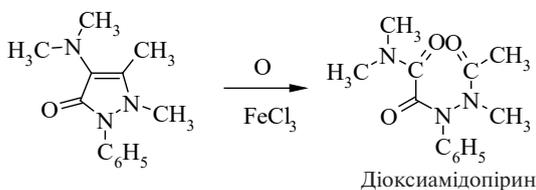
**ТІХХ-скринінг.** При проведенні дослідження «кислого» хлороформного екстракту похідні піразолону в загальній рухомій фазі хлороформ—ацетон (4:1) мають значення  $R_f$  0,25. При обробці 5 % розчином ферум(III) хлориду похідні піразолону виявляються у вигляді блакитних, синіх, синьо-фіолетових і червоно-фіолетових плям; при обробці реактивом Драгендорфа та 10 % розчином кислоти сульфатної (послідовно) похідні піразолону утворюють оранжеві, оранжево-коричневі плями.

Після очистки «кислого» та «лужного» хлороформних екстрактів за допомогою хроматографічних методів проводять підтвердження наявності похідних піразолону хімічними та фізико-хімічними методами.

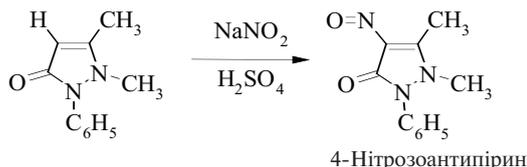
Для похідних піразолону характерні *реакції забарвлення*:

- *Реакція з ферум(III) хлоридом* — для анальгін у спостерігається червоно-фіолетове забарвлення, для антипірину — червоне, для амідопірину — синьо-фіолетове (реакція неспецифічна, чутлива):





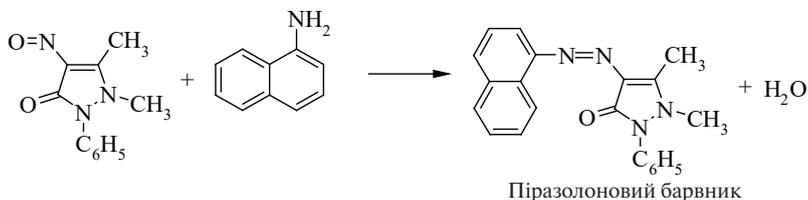
• *Реакція з натрій нітритом і кислотою сульфатною концентрованою* — для антипірину спостерігається утворення зеленого забарвлення, для амідопірину — фіолетового (забарвлення зникає), для анальгіну — зеленувато-синього (забарвлення зникає), для бутадіону — червоно-бурого (забарвлення зникає поступово). Реакція неспецифічна, чутлива.



• *Реакція з лігніном* — спостерігається утворення лимонно-жовтого забарвлення, характерного для анальгіну.

• *Реакція з реактивом Несслера* — спостерігається утворення оранжевого осаду, характерного для анальгіну.

• *Реакція утворення азобарвника* — спостерігається утворення червоного забарвлення, характерного для антипірину.



Межа виявлення — 2 мкг антипірину. Ця реакція є специфічною для виявлення антипірину. За допомогою описаної реакції можна відрізнити антипірін від амідопірину, який не дає цієї реакції.

Ідентифікацію похідних піразолону також проводять спектральними методами.

• *Виявлення антипірину за УФ- і ІЧ-спектрами.* Антипірін у 0,05М розчині кислоти сульфатної має максимум поглинання за довжини хвилі 230 нм і вигини при 259 і 265 нм; в ІЧ-ділянці спектра антипірін (диск із калій бромідом) має основні піки за 1660, 770 і 1486 см<sup>-1</sup>.

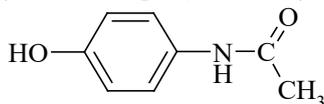
• *Виявлення амідопірину за УФ- і ІЧ-спектрами.* УФ-спектр амідопірину в 0,05М розчині кислоти сульфатної має максимум поглинання за довжини хвилі, яка дорівнює 256 нм, і мінімум при 228 нм, а також вигин при 242 нм. В ІЧ-ділянці спектра амідопірин (диск із калій бромідом) має основні піки при 1660, 1315 і 1126  $\text{см}^{-1}$ .

**Кількісне визначення** похідних піразолону проводиться *УФ-спектрофотометричним, фотоелектроколориметричним* (анальгін — за реакцією з бензохіноном в оцтовокислому середовищі, бутадіон — з бензидином), *екстракційно-фотометричним* (амідопірин — з бромфеноловим синім), а також *хроматографічними* методами (ГРХ, ВЕРХ).

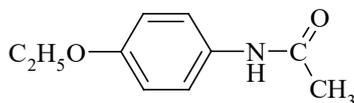
#### 6.6.4. ПОХІДНІ *n*-АМІНОФЕНОЛУ

За фармакологічними властивостями похідні *n*-амінофенолу належать до ненаркотичних анальгетиків. Основними представниками зазначеної хімічної групи лікарських речовин є:

- парацетамол (ацетамінофен, панadol) — *n*-ацетамінофенол:



- фенацетин (ацетофенетидин, ацетилфенетидин, фенедин) — 1-етокси-4-ацетамінобензол:



**Фізико-хімічні властивості.** Парацетамол — білий або з кремовим відтінком кристалічний порошок,  $t_{\text{пл.}}$  134–135 °С. Дуже слабо розчиняється у холодній воді, значно краще розчиняється у гарячій, розчиняється в етанолі, метанолі, диметилформаміді, хлористому етилені, ацетоні, етилацетаті; дуже слабо розчиняється в хлороформі, слабо розчиняється в етері, практично не розчиняється в петролейному етері, пентані, бензені.

**Фенацетин** — білий кристалічний порошок без запаху, ледь гіркуватий на смак,  $t_{\text{пл.}}$  169,0–170,5 °С. Розчиняється у хлороформі (1:15), етанолі (1:20), слабо розчиняється в діетиловому етері, важко розчиняється у воді (1:1700).

**Застосування.** Лікарські речовини — похідні *n*-амінофенолу — виявляють жарознижувальну, протизапальну і беззаспокійливу дію. Їх застосовують при головних болях, невралгії, міальгії, як жарознижувальне — при застуді.

Згідно з сучасними уявленнями фенацетин розглядається як «пролікарський» засіб, в організмі він швидко метаболізує з утворенням парацетамолу. За анальгезуючою та жарознижувальною активністю парацетамол суттєво не відрізняється від фенацетину; як і останній, він виявляє слабку протизапальну активність.

Парацетамол входить до складу деяких комбінованих препаратів — колдрексу, солпадеїну, панадолу-екстра, цитрапару, цитрапаку, цитрамону П та ін.

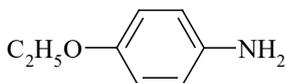
**Поведінка в організмі.** Невеликі дози парацетамолу швидко всмоктуються у верхніх відділах кишечника. Час всмоктування підвищених кількостей препарату значно варіюється та залежить від наповненості шлунка та часу доби. Час напіввиведення ( $T_{1/2}$ ) становить 1–4 год. Метаболізує парацетамол у печінці, виводиться в основному нирками: 1–4 % — у незмінному вигляді; 20–30 % — у вигляді кон'югатів з сульфатами, 40–60 % — у вигляді глюкуронідів.

### **Метаболізм.**

#### • Шляхи метаболізму фенацетину:

– *O*-дезалкілювання з утворенням парацетамолу та ацетальдегіду з подальшою кон'югацією парацетамолу з сульфатами та кислотою глюкуроною (див. *метаболізм парацетамолу*);

– дезацетилювання з утворенням *n*-фенетидину (*n*-етоксианіліну) та *n*-амінофенолу (при дезацетилюванні парацетамолу):



Фенетидин



*n*-Амінофенол

– гідроксилювання, в результаті якого утворюються 2-гідроксифенацетин та 2-гідроксифенетидин;

– утворення продуктами дезацетилювання кон'югатів з сульфатами.

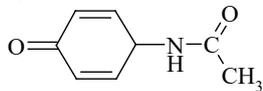
#### • Шляхи метаболізму парацетамолу:

– утворення глюкуроніду, цей процес каталізується глюкуронозилтрансферазою;

– сульфатування, цей процес залежить від фосфоадениліл-сульфату (ФАФС) та печінкових запасів сірки;

– 3-гідроксилювання з наступним кон'югуванням та *O*-метиловання гідроксильної групи; ці шляхи біотрансформації мають другорядне значення;

– окиснення до високореактивного метаболіту *N*-ацетил-*p*-бензохіноніміну (АБХІ):



Цей шлях біотрансформації має невелике значення при прийомі терапевтичних доз парацетамолу та стає значно важливішим при прийомі великих доз препарату. Утворення АБХІ відбувається під дією цитохром Р<sub>450</sub>-залежної оксидазної системи.

Глутатіон печінки швидко знешкоджує цю високотоксичну речовину через перетворення її в цистеїновий або меркаптопуриновий кон'югат. Коли вміст глутатіону в печінці знижується нижче за критичний рівень (близько 30 % від нормального запасу), АБХІ ковалентно зв'язується з макромолекулами гепатоцитів, зумовлюючи некротизацію тканини. Речовини, що індукують Р<sub>450</sub>-ферменти печінки (наприклад, фенобарбітал), здатні підвищити гепатотоксичність парацетамолу.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** У порівнянні з фенацетином парацетамол — дещо менш токсичний, він меншою мірою сприяє утворенню метгемоглобіну. При тривалому прийомі терапевтичних доз не виключена вірогідність нефротоксичної та гепатотоксичної дії. Іноді відмічаються алергічні реакції.

При прийомі токсичних доз парацетамолу він чинить гепатотоксичну дію. У дорослих порогове значення разової дози, що призводить до гострого тяжкого ураження печінки, становить 150–250 мг/кг. Хоча точний механізм токсичної дії парацетамолу неясний, ураження печінки, ймовірно, обумовлене в основному токсичним продуктом біотрансформації, який ковалентно зв'язується з гепатоцитами, призводить до некрозу центральної частини печінкових часток. Через кілька годин після прийому токсичних доз парацетамолу розвиваються нудота та блювота. Приблизно через 18–72 год не виключається поява болючих відчуттів у печінці та болей у животі. Коли не розвивається печінкова недостатність, з третього дня стан зазвичай покращується, і пацієнт одужує.

При тяжких отруєннях парацетамолом блискавична печінкова недостатність може розвиватися на третій–шостий день. Для неї характерні прогресуюча жовтяниця, енцефалопатія, зростання внутрішньочерепного тиску, порушення внутрішньосудинного згортання крові та кровотеча, гіпервентиляція, ацидоз, гіпокаліємія та ниркова недостатність. Прогноз дуже несприятливий.

Діти віком до 10 років, вірогідно, значно більш стійкі до отруєнь парацетамолом. Для дорослих тяжке ураження печінки на 50 % та 100 % спостерігається при прийомах, відповідно, 250 мг/кг та 350 мг/кг парацетамолу, летальна доза становить 5–15 г. Для підлітків гепатотоксична дія спостерігається при прийомі 125–150 мг/кг; летальна доза становить 13–25 г.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** У перші декілька годин після передозування зазначеними препаратами (доза в кілька разів перевищує терапевтичну) слід викликати блювання, якщо немає протипоказань (знижена чутливість, судом, кома). Вводять активоване вугілля (60–100 г дорослим, 30–60 г дітям), призначають проносне (магній сульфат: 30 г дорослим, 250 мг/кг дітям).

Після очистки ШКТ основу лікування складають підтримуючі та симптоматичні заходи: при гіпотензії катетеризують центральну вену та вводять хворому дофамін; при епілептичних нападах — діазепам внутрішньовенно (5–10 мг дорослим, 0,1–0,3 мг/кг дітям); при пригніченні дихання використовують допоміжну вентиляцію; при нирковій недостатності проводять гемодіаліз або гемофільтрацію; за допомогою гваякових проб слідкують за станом ШКТ на предмет кровотечі.

Якщо було прийнято більш ніж 150 мг/кг парацетамолу *per os*, а рівень препарату в плазмі невідомий, і клінічна картина отруєння свідчить про індуковану парацетамолом печінкову недостатність, проводять терапію *N*-ацетилцистеїном (АЦ). АЦ становить собою *N*-ацетильоване похідне природної амінокислоти *L*-цистеїну. Початкова пероральна доза становить 140 мг/кг у 5 % розчині АЦ, після кожних 4 год дають ще 17 доз по 70 мг/кг такого самого розчину. АЦ призначають внутрішньовенно у випадку нудоти та блювоти у потерпілого.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

**Об'єкти дослідження:** шлунок, кишечник, печінка, нирки, кров, сеча.

**Ізолювання.** Для ізолювання похідних *n*-амінофенолу з біологічного матеріалу проводять настоювання об'єкта з підкислою водою або підкисленим етанолом. Зазначені лікарські речовини екстрагуються органічними розчинниками як з кислого, так і з лужного водних середовищ.

При ненаправленому дослідженні з використанням загальних методів ізолювання парацетамол та фенацетин визначають у «кислій» хлороформній витяжці.

## Виявлення та ідентифікація

**ТШХ-скринінг.** Значення  $R_f$  для фенацетину та парацетамолу в загальних хроматографічних системах, відповідно, становлять: хлороформ–ацетон (80:20) — 0,38 та 0,15; етилацетат–метанол–25 % розчин амоній гідроксиду (85:10:5) — 0,68 та 0,45; етилацетат — 0,37 та 0,32; хлороформ–метанол (90:10) — 0,52 та 0,26.

Проявники: калій перманганату підкислений розчин; ферум(III) хлориду 5 % або 10 % розчин (парацетамол) — блакитне забарвлення.

При необхідності проводять додаткову очистку «кислої» хлороформної витяжки за допомогою ТШХ, гель-хроматографії та інших фізико-хімічних методів та підтверджують наявність фенацетину та парацетамолу за допомогою кольорових реакцій та фізико-хімічних методів.

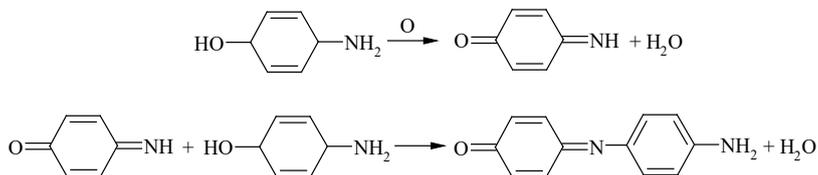
- *Реакція з реактивом Лібермана* — спостерігають фіолетове забарвлення, реакція чутлива, неспецифічна.

- *Реакція з ферум(III) хлоридом* — спостерігають блакитне забарвлення для парацетамолу, реакція чутлива, неспецифічна.

- *Реакція з реактивом Фоліно–Чіокальто* — блакитне забарвлення для парацетамолу. Реакція чутлива, неспецифічна.

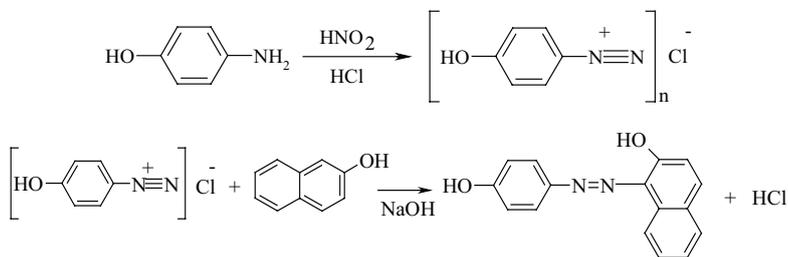
- *Реакція з реактивом Несслера* — спостерігають коричневе забарвлення (з'являється повільно) при наявності парацетамолу, реакція чутлива, неспецифічна.

- *Реакція утворення індофенолового барвника* — проводиться після кислотного гідролізу фенацетину (парацетамолу) до *n*-амінофенолу. Кислотний гідроліз проводиться у присутності 1М розчину кислоти хлоридної при нагріванні протягом 3 хв.



Калій дихромат окислює *n*-амінофенол до хіноніміну, що реагує з *n*-амінофенолом, який раніше не вступив до реакції. Поява фіолетового забарвлення, яке переходить у вишнево-червоне, свідчить про наявність фенацетину. Для парацетамолу фіолетове забарвлення з'являється повільніше та у червоне не переходить.

- *Реакція утворення азобарвника* після кислотного гідролізу до *n*-амінофенолу — спостерігається червоне забарвлення:



Реакцію утворення азобарвника безпосередньо (без попереднього кислотного гідролізу) використовують для виявлення фенацетину та парацетамолу в сечі, бо одним із продуктів їх метаболізму є *n*-амінофенол. Реакція чутлива, неспецифічна.

• Ідентифікацію фенацетину та парацетамолу проводять за *УФ*- та *ІЧ*-спектрами.

Для фенацетину у водному розчині кислоти  $\lambda_{\text{max}}$  спостерігається при 244 нм (у розчині лугу батохромний зсув не спостерігається). Для парацетамолу у водному розчині кислоти  $\lambda_{\text{max}}$  — при 245 нм; у водному розчині лугу  $\lambda_{\text{max}}$  — при 257 нм.

В *ІЧ*-ділянці спектра фенацетин (диск із калій бромідом) має основні піки при 1243, 1655, 1513 і 1555  $\text{cm}^{-1}$ .

Ідентифікацію зазначених препаратів проводять також за допомогою хроматографічних методів — *ГРХ* і *ВЕРХ*.

**Кількісне визначення** похідних *n*-амінофенолу базується на використанні фізико-хімічних методів:

- *спектральних* (*УФ*-спектрофотометрії, фотоколориметрії за реакцією утворення азобарвника);
- *хроматографічних* (*ГРХ*, *ГРХ*-МС, *ВЕРХ*).

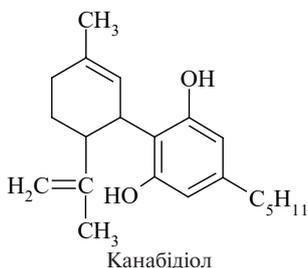
### 6.6.5. КАНАБІНОЇДИ

До групи канабіноїдів (канабіс) входять препарати різних частин коноплі (*Cannabis sativa* і *Cannabis indica*). Найбільш поширені форми нелегальних наркотичних засобів — марихуана (план), гашиш, гашишна олія, sinsemilla.

У канабісі міститься близько 70 різних канабіноїдів. Найбільш важливими є *канабідіол* (КБД), *канабінол* (КБН), *(-)-транс- $\Delta^9$ -тетрагідроканабінол* [ $\Delta^9$ -ТГК ( $\Delta^1$ -ТГК)], *(-)-транс- $\Delta^8$ -тетрагідроканабінол* [ $\Delta^8$ -ТГК ( $\Delta^{1-6}$ -ТГК)] та *кислота  $\Delta^9$ -тетрагідроканабінолова*.

У рослині канабіноїди присутні, як правило, у вигляді їх кислотних аналогів. Попередником усіх рослинних канабіноїдів є кислота канабігеролова. З розвитком рослини у ній переважають канабідіоли (КБД; характеризуються відсутністю психоактивної

дії), тетрагідроканабіноли (ТГК; основна речовина, яка має психоактивну дію), а зі старінням та відмиранням, а також у препаратах, виготовлених з рослинного матеріалу, по мірі їх зберігання ТГК перетворюється в КБН (у 10 разів менш активний за ТГК).



**Фізико-хімічні властивості.** Δ<sup>9</sup>-ТГК і кислота Δ<sup>9</sup>-ТГК мають  $t_{\text{кип.}}$  — 200 і 210–213 °С відповідно. Ці речовини добре розчиняються в етанолі, ацетоні. Розчинність Δ<sup>9</sup>-ТГК у воді становить 3 мг/л. Δ<sup>9</sup>-ТГК-кислота обмежено розчиняється в хлороформі і діетиловому етері і практично нерозчинна у воді, бензені і петролейному етері. Δ<sup>9</sup>-ТГК належить до слабких кислот (рКа, дорівнює 10,6). Спиртові розчини Δ<sup>9</sup>-ТГК і Δ<sup>9</sup>-ТГК-кислоти мають характерні спектри поглинання в УФ-ділянці з максимумами при 283, 276 і 283, 278 нм відповідно. У Δ<sup>8</sup>-ТГК  $t_{\text{кип.}}$  — 200 °С і спектри поглинання в УФ-ділянці з максимумами поглинання при 282, 275 та 230 нм.

Канабідіол являє собою смолу жовтого кольору або кристали,  $t_{\text{пл.}}$  — 66–67 °С,  $t_{\text{кип.}}$  — 187–190 °С. Практично не розчиняється

у воді та 10 % розчині натрій гідроксиду. Добре розчиняється в етанолі, метанолі, діетиловому етері, хлороформі, петролейному етері. Має характерні спектри поглинання в УФ-ділянці спектра з максимумами поглинання при 282, 274 нм (спиртові розчини). Канабінол не розчиняється у воді, розчиняється в метанолі, етанолі і водно-лужних розчинах,  $t_{пл.} — 76–77\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $t_{кип.} — 185\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Канабіноїди екстрагуються органічними розчинниками з кислих водних розчинів.

**Застосування.** Для паління (вдихання диму) використовують сигарети з марихуаною (500–750 мг) або звичайні сигарети з додаванням гашишу чи невеликої кількості гашишної олії. Поширене також вдихання парів олії, пероральне використання — жування, заварювання киплячою водою або як добавка до їжі. Внутрішньовенне введення застосовують рідко.

Марихуана — висушена і подрібнена верхня частина рослини з листками і квітками (вміст активних речовин до 15 %).

Гашиш — смола, що виділяється канабісом у певний період вегетації, зеленого, темно-коричневого або чорного кольору (вміст активних речовин може досягати 10 %).

Гашишна олія — концентрований темний рідкий і в'язкий екстракт рослинного матеріалу або смоли канабісу зі вмістом психоактивних речовин від 10 до 60 %.

Дикорослі коноплі поширені всюди, із давніх пір вони використовувалися в медицині як стимулюючий і седативний, безбездіяльний (у вигляді настоянок і екстрактів), а також ейфорійний та галюциногенний засіб. Канабіс знижує внутрішньоочний тиск, зменшуючи вірогідність пошкодження очного нерва при глаукомі.

У 1957 році в СРСР було заборонене використання в медицині трави індійських конопель і препаратів з неї у зв'язку з наркотичною дією. До 1992 року в США марихуану було дозволено обмежено використовувати у медичних цілях (для запобігання нудоти і блювоти у хворих на СНІД, при онкологічних захворюваннях та радіоактивному опроміюванні). З 1992 року тільки основний психоактивний інгредієнт марихуани — ТГК дозволений у медичній практиці деяких країн (США, Німеччина).

Використовується під контролем медперсоналу в основному для лікування глаукоми і токсикозу у хворих на рак або в онкологічних хворих, що пройшли курс хіміотерапії, для лікування анорексії, що поєднується зі зниженням маси тіла у хворих на СНІД (препарати дронабіол і набінол (цезамед)).

Згідно з Переліком наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів, затвердженим Постановою Кабінету Міністрів України №770 від 6 травня 2000 р., канабіс, смола канабісу, екстракти і настоянки канабісу належать до особливо небезпечних наркотичних засобів, обіг яких заборонено (Таблиця I, Список №1); тетрагідроканабінол і окремі його ізомери віднесені до психотропних засобів, обіг яких заборонено (Таблиця I, Список №2).

**Поведінка в організмі.** При палінні канабіноїди швидко (за декілька хвилин) всмоктуються. При цьому зростає вміст фізіологічно активних компонентів КБН і  $\Delta^9$ -ТГК внаслідок розкладання КБД. Рівень  $\Delta^9$ -ТГК у крові швидко наростає, досягаючи максимальних концентрацій через 5–30 хв і швидко знижується через активні метаболічні процеси і розподіл речовин у тканинах.

При пероральному введенні внаслідок поганої резорбції у ШКТ концентрація  $\Delta^9$ -ТГК у крові наростає поволі, досягаючи максимальних значень через 1,5–3 год. Це пов'язано з надходженням речовини в систему ворітної вени, в печінку, а потім вже у мозок.

Ступінь абсорбції  $\Delta^9$ -ТГК при палінні і пероральному введенні індивідуальний і складає відповідно 2–56 і 6–20 %.  $\Delta^9$ -ТГК розподіляється більшою мірою в тканинах, багатих ліпідами (печінці, нирках, легенях, мозку). При хронічному прийомі  $\Delta^9$ -ТГК депонується в жировій тканині. Більш полярний активний метаболіт 11-гідрокси- $\Delta^9$ -ТГК показує меншу тенденцію до накопичення, а 8,11-дигідрокси- $\Delta^9$ -ТГК зберігається довгий час у ліпідах та печінці.

**Метаболізм.** Метаболізм канабіноїдів здійснюється переважно в печінці і протікає інтенсивно (знайдено близько 50 метаболітів). Шляхи метаболізму відповідають загальним закономірностям, проте мають видові та індивідуальні особливості та є різними для різних видів тканин. Основним активним метаболітом є 11-гідрокси- $\Delta^9$ -ТГК, який присутній у приблизно однакових кількостях з ТГК у плазмі крові. В сечі основним метаболітом є  $\Delta^9$ -ТГК-кислота. При пероральному прийомі ТГК у плазмі крові він присутній в основному у вигляді глюкуронідів кислих метаболітів. При палінні або внутрішньовенному введенні в крові основна маса кислого метаболіту знаходиться у вільному вигляді. 8,11-дигідрокси- $\Delta^9$ -ТГК метаболіт виводиться з сечею у вигляді глюкуроніду і може бути знайдений після гідролізу. Його присутність у сечі на рівні більше 15 нг/мл вказує на ймовірне вживання марихуани не більше ніж за 6 год до моменту відбору зразка.

ТГК та його метаболіти виводяться з організму головним чином з фекаліями і сечею. При цьому майже половина дози виводиться протягом 72 год з фекаліями, близько 10–15 % з сечею. Менше 5 % прийнятої дози виводиться з фекаліями в незмінному вигляді. Після вживання разової дози низькі концентрації метаболітів ТГК можуть бути знайдені в сечі протягом 5 тижнів.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** При вживанні марихуани настає ейфорія, збудження, потім з'являються відчуття страху, галюцинації, депресія, сонливість та інші симптоми. У деяких наркоманів виникає розгніваність, прагнення до бездумного і жорстокого кровопролиття.

Зовнішні симптоми інтоксикації канабіноїдами: почервоління очей і шкіри навкруги очей (т.з. «метелик»), рухи або вкрай загальмовані, або розмашисті і незграбні, мова невиразна (через розслаблення мовних органів), пози химерні і неприродні. Легке отруєння може бути практично безсимптомним; для отруєння середнього ступеня тяжкості характерні безпричинний сміх, рухове розгальмування, балакучість, різкі перепади настрою. Ознаки тяжкого отруєння: розслаблена «мертва» особа, загальмовані рухи, фіксований або відчужений погляд, неадекватні реакції на події, що відбуваються навкруги.

Клінічні наслідки куріння марихуани включають тривале порушення пам'яті у підлітків, шестиразове підвищення захворюваності на шизофренію, рак порожнини рота, щелепи, язика і легенів у осіб у віці 19–30 років, нелімфобластний лейкоз у дітей матерів, що палять марихуану. Описані випадки швидкоплинного (гострого) психозу, гіпоманій, що характеризується іноді шизофренічними симптомами.

Мінімальна токсична доза ТГК становить 25 мкг/кг маси тіла при палінні або 50 мкг/кг при пероральному вживанні. Летальна доза дронабінолу для людини при внутрішньовенному введенні складає 30 мг/кг.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Отруєння канабіноїдами не має потреби в спеціальному лікуванні, оскільки з часом воно проходить без видимих негативних наслідків. Проте у випадку, якщо отруєння супроводжується панікою, маренням, галюцинаціями, виникає необхідність швидкого протверезіння. Значний прийом солодкого зменшує гострі прояви і викликає сонливість. Для прояснення свідомості також доцільне вдихання нашатирного спирту. Найкращим засобом є внутрішньовенне введення 20 мл 40 % розчину глюкози з кислотою аскорбіноюю або внутрішньом'язове введення 2–4 мл 2,5 % розчину аміназину.

## Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* слина, змиви, волосся, піт, повітря, що видихається.

Перелічені біологічні об'єкти найчастіше використовуються для аналізу, оскільки визначення канабіноїдів є складним завданням через їх високу розчинність у ліпідах і низький вміст у крові і сечі.

Як попередні методи скринінгу на канабіноїди ( $\Delta^9$ -ТГК та його метаболіти) широко використовують прості і чутливі імунохімічні методи: радіоімунний аналіз, поляризаційно-флюоресцентний імуноаналіз (межа виявлення біля 20 нг/мл).

**Ізолювання.** Зі спиртових змивів рук і порожнини рота канабіноїди екстрагують етилацетатом, гексаном або петролейним етером. Екстракт після упарювання використовують для кольорових експрес-реакцій і в ТШХ.

**Виявлення та ідентифікація.** Для доказу наявності канабіноїдів у марихуані застосовують кольорові реакції:

- *Реакція з реактивом Буке* (кислота сульфатна концентрована і етанол (4:3)) — за наявності канабіноїдів з'являється коричнево-червоне забарвлення, межа виявлення — 1 мкг канабіноїдів у пробі.

- *Реакція з реактивом Дюкенау* — за наявності канабіноїдів у досліджуваному матеріалі спостерігається рожеве забарвлення розчину, яке переходить в синє, потім в темно-фіолетове.

- *Реакція з реактивом Паулі* — забарвлення плям нанесеного на фільтрувальний папір фільтрату в жовтий колір свідчить про наявність канабіноїдів.

**Метод ТШХ.** Для виявлення канабіноїдів використовують загальні хроматографічні системи: метанол–25 % розчин амоній гідроксиду (100:1,5) ( $R_f$  ТГК — 0,11, КБН — 0,94, КБД — 0,94); етилацетат–метанол–25 % розчин амоній гідроксиду (85:10:5) ( $R_f$  ТГК — 0,31, КБН — 0,95, КБД — 0,95); також спеціальні системи: толуен–гексан–діетиламін (25:10:1) ( $R_f$  ТГК — 0,29, КБН — 0,2, КБД — 0,36); толуен ( $R_f$  ТГК — 0,3, КБН — 0,52, КБД — 0,05).

Як проявник використовують *розчин міцного синього Б*. Канабідіол дає оранжеве забарвлення, канабінол — фіолетове,  $\Delta^9$ -ТГК — червоне. Його інтенсивність посилюється при обробці пластини 1 М розчином натрій гідроксиду або парами амоніаку. Також використовують *реактив Дюкенау*, після обробки яким пластину обприскують кислотою хлоридною. Канабіноїди дають забарвлення від блакитного до фіолетового.

Ідентифікацію канабіноїдів здійснюють на основі УФ-спектрів: у спиртових розчинах для канабідіолу  $\lambda_{\max}$  спостерігається при 278 нм, для канабінолу  $\lambda_{\max}$  — при 285 нм, для ТГК  $\lambda_{\max}$  — при 278 нм, для ТГК-кислоти  $\lambda_{\max}$  — при 278, 283 нм.

Ідентифікацію канабіноїдів проводять також за допомогою методів ГРХ, ВЕРХ, мас-спектроскопії.

**Кількісне визначення** проводять методами ГРХ (кров і тканини мозку), ВЕРХ (сеча, слина), ГХ-МС (сеча, кров, волосся, нігті), ВЕРХ-МС (сеча), РІА (біологічні рідини), ВЕРХ-РІА (кров, плазма, сироватка, сеча).

## 6.7. ТОКСИКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ТА ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ АЛКАЛОЇДІВ

*Алкалоїди* — це група органічних нітрогеновмісних речовин, переважно рослинного походження, що мають основний характер та чинять значний фізіологічний вплив на організм людини і тварин.

В основі хімічної будови більшості алкалоїдів лежать гетероциклічні структури. Найбільше токсикологічне значення мають *похідні піридину і піперидину* (нікотин, анабазин, пахікарпін, ареколін, коніїн), *тропану* (атропін, скополамін, кокаїн), *хіноліну* (хінін), *ізохіноліну* (морфін, кодеїн), *індолу* (стрихнін, бруцин, резерпін), *пурину* (кофеїн, теобромін, теофілін). Серед *ациклічних алкалоїдів* (які містять атом нітрогену в аліфатичному ланцюзі) токсикологічне значення має ефедрин.

**Фізико-хімічні властивості.** Алкалоїди у вигляді основ являють собою порошки, добре розчинні в органічних розчинниках (хлороформі, діетиловому етері, ізоаміловому спирті), але гірше розчинні чи практично нерозчинні у воді. Алкалоїди у вигляді солей добре розчинні у воді, але гірше розчинні чи практично нерозчинні в органічних розчинниках.

Похідні піридину і піперидину — ареколін, коніїн, нікотин, анабазин і пахікарпін — у вигляді основ є безбарвними олійстими рідинами, які швидко осмолюються на повітрі; добре змішуються з водою та органічними розчинниками.

**Поведінка в організмі.** Алкалоїди всмоктуються в тонкому кишечнику, частково зв'язуються з білками, піддаються метаболічним змінам переважно в печінці, виводяться з організму в нативному вигляді і у вигляді метаболітів нирками і кишечником. Шляхи метаболізму окремих алкалоїдів розглянуто у підрозділах 6.7.1–6.7.7.

Нікотин швидко всмоктується крізь слизову оболонку рота, а також легені, він проникає і через непошкоджену шкіру. Нікотин проникає в кров немовлят з молоком матерів, які палять. Нікотин і анабазин можуть виводитися через легені.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

*Об'єкти дослідження:* мозок, печінка, нирки, шлунок і кишечник зі змістом, промивні води шлунка, легені, кров, сеча.

*Ізолювання* алкалоїдів з біологічного матеріалу при *направленому судово-токсикологічному дослідженні* проводять за методом В.П. Крамаренка. Згідно з цим методом як екстрагент токсичної речовини з біологічного матеріалу використовують воду, підкислену кислотою сульфатною. Очистку отриманої витяжки від співекстрактивних речовин проводять за допомогою висолювання білкових домішок амоній сульфатом, а також екстракції жирів діетиловим етером з кислого середовища. Враховуючи те, що більшість алкалоїдів є сильними основами, їх екстрагують з водного шару до хлороформної фази при рН 8,5–9,0, для чого водні витяжки піддуговують розчином натрій гідроксиду.

При *ненаправленому судово-токсикологічному дослідженні*, яке передбачає використання загальних методів ізолювання (А.О. Васильєвої, Стаса—Отто), алкалоїди, які є сильними основами, і алкалоїди середньої основності визначаються у «лужному» хлороформному екстракті, а алкалоїди зі слабкими основними властивостями — у «кислому» хлороформному екстракті (похідні пурину), або перерозподіляються між «кислим» та «лужним» екстрактами (похідні індолу). Це обумовлено тим, що слабкі основи утворюють з оксалатною (слабкою органічною) кислотою солі, які легко гідролізуються у кислому середовищі.

Для додаткової очистки екстрактів з біологічного матеріалу використовують також інші методи: повторну екстракцію жирових та ліпідних домішок органічними розчинниками з кислого середовища, ТФЕ, поєднання екстракції та ТШХ, гель-хроматографію, електрофорез.

*ТШХ-скринінг* алкалоїдів проводять з використанням загальних рухомих фаз, наприклад, хлороформ—діоксан—ацетон—25 % розчин амоній гідроксиду (47,5:45:5:2,5); сорбент — силікагель КСК; *проявник* — *реактив Драгендорфа за Муньє*, алкалоїди виявляються у вигляді плям оранжевого і оранжево-коричневого кольору. Досліджувану речовину із сорбенту виділяють елюентом — сумішшю метанол—діетиламін (9:1). При необхідності проводять хроматографування в спеціальних рухомих фазах. При цьому для

деяких алкалоїдів, окрім реактиву Драгендорфа, як *проявники* додатково використовують більш специфічні реактиви:

- *реактив Маркі* (опіати дають синє, фіолетове, червоно-фіолетове, зелене забарвлення);

- *калій йодплатинату підкислений розчин* (плями опіатів набувають темних відтінків, а плями морфіну переходять у синьо-фіолетовий колір);

- *нінгідрину розчин у n-бутанолі або ацетоні* з наступним нагріванням при 110 °С (ефедрин та інші фенілалкіламіни виявляються у вигляді рожевих плям); *розчин йоду*, після чого *кислота хлоридна в етанолі* (похідні пурину утворюють оранжево-коричневе забарвлення);

- *розчин кислоти сульфатної* та детектування в *УФ-світлі* (плями хініну виявляються за блакитною флюоресценцією).

Хроматографування в спеціальних рухомих фазах може бути проведене у присутності «свідків» за наявності стандартних речовин у лабораторії (що не завжди доступно для відповідних установ).

У процесі ТШХ-скрінінгу відбувається також *очистка* екстрактів від біогенних домішок, які локалізуються на хроматографічних пластинах в областях  $R_f < 0,2$  і  $R_f > 0,8$ .

*Підтверджуючі дослідження елюату* включають найбільш чутливі хімічні і фізико-хімічні методи аналізу алкалоїдів.

*Осадові реакції* проводять із загальноалкалоїдними осадовими реактивами (пікринова кислота; сіль Рейнеке; реактиви Драгендорфа, Марме, Майера, Зонненшейна та ін.).

Одну або декілька крапель хлороформної витяжки наносять на предметні скельця, органічний розчинник випаровують досуха, залишок розчиняють у 0,1 М розчині кислоти хлоридної. До отриманих розчинів додають відповідні загальноалкалоїдні осадові реактиви.

Аморфні або кристалічні осадки з нехарактерною формою часток вказують на наявність гетероциклічного атома нітрогену в препаратах. Реакції високочутливі, неспецифічні.

*Мікрорислоскопічні реакції.* Очищений хлороформний екстракт випаровують досуха, залишок розчиняють у 0,1 М розчині кислоти хлоридної. По краплі отриманого розчину наносять на предметні скельця з поглибленнями, куди додають відповідні осадові реактиви, результат спостерігають під мікроскопом (табл. 6.6) через кілька хвилин.

Реакції високочутливі і специфічні за певних умов (додаткова очистка, температура, вологість).

*Реакції забарвлення на алкалоїди.* Для проведення кольорових реакцій на алкалоїди хлороформний екстракт чи елюат вносять у кілька порцелянових чашок чи тиглів, органічний розчинник випаровують і одержують сухі залишки, до яких додають по краплі відповідні реактиви (табл. 6.7) та спостерігають забарвлення.

Можливе проведення кольорових реакцій на хроматографічних пластинах: декілька крапель екстракту наносять в одну точку хроматографічної пластини за допомогою капіляра; після видалення органічного розчинника на сухий залишок наносять відповідні кольорові реактиви. Зазначені реакції чутливі, неспецифічні.

Таблиця 6.6

### Мікрокристалоскопічні реакції на алкалоїди

Речовина	Реактив	Форма кристалів
1	2	3
<b>Похідні піридину та піперидину</b>		
Нікотин	Драгендорфа	У вигляді птахів, що летять, літер К та Х
	Сіль Рейнеке	Зростки призматичних кристалів
	Р-н йоду в етері	Голчасті кристали рубінового кольору
Анабазин	Драгендорфа	Зростки з голчастих кристалів у вигляді пік
	Сіль Рейнеке	Голчасті кристали
Пахікарпін	Бушарда	Золотисто-жовті або золотисто-зелені кристали у формі листя дуба
	Роданідний комплекс кобальту	Зростки з блакитних призматичних кристалів, при стоянні утворюються гіллясті дендрити
	Кислота пікринова	Зростки з жовто-зелених призматичних кристалів
<b>Похідні тропану</b>		
Атропін	Кислота пікринова	Жовті кристали у вигляді пластинок або зростків з них
Атропін, скополамін	Сіль Рейнеке	Зростки кристалів з ромбоподібними кінцями
Атропін	Бромна вода	Жовті або червоно-бурі кристали у вигляді зерен рису
Скополамін	Кислота золотобромистоводнева	Світло-коричневі, жовті, зубчасті дендрити
Кокаїн	Калій перманганат	Червоно-фіолетові прямокутники і зростки з них
<b>Похідні фенантренизохіноліну</b>		
Морфін	Кадмій йодид	Безбарвні голки, зібрані у пучки
	Меркурій хлорид	Зростки з голчастих кристалів у вигляді пучків
Кодеїн	Кадмій йодид	Призматичні поодинокі та зібрані у пучки кристали

1	2	3
<b>Похідні хіноліну</b>		
Хінін	Кобальту роданід	Голчасті кристали, зібрані в зростки у вигляді пучків
<b>Похідні індолу</b>		
Стрихнін	Кислота пікрінова	Дрібні голчасті кристали у вигляді пластинок або зростків з них
<b>Ациклічні алкалоїди</b>		
Ефедрин	Сіль Рейнеке	Тонкі пластини у вигляді прямокутників
<b>Похідні пурину</b>		
Кофеїн, теобромін, теофілін	Реактив Несслера	Червоно-бурий осад

Таблиця 6.7

## Реакції забарвлення на алкалоїди

Речовина	Реакція або реактив	Забарвлення
1	2	3
<b>Похідні піридину та піперидину</b>		
Нікотин	Формальдегід, $\text{HNO}_3$ <small>3 конц.</small>	Рожеве
	<i>n</i> -диметиламінобензальдегід, $\text{HCl}$ <small>конц.</small>	Рожеве, яке переходить у фіолетове
Анабазин	Пергідроль, $\text{H}_2\text{SO}_4$ <small>4 конц.</small>	Коричневе
	Ванілін, $\text{HCl}$ <small>конц.</small>	Вишнево-червоне
<b>Похідні тропану</b>		
Атропін, скополамін	Віталі-Морена	Фіолетове, яке швидко зникає
	<i>n</i> -диметиламінобензальдегід, $\text{H}_2\text{SO}_4$ <small>4 конц.</small>	Вишнево-червоне, яке переходить у фіолетове
<b>Похідні хіноліну</b>		
Хінін	Флюоресценція сірчаноокислої солі хініну	Голуба флюоресценція в УФ-світлі
	Талейохінна проба	Зелене
	Еритрохінна реакція	Рожеве (хлороформний шар)
<b>Похідні фенантренизохіноліну</b>		
Морфін	Маркі, Фреде, Манделіна	Фіолетове
	Ердмана	Червоне, яке переходить у жовте
	Ферум(III) хлорид	Фіолетове
	Реакція Пеллагрі	Зелене
Кодеїн	Маркі, Фреде, Манделіна	Зелене, яке переходить у синьо-фіолетове
Етилморфін	Маркі	Синє, яке переходить у синьо-фіолетове
	Манделіна	Зелене
	Фреде	Зелене, яке переходить у синє

1	2	3
Героїн	Маркі	Червоне, яке переходить у фіолетове
	Манделіна	Фіолетове
	Фреде	Фіолетове, яке переходить у брудно-зелене, а потім — у рожеве
<b>Похідні індолу</b>		
Стрихнін	Конц. $H_2SO_4$ , кристалик калій дихромату	Фіолетові струмені
	Манделіна	Синьо-фіолетове, яке переходить у червоне
	Віталі-Морена	Червоно-фіолетове
<b>Похідні пурину</b>		
Кофеїн, теобромін, теофілін	Мурексидна проба	Пурпурне або фіолетове
<b>Ациклічні алкалоїди</b>		
Ефедрин	Реакція з солями купруму і сірковуглецем	Жовте або коричневе (бензеновий шар)
	Розчин нінгідрину	Рожево-фіолетове
	Реакція з 2,4-динітрохлорбенzenом	Жовте (хлороформний шар)

Ідентифікацію алкалоїдів проводять за допомогою фізико-хімічних методів: УФ- та ІЧ-спектроскопії, ТШХ, ГРХ, ВЕРХ.

Ідентифікація алкалоїдів у хлороформних екстрактах за УФ-спектрами можлива тільки після ретельної очистки за допомогою ТШХ-методу або поєднання додаткової екстракційної та ТШХ-очистки.

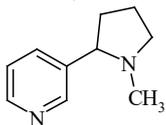
**Кількісне визначення** алкалоїдів проводять за допомогою фізико-хімічних методів:

- *спектральних*: УФ-спектрофотометрії, спектрофотометрії у видимій області (фотоелектроколориметрії), екстракційної фотометрії з кислотними барвниками;

- *хроматографічних*: тонкошарової хроматографії (планіметрія, денситометрія); газо-рідинної та вискоефективної рідинної хроматографії.

### 6.7.1. ПОХІДНІ ПІРИДИНУ І ПІПЕРИДИНУ

До алкалоїдів, похідних піридину і піперидину, належать нікотин, анабазин, коніїн, ареколін, пахікарпін.



**Нікотин** належить до алкалоїдів, які містяться в окремих видах тютюну. Крім нікотину в тютюні містяться й деякі інші алкалоїди. Нікотин є сильною основою, з деякими кислотами він утворює солі.

**Фізико-хімічні властивості.** Нікотин — безбарвна оліїста рідина ( $t_{\text{кип.}} \approx 247 \text{ }^\circ\text{C}$ ), яка на повітрі темніє. При температурах, нижчих за 60 і вищих за 210  $^\circ\text{C}$ , нікотин добре змішується з водою, а при температурі у рамках 60–210  $^\circ\text{C}$  має обмежену розчинність у воді. Цей алкалоїд добре розчиняється в багатьох органічних розчинниках. Нікотин екстрагується органічними розчинниками з лужних водних розчинів, у менших кількостях він екстрагується і з кислих розчинів.

**Застосування. Дія на організм.** Нікотин впливає на центральну і периферичну нервову систему. Особливо характерний вплив нікотину на ганглії вегетативної нервової системи, тому його відносять до «гангліонарних отрут». У великих дозах нікотин викликає пригнічення, а потім і параліч нервової системи, зупинку дихання і серцевої діяльності. Нікотин не застосовують у медичній практиці, його використовують у сільському господарстві як інсектицид. При отруєннях нікотином спостерігають слинотечу, диспептичні розлади, звуження зіниць, порушення зору, слуху, міофібриляцію. Смертельна доза становить 0,01–0,08 г.

Нікотин швидко всмоктується через слизову оболонку рота, а також через легені. Він може проникати в кров немовлят з молоком матері, яка палить.

**Метаболізм.** В організмі людини нікотин метаболізується переважно в печінці шляхом окиснення і *N*-деметилування. У процесі метаболізму відбувається розрив піролідинового циклу і *N*-метилування піридинового кільця. При окисненні нікотину утворюється котинін. Названі метаболіти нікотину виділяються з організму з сечею. Лише незначна кількість нікотину в незмінному вигляді також виділяється з сечею.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** При отруєнні нікотином (екстрактом тютюну) проводять промивання шлунка розчином калій перманганату (1:1000) з наступним введенням сольового проносного, дають активоване вугілля, проводять форсований діурез, при тяжких отруєннях — гемосорбцію. Вводять 50 мл 2 % розчину новокаїну та 500 мл 5 % розчину глюкози внутрішньовенно крапельно. При судомах з ускладненням дихання використовують 5–10 мг діазепаму внутрішньовенно, проводять штучну вентиляцію легенів. При порушеннях серцевого ритму призначають 1–2 мл 0,1 % розчину обзидану внутрішньовенно. При брадикардії вводять 1 мл 0,1 % розчину атропіну сульфату підшкірно.

### **Виявлення нікотину**

*Реакція з реактивом Драгендорфа* — при наявності нікотину в пробі спостерігають утворення кристалів, які за формою нагадують птахів, що летять, або літери К чи Х.

- *Реакція з сіллю Рейнеке* — при наявності нікотину в пробі утворюються зростки призматичних кристалів.

- *Реакція з розчином йоду в діетиловому етері* — при наявності нікотину розчин мутніє, а потім випадає смолистий осад, який містить голкоподібні рубіново-червоні кристали з темно-синім відтінком. Анабазин не дає цієї реакції.

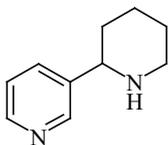
- *Реакція з формальдегідом та конц.  $HNO_3$*  — при наявності нікотину розчин забарвлюється в червоний або рожевий колір. Анабазин не дає цієї реакції.

- *Реакція з *n*-диметиламінобензальдегідом* — при наявності нікотину в досліджуваному розчині в місці з'єднання крапель спостерігається утворення рожевого забарвлення, яке переходить у фіолетове.

*Виявлення нікотину за УФ-спектрами* — нікотин у 0,05 М розчині кислоти сульфатної має максимум поглинання при 260 нм.

*Фармакологічне випробування на нікотин*. Очищений «лужний» екстракт наносять на спинку жаби. При наявності нікотину у досліджуваному об'єкті жаба гине, прийнявши характерне положення. Фармакологічне випробування має виконуватися спеціалістом-фармакологом.

*Кількісне визначення нікотину проводять екстракційно-фотометричним методом*, який базується на реакції утворення іонного асоціату з кислотним сульфофталеїновим барвником — бромфеноловим синім.



**Анабазин** є алкалоїдом, який міститься в їжачнику безлистому. Незначна кількість цього алкалоїду є і в тютюні. Основа анабазину — це безбарвна оліїста рідина, яка добре розчиняється у воді та більшості органічних розчинників.

Анабазин екстрагується органічними розчинниками як з кислих, так і з лужних розчинів. З лужних розчинів анабазин переганяється з водяною парою.

**Застосування. Дія на організм.** Анабазину гідрохлорид застосовують як засіб для полегшення відвикання від куріння. Сума сульфатів алкалоїдів, виділених з їжачника безлистого, в суміші з господарським милом використовується в сільському господарстві для боротьби зі шкідниками рослин.

Анабазин проявляє нейролептичну дію, яка пов'язана з порушенням та наступним паралічем закінчень передгангліонарних волокон вегетативної нервової системи, при цьому спостерігають почастішання дихання, підвищення кров'яного тиску, випадіння волосся. До організму анабазин проникає через органи дихання, а також крізь непошкоджену шкіру і викликає тяжкі отруєння.

### **Виявлення анабазину**

• *Реакція з реактивом Драгендорфа* — наявність у полі зору мікроскопа оранжево-червоних голчастих кристалів свідчить про наявність анабазину в досліджуваному розчині.

Крім анабазину з реактивом Драгендорфа дають кристалічні осаді нікотин, коніїн та деякі інші нітрогеновмісні речовини, проте кристали анабазину відрізняються за формою від кристалів, утворених іншими речовинами.

• *Реакція з сіллю Рейнеке* — при наявності анабазину в розчині через кілька хвилин утворюються зростки голкоподібних кристалів.

Нікотин також дає кристали з сіллю Рейнеке, але за формою ці кристали відрізняються від кристалів анабазину.

• *Реакція з кислотою пікриною* — якщо в досліджуваному розчині міститься анабазин, то при додаванні кислоти пікринової випадає жовтий кристалічний осад. Нікотин не дає цієї реакції.

• *Реакція з гідроген пероксидом та концентрованою кислотою сульфатною* — при наявності анабазину в пробі розчин забарвлюється у червоний або шоколадно-коричневий колір. Цю реакцію дає також і нікотин.

• *Реакція з ваніліном та концентрованою кислотою хлоридною* — при наявності анабазину з'являється червоне або вишнево-червоне забарвлення. Нікотин також дає цю реакцію.

### **Кількісні визначення анабазину**

• *фотоелектроколориметричний* метод проводять за реакцією утворення поліметинового барвника;

• *екстракційно-фотометричне* визначення анабазину проводять за допомогою реакції утворення іонного асоціату з кислотним сульфоталейновим барвником — бромфеноловим синім.



**Пахікарпін** — алкалоїд, що міститься в софорі товстоплідній. У менших кількостях він знаходиться в листі тернопсису ланцетовидного.

У цих рослинах крім пахікарпіну міститься спартеїн, який є стереоізомером пахікарпіну. Спартеїн є лівообертаючим, а пахікарпін — правообертаючим ізомерами. Основи пахікарпіну та спартеїну — це густі оліїсті рідини, які швидко темнішають на повітрі. В медицині застосовують пахікарпіну гідройодид. Це білий кристалічний порошок, розчинний у воді, етиловому спирті і хлороформі, слабо розчинний у діетиловому етері і ацетоні. Пахікарпін екстрагується органічними розчинниками з лужних водних розчинів, проте деяка кількість цього алкалоїду екстрагується також і з кислих розчинів.

**Фізико-хімічні властивості.** Пахікарпін — це оліїста рідина, яка швидко темнішає та осмолюється на повітрі,  $t_{\text{кип.}}$  — 325 °С. Основа пахікарпіну розчиняється у воді, а також багатьох органічних розчинниках. Переганяється з водяною парою. Пахікарпін екстрагується органічними розчинниками в значних кількостях з лужного водного середовища, незначна частина — також і з кислих водних розчинів.

**Застосування. Дія на організм.** Пахікарпін у вигляді гідройодиду застосовується в медицині як гангліоблокатор при спазмах периферичних судин, облітеруючому ендартеріїті. Він підвищує тонус і посилює скорочення м'язів матки, тому застосовується для посилення пологової діяльності. Прийом великих доз пахікарпіну може спричинити отруєння, ознаки якого виявляються через 1–3 год: спостерігають слухові та зорові галюцинації, судомні реакції, порушення пам'яті, поліневрити; проявляється також кардіотоксична дія, що супроводжується тахікардією, аритмією, зупинкою серця. Смертельна доза — 1,0–1,5 г.

Пахікарпін не накопичується в організмі. Через 6 год після прийому його можна виявити в сечі в незмінному вигляді. За добу він майже повністю видаляється з організму. Даних про метаболізм пахікарпіну в літературі немає.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** При отруєнні пахікарпіном використовують апаратне дихання за допомогою інтубації трахеї. Штучну вентиляцію легенів проводять до повного відновлення самостійного дихання. Для виведення отрути з організму повторно промивають шлунок через зонд водою з активованим вугіллям або розчином калій перманганату. Тахіаритмію та порушення провідності ліквідують специфічною терапією прозерином (до 30 мг на добу), вітаміном В<sub>1</sub> і АТФ.

#### **Виявлення пахікарпіну**

• *Реакція з реактивом Бушарда* — при наявності пахікарпіну в розчині з'являються зростки із золотисто-жовтих або

золотисто-зелених кристалів, які за формою нагадують листки дуба.

- *Реакція з роданідом кобальту* — при наявності пахікарпіну утворюються зростки з блакитних призматичних кристалів. З часом ці кристали збільшуються і набувають вигляду розгалужених дендритів.

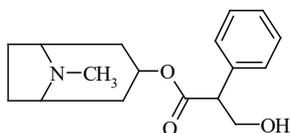
- *Реакція з кислотою пікриною* — пахікарпін з 0,5 % розчином кислоти пікринової утворює кристалічний осад (зростки з жовто-зелених призматичних кристалів).

- *Окиснення пахікарпіну бромом* — хлороформний екстракт, який містить основу пахікарпіну, наносять на шматок фільтрувального паперу і висушують при кімнатній температурі. Потім фільтрувальний папір тримають над отвором склянки з бромом або з бромною водою до появи на папері інтенсивного жовтого забарвлення. Через 20–30 с після появи жовтого забарвлення реактивний папір тримають над отвором склянки з 25 % розчином амоній гідроксиду до зникнення забарвлення. Після цього фільтрувальний папір вносять до фарфорової чашки, яку нагрівають на киплячій водній бані. Поява рожевого або червонуватого забарвлення на папері свідчить про наявність пахікарпіну в досліджуваному екстракті.

**Кількісне визначення пахікарпіну:** екстракційно-фотометричне визначення проводять за допомогою реакції утворення іонного асоціату з кислотним сульффталейновим барвником — бромфеноловим синім.

### 6.7.2. ПОХІДНІ ТРОПАНУ

До алкалоїдів зазначеної групи, які мають найбільше токсикологічне значення, належать атропін, скополамін, кокаїн.



**Атропін** міститься в беладоні, скополії. У рослинах міститься в основному гіосціамін, який є лівообертаючим стереоізомером атропіну. При виділенні з рослин гіосціамін перетворюється на рацемат — оптично неактивний атропін.

За хімічною будовою атропін є естером тропіну і кислоти тропової.

**Фізико-хімічні властивості.** Основа атропіну, отримана при кристалізації з етанолу або хлороформу, являє собою безкольорові призматичні кристали. Основа атропіну розчиняється в хлороформі (1:1), діетиловому етері (1:60), етиловому спирті (1:3), гірше — у воді (1:400). Атропіну сульфат розчиняється у воді (1:1), етиловому спирті (1:4), практично не розчиняється

у діетиловому етері і хлороформі. Атропін екстрагується органічними розчинниками з лужних водних розчинів.

**Застосування. Дія на організм.** У медичній практиці застосовується атропіну сульфат. Його використовують при виразковій хворобі шлунка і дванадцятипалої кишки, холециститі, жовчнокам'яній хворобі, спазмах кишок і сечових шляхів, бронхіальній астмі. В офтальмології атропін використовується для розширення зіниць тощо.

Атропін швидко всмоктується через слизові оболонки, кишки. Прийнята доза атропіну майже повністю всмоктується в тонкому кишечнику протягом двох годин. Приблизно половина атропіну, який надійшов до організму, циркулює в крові, а решта зв'язується з білками плазми.

**Токсична дія та симптоми отруєнь.** Атропін блокує М-холінореактивні системи організму, при цьому відбувається парасимпатична денервація, підвищується внутрішньоочний тиск, тахікардія, розширюються зіниці, з'являється фотофобія, гіпотензія, сухість шкіри та ін. У великих дозах атропін викликає психічні та рухові порушення; смертельні дози — 0,01 г (для дітей) та 0,05–0,1 г (для дорослих).

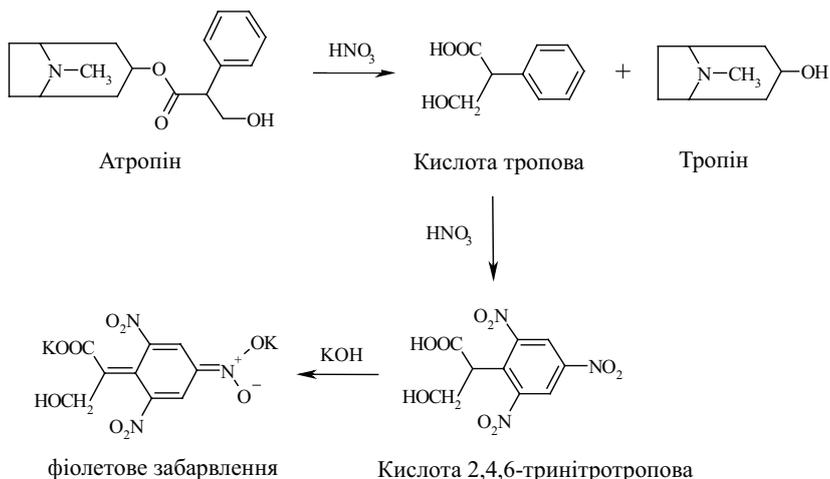
**Метаболізм.** В організмі атропін розкладається на тропін і тропову кислоту. Проте це не основний шлях метаболізму атропіну. Близько 50 % введеного в організм атропіну виділяється з сечею в незмінному стані.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** При отруєнні похідними тропану проводять промивання шлунка через зонд теплою водою, яка містить активоване вугілля або розчин калій перманганату. Якщо шлунок промити неможливо, під шкіру вводять апоморфіну гідрохлорид. Для усунення холінергічної блокади вводять прозерин, при судомах використовують барбітурати короткої дії. При пригніченні дихання призначають кордіамін, кофеїн-бензоат натрію. При збудженні вводять розчини аміназину або тізерцину, димедрол, діазепам. При гіпертермії використовують жарознижувальні засоби (ацетамінофен, дантролен), пузири з льодом, обгортання вологими простирадлами, вологі та випарювальні вентилятори. При аритмії вводять діазепам, магній сульфат, аміодарон, при гіпертензії та синусовій тахікардії використовують бензодіазепіни (внутрішньовенно), з обережністю —  $\beta$ -блокатори.

#### **Виявлення атропіну**

• **Реакція Віталі–Морена** — при нагріванні атропіну з концентрованою кислотою нітратною він розкладається на спирт

тропін і тропову кислоту. При дії кислоти нітратної на тропову кислоту утворюється кислота тринітротропова, яка має жовте забарвлення. Кислота тринітротропова з лугом дає фіолетове забарвлення. Крім атропіну цю реакцію дають гіосциамін, скополамін, вератрин, стрихнін та деякі інші сполуки. Слід зазначити, що забарвлення, яке виникає під час цієї реакції, для кожного препарату має різні відтінки.



- *Реакція з *n*-диметиламінобензальдегідом у концентрованої кислоті сульфатній* — при наявності атропіну виникає червоне забарвлення, яке переходить у вишнево-червоне, а потім у фіолетове.

Таке саме забарвлення з *n*-диметиламінобензальдегідом дають гіосциамін і скополамін. З цим реактивом дають забарвлення також морфін і кодеїн, але воно не переходить у фіолетове. Кокаїн не дає забарвлення з *n*-диметиламінобензальдегідом у кислоті сульфатній.

- *Реакція з сіллю Рейнеке* — при наявності атропіну в розчині утворюється аморфний осад бузкового кольору, який швидко перетворюється на кристалічний (зростки ромбоподібних кристалів).

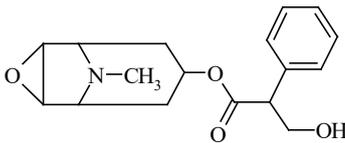
- *Реакція з кислотою пікриною* — атропін з 0,5 % розчином кислоти пікринової утворює світло-жовтий кристалічний осад у вигляді пластинок або зростків з них.

- *Виявлення атропіну за УФ- та ІЧ-спектрами* — атропін у 0,05 М розчині кислоти сульфатної має максимуми поглинання при 252 нм, 258 і 264 нм. В ІЧ-ділянці спектра основа

атропіну (диск із калій бромідом) має основні піки при 1720, 1153 і 1035 см<sup>-1</sup>.

• *Фармакологічне випробування на атропін.* Залишок після видалення органічного розчинника з лужної витяжки наносять на кон'юнктиву ока кішки або білої миші. Розширення зіниці тварини (друге око є контролем) свідчить про наявність атропіну у досліджуваному розчині (чутливість випробування 0,02 мг у пробі). Фармакологічне випробування має виконуватися спеціалістом-фармакологом.

**Кількісне визначення атропіну** — використовують *фотоелектроколориметричний* метод з реакцією з *n*-диметиламінобензальдегідом у концентрованій кислоті сульфатній.



**Скополамін** (атросцин, гіосцин) належить до алкалоїдів, які містяться в скополії, окремих видах дурману та деяких інших рослинах. Скополамін є складним естером скопіну і кислоти тропової.

У медицині застосовують скополаміну гідробромід.

Скополаміну основа є сиропоподібною рідиною, яка добре розчиняється в багатьох органічних розчинниках. Дещо гірше основа скополаміну розчиняється в петролейному та діетиловому етерах і бензені. Гідробромід скополаміну розчиняється у воді (1:3), етиловому спирті (1:30), практично не розчиняється в діетиловому етері і хлороформі. Скополамін екстрагується з лужних водних розчинів.

**Застосування. Дія на організм.** Скополамін, подібно до атропіну, спричинює розширення зіниці ока, параліч акомодації, розслаблення гладеньких м'язів, зменшення секреції травних і потових залоз. Скополамін входить до складу таблеток «Аерон», які застосовуються при «морській» та «повітряній» хворобах.

**Токсична дія та симптоми отруєнь.** Скополамін за дією на організм подібний до атропіну, але у нього більшою мірою виражена дія на центральну нервову систему, а парасимпатичний ефект є менш стійким і виявляється лише при вживанні великих доз препарату. Смертельною дозою вважається 0,1 г скополаміну.

**Метаболізм.** Скополамін, що надійшов до організму, зв'язується з білками плазми крові. Лише невелика частина скополаміну гідролізується з утворенням скопіну і кислоти тропової.

Основна кількість скополаміну розкладається в печінці. Продукти розпаду скополаміну виводяться з організму з сечею.

### **Виявлення скополаміну**

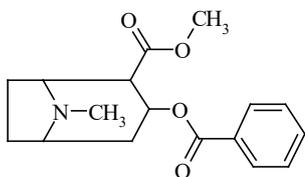
• *Реакція Віталі–Морена* — скополамін, як і атропін, утворює фіолетове забарвлення.

• *Реакція з *n*-диметиламінобензальдегідом* — скополамін і атропін дають однакові забарвлення (червоне, яке переходить у фіолетове).

• *Реакція з реактивом Фреде* — скополамін дає жовтувато-коричневе забарвлення. Цієї реакції не дає атропін.

• *Реакція з амоній молібдатом і кислотою хлоридною* — при наявності скополаміну виникає слабе жовтувате забарвлення, при нагріванні забарвлення переходить у темно-синє. Цієї реакції не дає атропін.

• *Виявлення скополаміну за УФ- та ІЧ-спектрами* — основа скополаміну в 0,05 М розчині кислоти сульфатної має максимуми поглинання при 251, 257 і 263 нм. В ІЧ-ділянці спектра скополаміну основа (диск із калій бромідом) має основні піки при 1725, 1165, 1060 і 1041  $\text{см}^{-1}$ .



**Кокаїн** — це алкалоїд, який міститься в листі коки. Крім кокаїну (близько 1 %) листя цієї рослини містить й інші алкалоїди (тропакокаїн, циннамількокаїн, гігрин, кускгігрин та ін.) та азотвмісні основи. З усіх алкалоїдів, що містяться в листі коки, лише кокаїн застосовується в медицині у вигляді гідрохлориду. У хімічному відношенні кокаїн є метиловим естером бензоїллегоніну.

**Фізико-хімічні властивості.** Кокаїну основа — прозора кристалічна речовина без кольору та запаху, при її нагріванні чути характерне потріскування або хлопання. Вона має вуличну назву «крек» (від англ. crack — хлопання).

Основа кокаїну розчиняється в хлороформі (1:0,5), діетиловому етері (1:4), етиловому спирті (1:7), важко розчиняється у воді (1:1300). Гідрохлорид кокаїну розчиняється у воді (1:0,5), етиловому спирті (1:4,5), хлороформі (1:18), майже не розчиняється в діетиловому етері. Кокаїн екстрагується органічними розчинниками з лужних водних розчинів, у менших кількостях — зі слабкокислих розчинів.

**Застосування.** Кокаїну гідрохлорид використовують як місцевий анестетик в офтальмології. З огляду на високу токсичність

кокаїну в наш час його в основному заміняють на синтетичні анестетики (дикаїн, новокаїн).

Кокаїн-основу підмішують до сигарет та палять або вдихають. Він викликає звикання та належить до наркотичних речовин. Згідно з Переліком наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів, кокаїн, а також екгонін, його естери та похідні, які можуть бути перетворені в екгонін і кокаїн, належить до наркотичних засобів, обіг яких обмежено (Таблиця II, Список №1).

**Токсична дія та симптоми отруєнь.** Кокаїн виявляє нейротоксичну дію, викликає звикання та хворобливу пристрасть (кокаїнізм). Отруєння ним характеризуються галюцинаціями, маренням, почуттям страху чи притуплення, буйною поведінкою, втратою відчуття смаку, слуху, зору, розширенням зіниць, гіпертермією (до 41,9 °С), гіпертензією з можливою тахікардією, серцевою аритмією з можливою раптовою смертю. Смертельна доза кокаїну становить 0,1–1,2 г (при підшкірних ін'єкціях).

**Метаболізм.** Основна кількість кокаїну метаболізує в печінці. Під впливом ферментів (гідролаз) кокаїн метаболізує з утворенням метилового спирту і бензоїлєкгоніну, який, в свою чергу, розщеплюється на екгонін і кислоту бензойну. Екгонін швидко метаболізує в організмі і тому його важко виявити у сечі.

#### **Виявлення кокаїну**

• *Реакція з 1 % розчином калій перманганату* — при наявності кокаїну в пробі утворюються червоно-фіолетові кристали, які мають форму прямокутних пластинок та зростків з них. З розчином калій перманганату кристалічні осадки утворюють скополамін, аконітин, однак форма утворених при цьому кристалів відрізняється від форми кристалів, які утворює з цим реактивом кокаїн.

• *Реакція з кислотою платинохлористоводневою* — утворення світло-жовтих кристалів, які мають форму дендритів, свідчить про наявність кокаїну.

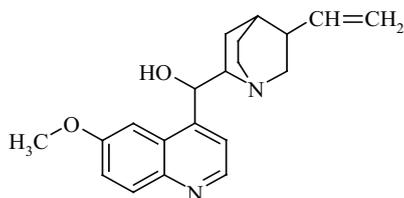
• *Реакція утворення бензойно-етилового естеру.* До сухого залишку досліджуваної речовини додають концентровану кислоту сульфатну і етиловий спирт. Суміш нагрівають на киплячому водяному нагрівнику. Поява характерного запаху бензойно-етилового естеру свідчить про наявність кокаїну в пробі. Цей запах добре відчувається тоді, коли до одержаної рідини додають 5–10-разовий об'єм холодної води. Ця реакція малочутлива, її можна використовувати при дослідженні порошоків та інших об'єктів на наявність кокаїну.

• **Виявлення кокаїну за УФ-, ІЧ-спектрами.** Розчин кокаїну в етиловому спирті має максимуми поглинання при 230, 274 і 281 нм. Розчин кокаїну в 0,05 М розчині кислоти сульфатної має максимуми поглинання при 233 і 275 нм, а також вигин при 281 нм. В ІЧ-ділянці спектра основа кокаїну (диск із калій бромідом) має основні піки при 1728, 1700, 1275 і 1106 см<sup>-1</sup>.

**Кількісне визначення кокаїну** та продуктів його біотрансформації (бензоілеконіну, екгоніну) рекомендовано проводити в плазмі та тканинах із застосуванням ГХ з різними типами детектування (електронно-захватний, нітроген-фосфорний, МС-детектори) та ВЕРХ (УФ-, ДМД, МС-детектори).

### 6.7.3. ПОХІДНІ ХІНОЛІНУ

Серед алкалоїдів зазначеної групи найбільше токсикологічне значення має *хінін*. Він міститься в корі хінного дерева, в якій крім хініну знаходяться і деякі інші алкалоїди: хінідин, цинхонін, цинхонідин та ін. До хімічної структури хініну входять два гетероцикли: хіноліновий та хінуклідиновий, які сполучені між собою групою атомів — СН—ОН:



Хінін є ізомером хінідину.

**Фізико-хімічні властивості.** Основа хініну — білий мікрокристалічний порошок з дуже гірким смаком. Хініну основа погано розчиняється в воді (1:1500), легко розчиняється в етанолі, хлороформі, діетиловому етері, важко розчиняється в бензені.

Хініну гідрохлорид легко розчиняється в етанолі (1:1), хлороформі (1:2), гірше у воді (1:23), важко розчиняється в діетиловому етері.

Хініну сульфат помірно розчиняється в етанолі (1:95), важко розчиняється в воді, діетиловому етері й хлороформі.

Максимум екстракції хініну хлороформом з водних розчинів спостерігають при рН 9–10.

**Застосування.** Хінін (використовується у вигляді солей — сульфату, гідрохлориду і дигідрохлориду) діє на збудника малярії, застосовується при аритміях, в акушерській практиці для посилення пологової діяльності.

**Метаболізм.** Хінін окиснюється за хіноліновим циклом до оксихініну і діоксихініну. При окисненні вінільної групи в хіноклідиновому циклі утворюється хінетин, а при окисненні самого хіноклідинового ядра утворюється кислота гемохінна. Метаболіти і незначна частина незв'язаного з тканинами організму хініну виділяються з сечею.

**Токсична дія та симптоми отруєнь.** Хінін викликає дистрофію зорового нерва, нечіткість бачення, сліпоту, розлади ритму серця, параліч дихання і серця. Смертельна доза — близько 10 г.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Для виведення хініну з організму призначають 2 столові ложки активованого вугілля з наступним промиванням шлунка через зонд розчином калій перманганату, призначають сольове проносне (натрій або магній сульфати). При проявах гострої серцево-судинної недостатності вводять внутрішньовенно плазмозаміщуючі розчини.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

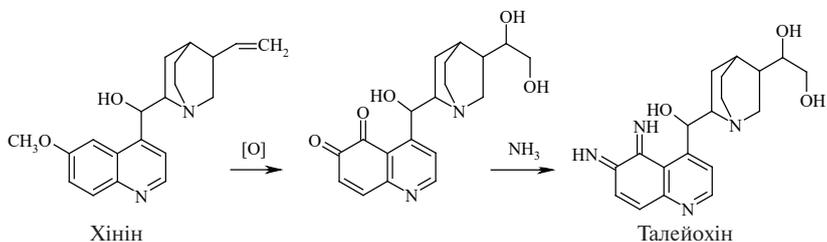
Судово-токсикологічне дослідження біологічного об'єкта на наявність хініну проводиться при спеціальному завданні.

**Флюоресценція солей хініну в УФ-променях.** Характерною властивістю солей хініну, особливо сульфату, є його здатність до флюоресценції в УФ-променях. Чутливість випробування близько 0,01 мкг/мл розчину. Це дослідження використовують як попереднє при дослідженні екстрактів з біологічного матеріалу та біологічних рідин (сеча, сироватка) на хінін, а також для проявлення плям цього алкалоїду на хроматографічній пластинці (пластину обробляють 10 % розчином кислоти сульфатної).

Колір флюоресценції розчину хініну сульфату залежить від рН середовища: блакитний — у кислих розчинах, фіолетовий — при рН 9. Продукти окиснення хініну мають жовто-зелену флюоресценцію. Наявність хлорид-іонів знижує інтенсивність флюоресценції.

Якщо до розчину хініну, підкисленого кислотою сульфатною додати кілька крапель бромної води, розбавленої десятикратним об'ємом води (до повного гасіння флюоресценції), а потім кілька крапель 25 % розчину амоній гідроксиду до лужної реакції, з'являється жовто-зелена флюоресценція.

**Талейохінна проба.** Ця реакція базується на додаванні до водного розчину хініну бромної води, а потім розчину амоній гідроксиду. Талейохін, який утворюється, має зелений колір і екстрагується хлороформом:



Реакція не завжди відбувається легко, оскільки її результат залежить від концентрації досліджуваної речовини в пробі, кількості реактивів, що додають, наявності домішок з біологічного матеріалу. Цій реакції заважають надлишок бромної води, а також такі речовини, як антипирин, амідопірин, кофеїн та ін.

*Реакція утворення еритрохініну.* Для виконання реакції до сухого залишку, отриманого після видалення органічного розчинника, додають воду, слабо підкислену кислотою сульфатною або ацетатною, краплю бромної води і краплю розчину калій(III) гексаціаноферату. Після перемішування до одержаного розчину додають амоній гідроксид. За наявності хініну з'являється рожеве або червоно-фіолетове забарвлення, яке при збовтуванні з хлороформом переходить до органічного шару. Чутливість реакції складає 10 мкг/мл розчину.

*Виявлення хініну за УФ- і ІЧ-спектрами.* Основа хініну в етиловому спирті має максимуми поглинання при 236, 278, 332 нм, у 0,05 М розчині кислоти сульфатної при 250, 316 і 346 нм.

В ІЧ-ділянці спектра основа хініну (диск із калій бромідом) має основні піки при 1235, 1510, 1030 і 1619  $\text{см}^{-1}$ .

**Кількісне визначення** хініну в екстрактах з біологічних об'єктів проводять *УФ-спектрофотометричним, хроматографічними, а також флуориметричним* (за ступенем флуоресценції його сульфатнокислої солі) методами.

#### 6.7.4. ПОХІДНІ ІЗОХІНОЛІНУ

Серед зазначеної групи алкалоїдів найбільше токсикологічне значення мають алкалоїди опію: морфін, кодеїн, а також їх напівсинтетичні похідні — діонін (етилморфіну гідрохлорид), апоморфін (3,4-діоксипорфін), героїн (діацетилморфін гідрохлорид) та ін.

Природним джерелом *опійних алкалоїдів* є *опій* — висушений сік, який виділяють з недостиглих головок маку снодійного. В опії міститься понад 20 алкалоїдів (*морфін* (3–20 %), *кодеїн* (0,2–2 %), *папаверин* (0,1–1,5 %), *наркотин* (0,75–9 %), *нарцеїн*, *тебайн* та ін.), а також інші речовини, основними з яких є білки,

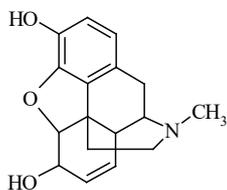
вуглеводи, кислоти та деякі інші речовини кислотного характеру (кислота меконова, меконін).

*Опій* у вигляді різноманітних лікарських форм (настойка, екстракт, таблетки) тривалий час широко застосовувався в медицині як болезаспокійливий засіб, але через виражену наркотичну дію та високу токсичність був знятий з виробництва. Доказом наявності опію в досліджуваному об'єкті є виявлення в ньому морфіну, кодеїну, наркотину, кислоти меконової і меконіну.

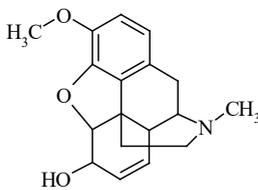
*Алкалоїди опію*, а також їх похідні, які отримують при подальшій хімічній обробці морфіну (ацетилюванні — *героїн*, алкілюванні — *діонін* та ін.) і які володіють наркотичними властивостями, належать до *опіатів*, які, в свою чергу, за характером фармакологічної дії є *опіоїдами*.

*Опіоїди* — засоби, що вибірково взаємодіють з опіоїдними рецепторами і за своїми клінічними проявами є наркотичними анальгетиками. До них належать як природні алкалоїди опію та їх похідні, так і синтетичні речовини інших груп (фентаніл та його похідні, промедол, трамадол, метадон, бупренорфін, налоксон, налтрексон та ін.), деякі з них будуть розглянуті у розділі 6.8.

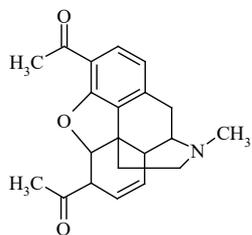
В основі хімічної будови *опійних алкалоїдів* — морфіну та кодеїну, а також їх синтетичних похідних — лежить фенантренизохіноліновий цикл.



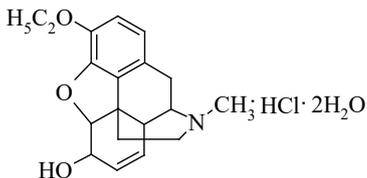
Морфін



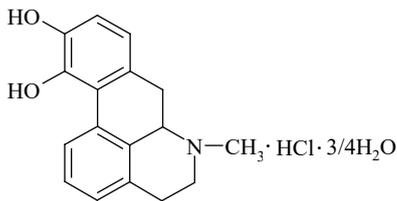
Кодеїн



Героїн

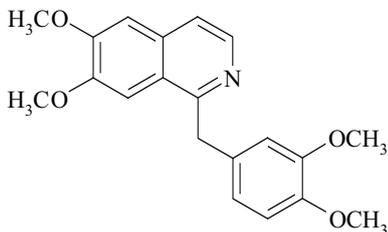


Діонін

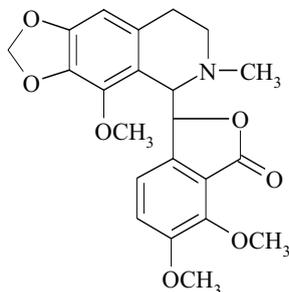


Апоморфін

В основі хімічної будови алкалоїдів папаверину та наркотину лежить бензилізохіноліновий цикл.



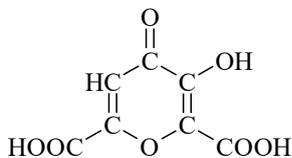
Папаверин



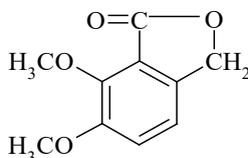
Наркотин

Алкалоїди в опії знаходяться у вигляді добре розчинених у воді солей меконової, сульфатної та молочної кислот. Наркотин та папаверин, як дуже слабкі основи, частково зустрічаються у вільному стані.

Природний наркотин (гноскапін, носкапін) є лівообертаючим. При кип'ятінні оцтовокислих розчинів наркотину утворюється його рацемат (гноскопін). При дії відновників на наркотин утворюється меконін. Як уже зазначалося, при вирішенні питань щодо отруєнь опієм з'являється необхідність в аналізі на кислоту меконову та меконін.

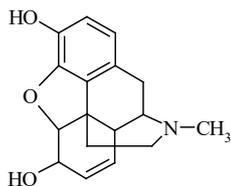


Кислота меконова



Меконін

Через наркотичні властивості опіати належать до контрольованих речовин. Згідно з Переліком наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів, героїн, макова соломка, концентрат з макової соломки, опій відносять до Таблиці I (Список №1 — особливо небезпечні наркотичні засоби, обіг яких заборонено). Етилморфін, кодеїн, морфін, омнопон, гідроморфон, оксиморфон, гідрокодон, оксикодон відносять до Таблиці II (Список №1 — наркотичні засоби, обіг яких обмежено).



**Морфін** є одним із головних алкалоїдів опію, в якому міститься 3–20 % цього алкалоїду. Морфін-основа є кристалічною речовиною, яка мало розчиняється у воді (у холодній 1:5000, у гарячій 1:500), діетиловому етері,

бензені, хлороформі, краще розчиняється в етанолі (у холодному 1:250, киплячому 1:13), добре розчиняється в розчинах лугів.

Морфіну гідрохлорид розчиняється в етанолі (1:100), воді (1:23), практично не розчиняється в діетиловому етері і хлороформі.

У молекулі морфіну містяться атом нітрогену, який має основні властивості, гідроксильна група фенольного характеру та гідроксильна група спиртового характеру. Максимум екстракції морфіну з водних розчинів органічними розчинниками відповідає рН 8,6–10,2.

**Застосування. Дія на організм.** У медичній практиці застосовується переважно морфіну гідрохлорид. Морфін має сильну болезаспокійливу дію. Він знижує збудливість больових центрів, виявляє протишокову дію при травмах, застосовується як сильний знеболювальний засіб при онкозахворюваннях.

**Токсична дія та симптоми отруєнь.** Морфін викликає стан ейфорії. Повторне вживання морфіну спричинює звикання до нього (наркоманію). Після парентерального введення морфіну в організм рівень його в крові досягає максимального через годину.

Морфін пригнічує дихальний центр, призводить до коми, що супроводжується міозом із послабленням реакції на світло, спостерігають звуження зіниць (зіниці у вигляді точки), гіпертонус скелетних м'язів, пригнічення дихання, гіперемію шкіри, параліч дихання.

На початковій стадії отруєння відмічається також стимуляція блювотного центру. Стимулююча дія морфіну та його аналогів на спинний мозок, гіпоксія нервової тканини можуть обумовити появу клоніко-тонічних судом, які особливо характерні для дітей. Порушення функцій серцево-судинної системи виникає через гіпоксію, спричинену недостатністю дихання, що разом із тканинним ацидозом та підвищеною судинною проникністю призводить до набряку легенів. Морфін викликає також спазм гладких м'язів, запор, затримку сечовиведення, а також спазм м'язів бронхів.

**Гостре отруєння** морфіном характеризується симптомами порушення функцій ЦНС; спостерігається збудження, яке змінюється наростаючою сонливістю, сопорозним станом, гіпертонусом м'язів, шумом у вухах, запамороченням, сухістю у роті, нудотою. Смертельна доза морфіну становить 0,1–0,4 г.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь опіатами.** Для запобігання подальшому всмоктуванню морфіну та видалення

його з організму застосовують повторні промивання шлунка незалежно від часу, який пройшов з моменту прийняття отрути, навіть при парентеральному його введенні. Промивати треба активованим вугіллям (20–30 г на 1 л води), розчином калій перманганату (1:1000), таніну (5:1000). Після промивання призначають сольове проносне (20–30 г натрій сульфату) разом з активованим вугіллям — внутрішньо, а також у вигляді клізми. Дітям при отруєнні морфіном дають сольове проносне із розрахунку 2 г на кожний рік віку. Блювотні засоби протипоказані. Для запобігання всмоктуванню морфіну, введеного під шкіру, накладають джгут на кінцівку вище місця ін'єкції. З метою швидкого введення токсичної речовини використовують форсований діурез з підлугуванням крові, для чого внутрішньовенно крапельно вводять 4 % розчин натрій гідрокарбонату (до 1,5–2 л на добу) з контролем рН крові.

Антидотна терапія гострої опіоїдної інтоксикації включає призначення налорфіну гідрохлориду по 3–5 мл 0,5 % розчину внутрішньовенно. При пригніченні дихання виконують штучну вентиляцію легенів. Для терапії опіоїдної залежності використовують налтрексон (25–50 мг 1–2 рази на добу протягом 12 днів).

**Метаболізм.** В організмі основна кількість морфіну зв'язується з кислотою глюкуроною і у вигляді глюкуроніду виділяється з сечею. За перші 8 год після введення морфіну в організм 50 % його виділяється з організму з сечею у вигляді глюкуроніду, а за 24 год з організму виводиться з сечею близько 90 % глюкуроніду морфіну. Однак сліди морфіну можна виявити у сечі навіть через 72–100 год. Час напіввиведення ( $T_{1/2}$ ) для морфіну становить 2–3 год. З жовчю виводиться до 10 % дози морфіну, яка надійшла до організму.

Незначна кількість морфіну в організмі зазнає *N*-деметилування (утворюється норморфін) і *O*-метилування (утворюється кодеїн).

При багатократному прийомі морфіну він накопичується у волоссі та нігтях. При гнитті органів трупів морфін поступово перетворюється на псевдоморфін, який ще називають оксидоморфіном, або дегідроморфіном. Тому через певний час у загниваючому біоматеріалі морфін не виявляється, а замість нього можна визначити псевдоморфін.

### **Виявлення морфіну**

• *Реакція з реактивами групового осадження алкалоїдів* — морфін дає осаді з реактивами групового осадження алкалоїдів (реактивами Драгендорфа, Зонненшейна, Майєра та ін.).

• *Кольорові реакції* — дає забарвлення з реактивами Манделіна, Маркі, Фреде і Ердмана.

• *Реакція Пеллагрі*. Спочатку цю реакцію було запропоновано для відкриття апоморфіну. Згодом було доведено, що морфін і кодеїн при нагріванні з концентрованими кислотами хлоридною і сульфатною перетворюються на апоморфін. Це дало можливість застосувати реакцію Пеллагрі для виявлення морфіну і кодеїну.

Одержаний розчин нейтралізують розчином натрій карбонату і додають спиртовий розчин йоду. При цьому розчин набуває зеленого забарвлення. Після додавання діетилового етеру і збовтування водний шар зберігає зелений колір, а етерний стає пурпурово-червоним.

Надлишок йоду заважає цій реакції, оскільки колір йоду маскує забарвлення кінцевого продукту реакції. Ця методика придатна для визначення морфіну, кодеїну, героїну та діоніну.

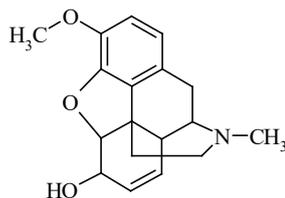
• *Реакція з ферум(III) хлоридом* — при наявності морфіну в пробі з'являється синє забарвлення.

• *Реакція з кислотою йодатною* — при збовтуванні розчину морфіну слабо підкисленою кислотою сульфатною з розчином калій йодату ( $KIO_3$ ), який не містить йодидів, виділяється вільний йод, який при збовтуванні з хлороформом переходить до хлороформного шару, забарвлюючи його у фіолетовий колір.

• *Реакція з калій гексаціанофератом(III) і ферум(III) хлоридом* — базується на окисненні морфіну калій(III) гексаціанофератом. При цьому гексаціаноферат(III) відновлюється до гексаціаноферату(II), який з ферум(III) хлоридом утворює берлінську лазур, що має синє забарвлення.

• *Виявлення морфіну за УФ- і ІЧ-спектрами*. Розчин морфіну в етиловому спирті має максимум поглинання при 287 нм; у 0,1 М розчині натрій гідроксиду морфін має максимуми поглинання при 250 і 296 нм; у 0,05 М розчині кислоти сульфатної — при 284 нм.

В ІЧ-ділянці спектра морфін-основа (диск із калій бромідом) має основні піки при 805, 945, 1243 і 1448  $cm^{-1}$ .



**Кодеїн** є одним з алкалоїдів опію. В опії, отриманому з маку снодійного, міститься 0,2–2,5 % кодеїну. В окремих сортах індійського опію міститься близько 6 % кодеїну. Кодеїн (монометильовий етер морфіну) у вигляді основи є кристалічною речовиною, яка розчиняється в холодній (1:550) і гарячій (1:17) воді, легко розчиняється

в етанолі, діетиловому етері, хлороформі та розведених кислотах. Практично не розчиняється в розчинах лугів. Кодеїну фосфат мало розчиняється в етанолі (1:450), діетиловому етері і хлороформі, розчиняється у воді (1:4).

Гідрохлорид кодеїну важко розчиняється в хлороформі (1:800), краще — в етиловому спирті (1:100) і воді (1:30). Сульфат кодеїну погано розчиняється в етиловому спирті (1:1300), діетиловому етері і хлороформі, краще — у воді (1:30).

Максимальна кількість кодеїну екстрагується хлороформом з водних розчинів при рН 8.

**Застосування. Дія на організм.** Кодеїн застосовують у медицині у вигляді основи і фосфату. За дією на організм кодеїн подібний до морфіну. Однак знеболювальна дія кодеїну виражена слабше, ніж морфіну. Кодеїн меншою мірою, ніж морфін, пригнічує дихання, він зменшує збудливість кашльового центру і тому призначається як засіб проти кашлю. При частому вживанні кодеїну з'являється звикання до нього. Смертельна доза кодеїну становить 0,8 г.

Кодеїн швидко всмоктується після парентерального введення. При оральному надходженні до організму максимальна концентрація в крові досягається через годину.

**Метаболізм.** В організмі кодеїн метаболізує за трьома напрямками. Частина кодеїну зв'язується з кислотою глюкуроною і виділяється з сечею у вигляді глюкуроніду. Деяка кількість кодеїну деметилюється (при *O*-деметилюванні кодеїну утворюється морфін, при *N*-деметилюванні — норкодеїн). Незначна кількість кодеїну виділяється з сечею в незмінному вигляді. Через 6 год після надходження кодеїну в кров з організму виділяється близько двох третин дози, а через 24 год він майже повністю зникає з організму. Час напіввиведення ( $T_{1/2}$ ) становить 3–4 год.

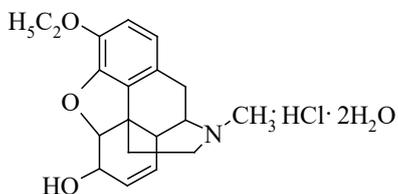
#### **Виявлення кодеїну**

• *Реакції з реактивами групового осадження алкалоїдів* — з цими реактивами (Драгендорфа, Майєра, Зонненшейна та ін.) кодеїн утворює осад.

• *Кольорові реакції* — кодеїн з реактивами Маркі, Манделіна, Фреде дає відповідні забарвлення (табл. 6.7).

• *Реакція Пеллаґрі* — при нагріванні кодеїну з концентрованою хлоридною, а потім з концентрованою кислотою сульфатною утворюється апоморфін, який дає забарвлення з розчином йоду.

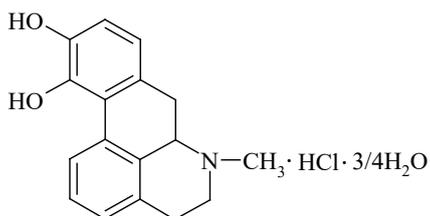
• *Виявлення кодеїну за УФ- і ІЧ-спектрами.* Основа кодеїну, розчинена в етиловому спирті, має максимум поглинання при 286 нм. В ІЧ-ділянці спектра кодеїн-основа (диск із калій бромідом) має основні піки при 1052, 1268 і 1500  $\text{cm}^{-1}$ .



**Діонін** (етилморфіну гідрохлорид) отримують синтетичним шляхом з морфіну. Діонін розчиняється у воді (1:12), етанолі (1:25), майже не розчиняється у діетиловому етері і хлороформі. Екстрагується органіч-

ними розчинниками з підлужених водних розчинів.

За дією на організм близький до кодеїну, застосовується при хронічних бронхітах, туберкульозі, а також як болезаспокійливий засіб.



**Апоморфін** (3,4-діоксіапорфін) отримують нагріванням морфіну з концентрованими кислотами сульфатною і хлоридною в автоклаві при 140–150 °С. У молекулі апоморфіну містяться два фенольні гідроксили.

Апоморфіну гідрохлорид застосовується в медицині. Це білий кристалічний порошок, який в результаті окиснення на повітрі може набувати від пурпурно-червоного до зеленувато-чорного кольору. Забарвлення хлороформної витяжки в зелений або брудно-зелений колір у процесі ізолювання алкалоїдів при хіміко-токсикологічних дослідженнях є звичайно підставою для дослідження на наявність апоморфіну.

Апоморфін-основа розчиняється в етанолі і хлороформі, важко розчиняється у воді і діетиловому етері. Апоморфіну гідрохлорид розчиняється у воді (1:50) і етанолі (1:50), важко розчиняється в діетиловому етері і хлороформі. Апоморфін екстрагується органічними розчинниками як з кислих, так і з лужних водних розчинів.

**Застосування. Дія на організм.** Апоморфін застосовують у медицині у вигляді гідрохлориду як блювотний засіб для швидкого вивільнення шлунка від отруйних речовин і недоброякісних продуктів. Апоморфін викликає блювання через кілька хвилин після введення його під шкіру. Його також застосовують, щоб викликати огиду до алкоголю при лікуванні хронічних алкоголіків.

Апоморфін виводиться з організму з сечею у вигляді глюкуроніду. Частина його виділяється з організму в незмінному стані.

### **Виявлення апоморфіну**

• *Реакція Пеллагрі* — поява зеленого забарвлення свідчить про наявність апоморфіну у досліджуваному розчині. Якщо до розчину, який має зелене забарвлення, додати діетиловий етер і суміш збовтати, то водний шар зберігає це забарвлення, а етерний стає пурпурово-червоним.

• *Реакція з концентрованою кислотою нітратною* — апоморфін дає червоно-фіолетове забарвлення, яке переходить у червоне, а потім — у червоно-буре.

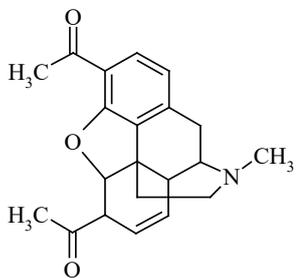
• *Реакція з сумішшю кислот нітратної і сульфатної* — апоморфін утворює червоне забарвлення, яке при стоянні розчину зеленіє.

• *Реакція з реактивом Фреде* — поява брудно-зеленого забарвлення, яке переходить у синє, свідчить про наявність апоморфіну в пробі.

• *Реакція з реактивом Маркі* — при наявності апоморфіну в пробі виникає фіолетове забарвлення, яке переходить у брудно-зелене.

• *Реакція з ферум(III) хлоридом* — поява синього забарвлення свідчить про наявність апоморфіну в досліджуваному розчині.

• *Виявлення апоморфіну за УФ- і ІЧ-спектрами* — апоморфін у 0,1 М розчині кислоти сульфатної має максимум поглинання при 273 нм і вигин при 305 нм. Основа апоморфіну (диск із калій бромідом) має основні піки при 1460, 1265 і 752 см<sup>-1</sup>.



**Героїн** (діацетилморфін гідрохлорид) — біла кристалічна речовина, розчиняється у воді (1:6), етиловому спирті (1:12), хлороформі (1:6), нерозчинна в діетиловому етері і хлороформі. Основа героїну розчиняється в хлороформі (1:5), етиловому спирті (1:31), діетиловому етері (1:100), важко розчиняється у воді (1:1700).

**Застосування. Дія на організм.** Героїн — синтетичний препарат, який добувають ацетилюванням морфіну. У свій час героїн застосовували в медицині як замітник морфіну, а також як протикашльовий препарат. Згодом було встановлено, що героїн більш токсичний, ніж морфін. Особи, які повторно вживають героїн, стають наркоманами, тому він знятий з виробництва і застосування його в медицині заборонене. Незважаючи на це, героїн і до цього часу надходить до нашої країни з деяких країн Сходу контрабандним шляхом і реалізується на «чорному ринку» як ефективний наркотик.

Враховуючи шкідливу дію героїну на організм людини, наявність випадків отруєння ним і наркотичну дію, він може бути об'єктом хіміко-токсикологічного аналізу. Якщо виявлення героїну в порошок, розчинах, гранулах не викликає якихось труднощів, то виявлення його в органах трупів і біологічних рідинах (крові, сечі) не завжди дає достовірні результати аналізу.

**Метаболізм.** Героїн є менш полярним, ніж морфін, тому він має більш високу ліпідну та мембранну розчинність. Він швидко всмоктується при надходженні до організму. Героїн є естером і в крові швидко гідролізує до 6-*O*-моноацетилморфіну, а потім до морфіну. Більша частина метаболітів виводиться з сечею у вигляді глюкуронідів (морфін-3-глюкуронід — 50–60 %).

Частина героїну, яка не метаболізувалася в органах трупів та біологічних рідинах, може гідролізуватись у процесі виділення його із зазначених об'єктів під впливом кислот, якими підкислюють воду або етиловий спирт, що використовуються для ізолювання токсичних речовин з об'єктів біологічного походження. Тому експерт може не відкрити героїн у витяжках з біологічного матеріалу або знайти лише його сліди.

Для відкриття героїну в досліджуваних об'єктах застосовують хімічні реакції, методи хроматографії та спектроскопії.

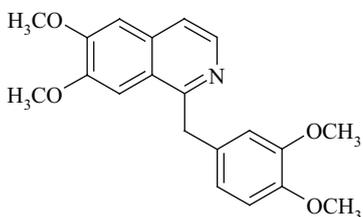
- *Реакції з реактивами Манделіна, Маркі і Фреде* — з ними героїн дає такі самі реакції, як і морфін. До складу цих реактивів входить концентрована кислота сульфатна, яка гідролізує героїн з утворенням морфіну та кислоти ацетатної. Морфін, що утворюється при цьому, дає реакції з реактивами Манделіна, Маркі і Фреде. Тому ці реакції не специфічні для відкриття героїну.

- *Реакція утворення етилацетату* — при додаванні етилового спирту і концентрованої кислоти сульфатної та нагріванні суміші відчувається запах етилацетату. Ця реакція малочутлива, але специфічна для відкриття героїну. Її не дають морфін та його похідні (кодеїн, діонін).

Щоб довести, що ацетильна група відщепилася від героїну, а не від будь-якої іншої сполуки, необхідно виконати реакції на морфін, який виділяється з героїну під час кислотного гідролізу. Для цього виконують реакції на морфін, описані вище.

- *Виявлення героїну за УФ- і ІЧ-спектрами.* Героїн, розчинений в етиловому спирті, має максимум поглинання при 281 нм. Розчин героїну в 0,1 М розчині кислоти хлоридної має максимум поглинання при 278 нм, у 0,1 М розчині натрій гідроксиду — при 298 нм.

В ІЧ-ділянці спектра (диск із калій бромідом) героїн має основні піки при 1765, 1740, 1450, 1370 та 1180  $\text{см}^{-1}$ .



**Папаверин** є одним із алкалоїдів опію. В опії міститься 0,1–1,5 % папаверину. Його також добувають шляхом синтезу. В медичній практиці використовують папаверину гідрохлорид.

Основа папаверину майже нерозчинна у воді і мало розчинна в етиловому спирті та діетиловому етері. Папаверину гідрохлорид розчиняється в хлороформі (1:10), воді (1:40), етиловому спирті (1:120) і майже не розчиняється в діетиловому етері. Папаверин є слабкою основою, він екстрагується як з кислих, так і з лужних водних розчинів.

**Застосування. Дія на організм.** Папаверин виявляє судинорозширювальну і спазмолітичну дію, у великих дозах проявляє седативний ефект.

**Метаболізм.** Головним напрямком метаболізму папаверину є *O*-деметилування. Фенольні сполуки, які утворюються при метаболізмі, виводяться з сечею у вигляді глюкуронідів.

#### **Виявлення папаверину**

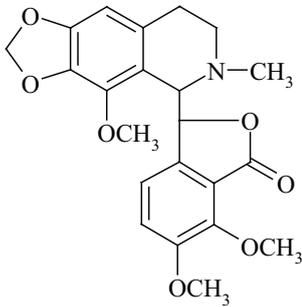
- *Реакції з реактивами групового осадження алкалоїдів* — папаверин з цими реактивами утворює осад.

- *Мікрокристалоскопічна реакція з 10 % розчином кадмій хлориду* — при наявності папаверину в пробі з'являється кристалічний осад у вигляді зростків з тонких пластинок у формі куба.

- *Кольорові реакції* — папаверин дає кольорові реакції з реактивами Ермана, Манделіна, Маркі і Фреде.

- *Метод флюоресценції* — до сухого залишку додають оцтовий ангідрид, вміст пробірки нагрівають до 80 °С і додають краплю концентрованої кислоти сульфатної. При наявності папаверину в пробі з'являється жовто-зелена флюоресценція.

- *Виявлення папаверину за УФ- і ІЧ-спектрами.* Основа папаверину в 0,1 М розчині кислоти хлоридної має максимуми поглинання при 250, 284 і 310 нм. У 0,05 М розчині кислоти сульфатної папаверин має максимуми поглинання при 250, 254 і 310 нм. В ІЧ-ділянці спектра папаверин-основа (диск із калій бромідом) має основні піки при 1068, 1273 і 1507  $\text{см}^{-1}$ .



**Наркотин** (гноскапін, носкапін) є одним із алкалоїдів опію, в якому міститься 0,75–9 % цієї речовини. Наркотин легко рацемізується. При кип'ятінні ацетатнокислих розчинів наркотину утворюється його рацемат (гноскапін). Природний наркотин є лівообертаючим.

**Фізико-хімічні властивості.**

Наркотин — слабка основа, його солі зі слабкими кислотами легко гідролізуються. Натрій ацетат осаджує основу наркотину з його солей, але не осаджує основи інших алкалоїдів опію, які застосовуються в медицині.

При дії відновників на наркотин утворюється *меконін*. На холоді наркотин не розчиняється в лугах, а при нагріванні його з лугами утворюються нестійкі солі (наркотати). Вже при дії гарячої води вони розкладаються. При нагріванні з барій гідроксидом відбувається його розкладання з утворенням кислоти опіанової і гідрокотарніну. Основа наркотину добре розчиняється в хлороформі, мало розчиняється в діетиловому етері. Гідрохлорид наркотину розчиняється в воді (1:4), етиловому спирті (1:8), добре розчиняється в хлороформі.

Наркотин екстрагується органічними розчинниками як з кислих, так і з лужних водних розчинів. Максимум екстракції наркотину органічними розчинниками досягається при рН 5–7.

**Застосування. Дія на організм.** У чистому вигляді наркотин у медицині не застосовується. В промисловості його використовують для добування котарніну, з якого виготовляють стиптицин.

На відміну від деяких інших алкалоїдів опію, наркотин не має наркотичних і анальгетичних властивостей, він не спричинює звикання. За дією наркотин подібний до папаверину, однак є більш токсичним. Наркотин входить до складу опію і омнопону, які є фармацевтичними препаратами, і таким чином має певне токсикологічне значення. Виявлення його в органах трупів або біологічних рідинах є одним із доказів отруєння опієм або омнопоном.

*Омнопон* (пантопон, папаверетум) — це суміш 5 алкалоїдів опію (морфіну 50 %, кодеїну 2,5–5 %, наркотину 16–22 %, папаверину 2,5–7 %, тебаїну 0,4 % у вигляді гідрохлоридів), яка не містить кислоти меконової і меконіну. Омнопон застосовують у медицині переважно з тією ж метою, що і морфін. Вважається,

що ця суміш алкалоїдів менше пригнічує дихання, ніж один морфін. При токсикологічному дослідженні біологічного об'єкта на наявність омнопону в екстракті виявляють морфін, кодеїн, наркотин, папаверин і тебаїн.

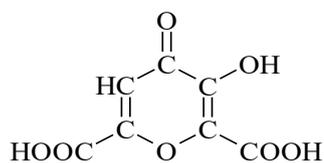
**Метаболізм.** Після введення наркотину в організм він швидко зникає з крові і переходить до тканин. Протягом перших шести годин після потрапляння наркотину в організм він виділяється з сечею в незмінному стані, а після зазначеного часу — у вигляді кон'югатів.

**Виявлення наркотину.** Дослідження на наявність наркотину проводять у тих випадках, якщо у витяжках з біологічного матеріалу виявлено морфін, у зв'язку з чим виникає питання про можливість отруєння опієм.

Оскільки наркотин і морфін дають з деякими реактивами подібні продукти реакцій, перед ідентифікацією наркотину його відділяють від морфіну. Спосіб розділення цих алкалоїдів базується на тому, що морфін, який містить фенольну групу, розчиняється в лугах і після цього не екстрагується органічними розчинниками з сильнолужних розчинів. Наркотин за цих умов екстрагується органічними розчинниками.

Для виявлення наркотину застосовують реакції з кольоровими реактивами: наркотин дає забарвлення з концентрованою кислотою сульфатною, реактивами Маркі, Фреде, Ердмана.

**Виявлення наркотину за УФ- і ІЧ-спектрами.** Розчин основи наркотину в етиловому спирті має максимуми поглинання при 291 і 310 нм. Водний розчин гідрохлориду наркотину має максимум поглинання при 313 нм і мінімум — при 268 нм. Основа наркотину (диск із калій бромідом) у ІЧ-ділянці спектра має основні піки при 1745, 1276 та 1038  $\text{см}^{-1}$ .



**Кислота меконова** міститься в опії у зв'язаному з алкалоїдами вигляді. Крім неї, алкалоїди опію в рослинах можуть бути зв'язані з іншими кислотами. При тривалому кип'ятінні розчинів кислоти меконової вона розкладається на карбон(IV) оксид і кислоту коленову, яка при подальшому нагріванні перетворюється на  $\beta$ -оксипірон, що має властивості фенолів.

Кислота меконова важко розчиняється в холодній воді, етиловому спирті і діетиловому етері, краще — в гарячій воді і киплячому етиловому спирті. Вона екстрагується деякими органічними розчинниками з кислого середовища.

Дослідження об'єктів біологічного походження на наявність кислоти меконової проводять тоді, коли в біологічному матеріалі виявлені морфін, кодеїн та інші алкалоїди опію. Наявність у біологічному матеріалі морфіну, кодеїну, наркотину, кислоти меконової, а в деяких випадках і меконіну свідчить про отруєння опієм.

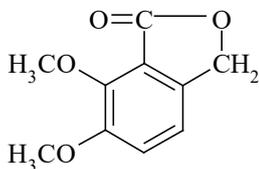
**Виділення кислоти меконової з біологічного матеріалу.** З біологічного матеріалу кислоту меконову ізолюють підкисленим спиртом. Для підкислення біологічного матеріалу краще застосовувати кислоту хлоридну, а не слабкі органічні кислоти.

Досліджуваний біологічний матеріал настоюють з етиловим спиртом, підкисленим кислотою хлоридною. Витяжку зливають з твердих частинок біологічного матеріалу і фільтрують, фільтрат на водяній бані випаровують досуха. Сухий залишок розчиняють у воді і фільтрують. Одержаний фільтрат нагрівають до кипіння і збовтують з надлишком магній оксиду. Розчин, який містить магній меконат, ще гарячим фільтрують і упарюють до невеликого об'єму, а потім підкислюють розбавленою кислотою хлоридною. В цьому розчині визначають наявність кислоти меконової.

#### **Виявлення кислоти меконової**

• *Реакція з ферум(III) хлоридом* — утворення яскраво-червоного забарвлення свідчить про наявність кислоти меконової в розчині. Це забарвлення не повинно зникати при нагріванні.

• *Виявлення кислоти меконової за УФ-спектрами* — кислота меконова у водному розчині має максимуми поглинання при 210, 284 та 303 нм.



**Меконін** міститься в опії, який одержують з маку снодійного. Це біла кристалічна речовина ( $t_{пл.} = 102\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), що добре розчиняється в лугах з утворенням солей кислоти меконінової. Ці солі нестійкі і відразу ж зазнають гідролізу.

Меконін утворюється при дії слабких відновників на наркотин.

**Фізико-хімічні властивості.** Меконін важко розчиняється в холодній воді (1:700), краще — у киплячій (1:22), добре — в етиловому спирті, діетиловому етері, бензені і хлороформі. Екстрагується органічними розчинниками з кислих розчинів.

Меконін не має токсикологічного значення, але виявлення його в трупному матеріалі свідчить про отруєння опієм.

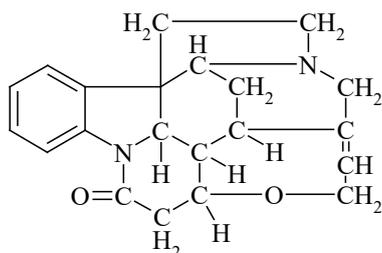
**Виділення меконіну з біологічного матеріалу.** Подрібнений біологічний матеріал настоюють з етиловим спиртом,

підкисленим кислотою сульфатною. Одержану витяжку зливають з твердих частинок об'єкта, фільтрують і упарюють до невеликого об'єму. Потім цю рідину збовтують з бенzenом. Бенzenову витяжку випарюють досуха. Сухий залишок досліджують на наявність меконіну.

**Виявлення меконіну.** При додаванні кількох крапель концентрованої кислоти сульфатної до вказаного сухого залишку виникає зелене забарвлення, яке протягом двох діб переходить у червоне. При слабкому нагріванні розчину, що має зелене забарвлення, виникає смарагдово-зелене забарвлення, яке переходить у фіолетове, а потім у червоне.

### 6.7.5. ПОХІДНІ ІНДОЛУ

До алкалоїдів зазначеної групи, що мають важливе токсикологічне значення, відносять стрихнін, бруцин та резерпін.



**Стрихнін** міститься в деяких видах рослин стрихнос (блювотний горіх, або чилібуха, боби Ігнатія та ін.). Відомі рослини роду стрихное, які не містять стрихніну, але містять бруцин та інші алкалоїди.

**Фізико-хімічні властивості.** Стрихнін-основа розчиняється в хлороформі (1:6) та етиловому спирті (1:250). Слабко розчиняється в діетиловому етері (1:5500) та у воді (1:7000). Сульфат стрихніну розчиняється у воді (1:50), етиловому спирті (1:135), слабко розчиняється у хлороформі. Екстрагується органічними розчинниками як з кислих, так і з лужних водних розчинів.

**Застосування. Дія на організм.** У медичній практиці в основному застосовують нітрат стрихніну та настоянку блювотного горіха (чилібухи). Стрихнін збуджує центральну нервову систему, підвищує рефлекторну збуджуваність. У терапевтичних дозах він стимулює органи відчуття, збуджує судинно-руховий та дихальний центри, тонізує скелетну мускулатуру, підсилює процеси обміну речовин. Застосовують як тонізуючий засіб.

**Токсична дія та симптоми отруєнь.** Стрихнін викликає порушення ЦНС із переважним підвищенням рефлекторного збудження («судомна отрута») та параліч центру дихання; спостерігають напруження в жувальних і потиличних м'язах, ускладнення дихання та ковтання, раптові напади тетанічних судом рефлекторного

характеру, гіркий смак у роті, почуття страху. Смерть настає внаслідок асфіксії. Смертельна доза становить 0,05 г.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** При отруєннях стрихніном проводять по можливості швидко промивання шлунка, надалі, коли симптоми отруєння набувають більш вираженого характеру (коли процедура промивання шлунка може викликати судоми), промивання шлунка проводять під наркозом за допомогою зонда. Проводять форсований діурез.

Для запобігання судомної реакції необхідне застосування засобів пригнічувальної дії: вводять барбаміл, гексенал внутрішньовенно. Важливе значення мають заходи боротьби з асфіксією (штучна вентиляція легенів, інгаляція кисню). У важких випадках проводять операцію заміщення крові з одночасним введенням ізотонічного розчину натрій хлориду або донорської крові.

**Метаболізм.** Стрихнін швидко всмоктується з травного каналу, легко проникає в кров крізь слизові оболонки та неушкоджену шкіру. Близько 80 % дози стрихніну метаболізує в печінці. Решта алкалоїду повільно виділяється з сечею у незмінному вигляді.

Метаболіти стрихніну вивчені недостатньо. Однак встановлено, що в організмі утворюються 4 метаболіти стрихніну. Усі метаболіти стрихніну не ідентифіковані. Стрихнін можна виявити в ексгумованих трупах через кілька років після смерті.

#### **Виявлення стрихніну**

• *Реакції з реактивами групового осадження алкалоїдів* — стрихнін дає осад з реактивами Драгендорфа, Шейблера, пікриною кислотою та ін.

• *Реакція з калій дихроматом і кислотою сульфатною* — при наявності стрихніну з'являється сине забарвлення. Через деякий час це забарвлення переходить у фіолетове, червоне, а потім зникає. Межа виявлення: 1 мкг стрихніну в пробі. Цій реакції заважають морфін, бруцин, хінін.

• *Реакція з амоній ванадатом і кислотою сульфатною* — реактив Манделіна зі стрихніном дає червоно-фіолетове забарвлення, яке переходить у червоне.

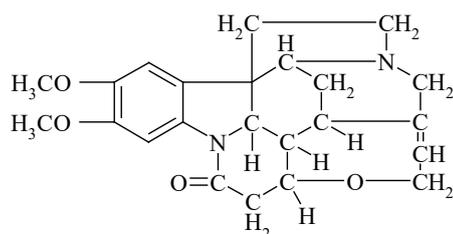
• *Реакція Віталі–Морена.* В результаті цієї реакції стрихнін утворює червоно-фіолетове забарвлення, а атропін — фіолетове.

• *Виявлення стрихніну у присутності бруцину.* Виконання реакції на стрихнін з концентрованою кислотою сульфатною

і калій дихроматом заважає бруцин. Розділити ці алкалоїди методом екстракції дуже важко. Тому при наявності суміші стрихніну і бруцину останній руйнують кислотами сульфатною і нітратною, далі стрихнін екстрагують етером і проводять реакцію з концентрованою кислотою сульфатною і калій дихроматом.

• **Виявлення стрихніну за УФ- та ІЧ-спектрами.** Розчин стрихніну в етиловому спирті має максимум поглинання за 255 нм. В ІЧ-ділянці спектра стрихнін-основа (диск із калій бромідом) має основні смуги поглинання при 1664, 764, 1392 та 1480 см<sup>-1</sup>.

**Кількісне визначення стрихніну** здійснюють *фотоелектроколориметричним* методом — за реакцією з натрій нітритом після попереднього відновлення алкалоїду гідрогеном у момент виділення.



**Бруцин** міститься у блювотному горісі. За хімічною будовою бруцин аналогічний до стрихніну. Ці алкалоїди відрізняються один від одного наявністю двох метоксильних груп у бруцині.

**Фізико-хімічні властивості.** Основа бруцину розчиняється в етиловому спирті (1:3), хлороформі (1:5), діетиловому етері (1:187), слабо розчиняється у воді (1:1320).

Бруцин екстрагується органічними розчинниками як з кислот, так і з лужних водних розчинів. Інтервал значень рН від 7,5 до 12 є областю максимальної екстракції бруцину хлороформом.

**Застосування. Дія на організм.** Бруцин у медицині не застосовують, але він входить до складу настоянки чилібухи, при отруєнні якою має проводитися хіміко-токсикологічне дослідження органів трупа не тільки на наявність стрихніну, але й на наявність бруцину. За фармакологічною дією бруцин подібний до стрихніну, але менш токсичний.

**Метаболізм.** В організмі основна частина бруцину піддається метаболізму. Метаболітами бруцину є метокси-2-окси-3-стрихнін та його ізомер окси-2-метокси-3-стрихнін, які виділяються з організму з сечею. В сечі виявляється тільки невелика кількість незмінного бруцину.

#### **Виявлення бруцину**

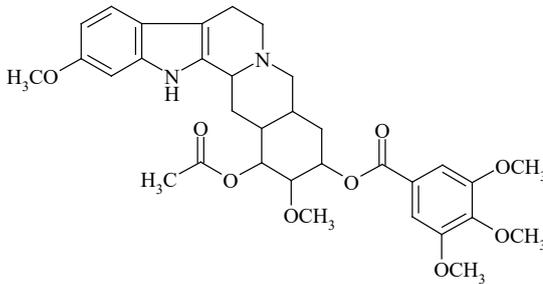
• **Реакції з реактивами групового осадження алкалоїдів** — бруцин з реактивами Бушарда, Майєра та ін. утворює осад.

• *Реакції з реактивами, що містять концентровані нітратну та сульфатну кислоти* — бруцин утворює забарвлення зі вказаними реактивами.

• *Реакція з кислотою нітратною та стибій(II) хлоридом* — за наявності бруцину з'являється криваво-червоне забарвлення, що переходить у жовте. Якщо до розчину, який має жовте забарвлення, додати декілька крапель розчину стибій(II) хлориду, то з'являється фіолетове забарвлення. Межа виявлення становить 14 мкг бруцину в пробі.

• *Виявлення бруцину за УФ- та ІЧ-спектрами.* Розчин бруцину в етиловому спирті має максимуми поглинання при 267 та 301 нм. В ІЧ-ділянці спектра бруцин-основа (диск із калій бромідом) має основні смуги поглинання при 1500, 1649, 1190, 1285, 1400 та 1450  $\text{см}^{-1}$ .

**Кількісне визначення** здійснюють *фотоелектроколориметричним* методом, використовуючи реакцію з натрій нітритом після попереднього відновлення бруцину воднем у момент виділення.



**Резерпін** належить до алкалоїдів, які містяться в різних видах раувольфії. В деяких її видах, крім резерпіну, міститься більше 20 інших алкалоїдів.

**Фізико-хімічні властивості.** Роз-

чиняється в хлороформі (1:6), мало розчиняється в етиловому спирті (1:2000), практично не розчиняється у воді і діетиловому етері. Резерпін екстрагується органічними розчинниками з лужних водних розчинів.

**Застосування. Дія на організм.** Резерпін має гіпотензивні властивості, проявляє заспокійливу дію на центральну нервову систему. Він поглиблює та підсилює фізіологічний сон, потенціює дію барбітуратів та інших снодійних засобів, сповільнює серцеву діяльність, підсилює перистальтику травного каналу, викликає міоз, при частому вживанні може кумулюватися в організмі. Резерпін застосовують для лікування гіпертонії. Після прийому препарату гіпотензивний ефект розвивається поступово

і зберігається відносно довго. Резерпін призначається при легких формах серцевої недостатності, при токсикозах вагітності, а також застосовують у психіатрії та неврології.

Резерпін повільно всмоктується з травного каналу. При внутрішньовенному введенні він швидко зникає з крові.

У *токсичних дозах* викликає гіперемію слизових оболонок очей, нашкірні висипи, біль у шлунку, брадикардію, запаморочення, задишку, нудоту, блювоту, кошмарні сновидіння; при *хронічному отруєнні* можливі явища паркінсонізму.

Для лікування отруєнь резерпіном призначають холінолітичні засоби та протипаркінсонічні препарати (циклодол, тропацин та ін.).

**Метаболізм.** Резерпін під дією ферментів піддається гідролізу, а також *O*-деметилуванню. Метаболітами резерпіну є кислота триметоксифензойна, метиловий спирт та низка інших речовин.

#### **Виявлення резерпіну**

• *Реакція з ваніліном у присутності кислоти хлоридної та сульфатної* — за наявності резерпіну з'являється фіолетове забарвлення. Межа виявлення становить 0,6 мкг резерпіну в пробі.

• *Виявлення резерпіну за флюоресценцією* — до сухого залишку додають 1 % розчин кислоти ацетатної, а потім рідину опромінюють УФ-світлом. Поява жовто-зеленої флюоресценції рідини вказує на наявність резерпіну у досліджуваному розчині.

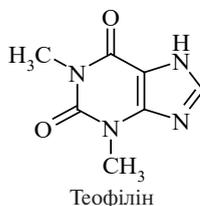
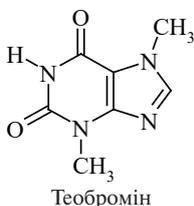
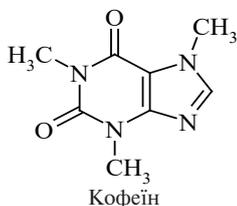
• *Реакція з амоній роданідом* — у присутності резерпіну з'являються кристали, що мають форму сферолітів, які складаються з тонких пластинок.

• *Виявлення резерпіну за УФ- та ІЧ-спектрами.* Розчин резерпіну в етиловому спирті має максимуми поглинання при 267 та 294 нм.

В ІЧ-ділянці спектра резерпін (диск із калій бромідом) має основні смуги поглинання при 1120, 1220 та 1330  $\text{см}^{-1}$ .

### **6.7.6. ПОХІДНІ ПУРИНУ**

Головні алкалоїди зазначеної групи — *кофеїн*, що міститься в зернах кави, листі чаю і деяких інших рослинах; *теобромін* — міститься в плодах какао і листі чаю; *теофілін* — міститься в листі чаю.



**Фізико-хімічні властивості.** Кофеїн-основа розчиняється в хлороформі (1:7), воді (1:60), етиловому спирті (1:130), погано розчиняється в діетиловому етері. Кофеїн екстрагується органічними розчинниками з кислих та лужних розчинів, однак максимальна кількість кофеїну екстрагується хлороформом при рН 4,0.

Теобромін-основа важко розчиняється у воді (1:2000), етиловому спирті (1:2500), хлороформі (1:6000), ще важче вона розчиняється в діетиловому етері.

Теобромін екстрагується органічними розчинниками з кислих водних розчинів. Максимальна кількість теоброміну екстрагується хлороформом при рН 4–7. Невеликі кількості теоброміну екстрагуються і з лужних розчинів.

Теофілін-основа розчиняється в етиловому спирті (1:80), хлороформі (1:86), слабо розчиняється у воді (1:120) і діетиловому етері.

Теофілін екстрагується органічними розчинниками з кислих водних розчинів. Максимальна кількість теофіліну екстрагується при рН 4–7.

**Застосування.** Кофеїн застосовується в медицині у вигляді солей — кофеїн-бензоату натрію, кофеїн-саліцилату натрію і у складі лікарських форм («Аскофен», «Пірамеїн», «Цитрамон») для лікування захворювань ЦНС, для збудження дихального центру, при лікуванні мігрені.

Теобромін у складі лікарських форм («Темісал», «Теоверин») стимулює серцеву діяльність, підсилює діурез, використовується при спазмах судин мозку.

Теофілін застосовується у вигляді лікарських форм («Еуфілін», «Теофедрин») як діуретик, протиастматичний засіб, для лікування ішемічної хвороби серця.

**Токсична дія та симптоми отруєнь.** Кофеїн викликає збудження ЦНС, виснаження нервових клітин; спостерігають клоніко-тонічні судоми, погіршення роботи серця; смертельна доза становить 1,0 г і більше. Після застосування великих доз

теофіліну порушується діяльність центральної нервової та серцево-судинної систем.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** При отруєнні похідними пурину проводять промивання шлунка через зонд, ентеросорбцію, призначають сольове проносне, форсований діурез, у тяжких випадках — гемосорбцію. Вводять 2 мл 2,5 % розчину аміназину, у тяжких випадках — 2 мл 2,5 % розчину піпольфену, 1 мл 1 % розчину промедолу та 1 мл 2,5 % розчину аміназину внутрішньовенно. При судомах використовують 10 мл 2,5 % розчину діазепаму внутрішньовенно, при пароксизмальній тахікардії — 1–5 мл 0,1 % розчину індералу внутрішньовенно.

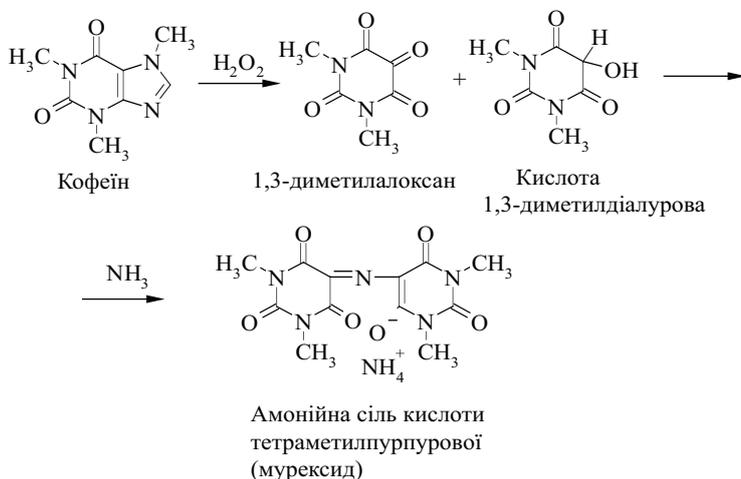
**Метаболізм.** Кофеїн швидко всмоктується з травного каналу. За токсичністю кофеїн поступається теофіліну, але він більш токсичний, ніж теобромін. Кофеїн швидко розкладається в організмі (близько 15 % прийнятої дози розкладається за 1 год) шляхом *N*-деметилування та окиснення. В результаті розкладання кофеїну утворюється низка метаболітів (1-метилксантин, 7-метилксантин, 1,7-диметилксантин, кислота 1-метилсечова, кислота 1,3-диметилсечова), які виділяються з сечею. Тільки незначна кількість кофеїну, що потрапив до організму, виділяється з сечею в незмінному стані.

Теобромін добре всмоктується зі ШКТ. В організмі він піддається метаболізму шляхом *N*-деметилування та окиснення. В результаті цих перетворень як метаболіти теоброміну утворюються 3-метилксантин, 7-метилксантин та кислота 7-метилсечова, які виводяться з організму з сечею.

Теофілін в організмі піддається процесам метаболізму. При цьому утворюються кислота 1,3-диметилсечова (близько 50 % дози), кислота 1-метилсечова (близько 20 % дози) та сліди кислоти 3-метилсечової. Усі ці метаболіти виділяються з організму з сечею.

#### **Виявлення похідних ксантину**

• **Мурекидна проба** — при дії окисників (кислота хлорна, бромна вода, гідроген пероксид, калій хлорат  $\text{KClO}_3$  та ін.) і кислоти хлоридної на похідні ксантину утворюється суміш похідних алоксану і кислоти діалурової. Після додавання розчину амоній гідроксиду до цієї суміші утворюється похідне мурекиду (амонійна сіль кислоти тетраметилпурпурової), яка має фіолетове забарвлення.



- *Реакція з реактивом Несслера* — при нагріванні (на киплячій водяній бані) розчину кофеїну протягом 1–2 хв утворюється червоно-бурий осад.

- *Виявлення кофеїну за УФ- та ІЧ-спектрами* — розчин кофеїну в етиловому спирті має максимум поглинання при довжині хвилі 273 нм. У 0,1 М розчині кислоти хлоридної кофеїн має максимум поглинання при довжині хвилі 272 нм. В ІЧ-ділянці спектра основа кофеїну (диск із калій бромідом) має основні смуги при 1695, 1658 та 745 см<sup>-1</sup>.

### **Виявлення теоброміну**

- *Мурексидна проба.*
- *Реакція з реактивом Несслера* — при нагріванні теоброміну з'являється слабо-коричневе забарвлення.

- *Реакція з реактивом Драгендорфа* — за наявності теоброміну в досліджуваному розчині з'являються темно-червоні голчасті кристали, зібрані в пучки. Межа виявлення: 19 мкг теоброміну в пробі.

- *Виявлення теоброміну за УФ- та ІЧ-спектрами.* Лужні розчини теоброміну (рН 9,4) мають максимум поглинання при довжині хвилі 273 нм. В ІЧ-ділянці спектра (диск із калій бромідом) основа теоброміну має основні смуги при 1690, 1221 та 1550 см<sup>-1</sup>.

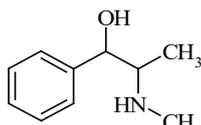
### **Виявлення теофіліну**

- *Мурексидна проба.*
- *Реакція з діазотованою кислотою сульфаніловою* — дозволяє відрізнити теофілін від теоброміну, оскільки у них різне відношення до діазореактиву: теофілін дає реакцію з цією кислотою, а теобромін — ні.

• *Виявлення теофіліну за УФ- та ІЧ-спектрами.* Основа теофіліну в 0,1 М розчині кислоти хлоридної має максимум поглинання при довжині хвилі 270 нм. В ІЧ-ділянці спектра основа теофіліну (диск із калій бромідом) має основні смуги при 1660, 1700 та 1560  $\text{см}^{-1}$ .

*Кількісне визначення кофеїну* здійснюють *фотоелектроколориметричним* методом чи реакцію з кислотою фосфорно-молібденовою.

### 6.7.7. АЦИКЛІЧНІ АЛКАЛОЇДИ



**Ефедрин** (група фенілалкіламінів) є головним алкалоїдом, що має ациклічну структуру. Деякі синтетичні фенілалкіламіни розглянуто у розділі 6.8.

Ефедрин та його стереоізомер псевдо-ефедрин містяться в деяких видах ефедри. Враховуючи значну потребу в ефедрині, його отримують і синтетичним шляхом. Ефедрин, що міститься в рослинах, є лівообертаючим, а синтетичний — правообертаючим.

**Фізико-хімічні властивості.** Ефедрин розчиняється в етиловому спирті (1:1), діетиловому етері (1:36), хлороформі. Ефедрину гідрохлорид розчиняється в етиловому спирті (1:17), майже не розчиняється в хлороформі та діетиловому етері. Ефедрин екстрагується органічними розчинниками з лужних водних розчинів.

**Застосування.** За фармакологічною дією ефедрин близький до адреналіну. Він підвищує артеріальний тиск, звужує судини, розширює бронхи, зменшує перистальтику кишечника, збуджує ЦНС.

Ефедрину гідрохлорид застосовується при лікуванні бронхіальної астми, в офтальмології, входить до складу таблеток «Теофедрин» та інших лікарських засобів.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Ефедрин проявляє нейротоксичну дію; при отруєнні спостерігають головний біль, порушення серцебиття, тремтіння кінцівок, утруднення сечовипускання, безсоння, підвищення артеріального тиску з подальшим різким його зниженням, послаблення серцевої діяльності, клоніко-тонічні судоми; смерть настає від порушення дихання. Смертельні дози становлять 0,2 г для дітей та 2,0 г для дорослих.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Проводять промивання шлунка з наступним призначенням сольового проносного. Застосовують швидкодіючі судинорозширювальні



• *Реакція з реактивом Драгендорфа* — при взаємодії ефедрину з цим реактивом утворюються кристали, що нагадують тонкі голки, зібрані в пучки. Межа виявлення — 1,6 мкг ефедрину в пробі.

• *Реакція з нінгідрином* — при додаванні до ефедрину розчину нінгідрину та нагріванні утворюється синьо-фіолетове забарвлення (реакція на вторинну аміногрупу ефедрину).

*Виявлення ефедрину за УФ- та ІЧ-спектрами.* Основа ефедрину, розчинена в 0,05 М розчині кислоти сульфатної, має максимуми поглинання при довжинах хвиль 251, 256 та 262 нм; в ІЧ-ділянці спектра основа ефедрину (диск із калій бромідом) має основні смуги поглинання при 703, 1455 та 745  $\text{см}^{-1}$ .

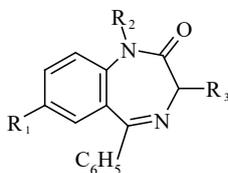
*Кількісне визначення ефедрину* проводять екстракційно-фотометричним методом за реакцією з купрум(II) сульфатом та розчином сірководню в бензені.

## 6.8. ТОКСИКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ТА ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ СИНТЕТИЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН ОСНОВНОГО ХАРАКТЕРУ

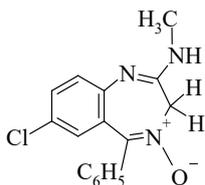
### 6.8.1. ПОХІДНІ 1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІНУ

Похідні 1,4-бензодіазепіну за фармакологічними властивостями належать до транквілізаторів, тобто речовин заспокійливої дії.

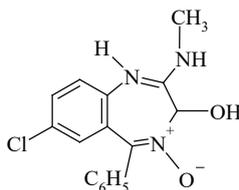
Загальна формула похідних 1,4-бензодіазепіну:



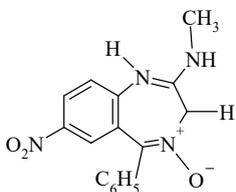
Хімічна будова деяких лікарських речовин, похідних 1,4-бензодіазепіну:



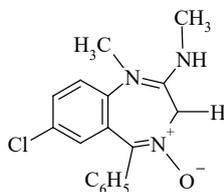
Хлордіазепоксид (хлозепід, еленіум) — 7-хлор-2-метиламіно-5-феніл-3Н-1,4-бензодіазепіну-4-оксид



Оксазепам (тазепам) — 7-хлор-1,2-дигідро-3-гідрокси-2-оксо-5-феніл-3Н-1,4-бензодіазепін



Нітразепам (раледорм) — 1,2-дигідро-7-нітро-2-оксо-5-феніл-3Н-1,4-бензодіазепін



Діазепам (сібазон) — 7-хлор-1,2-дигідро-1-метил-2-оксо-5-феніл-3Н-1,4-бензодіазепін

**Фізико-хімічні властивості.** Похідні 1,4-бензодіазепіну є слабкими основами. Основність сполук збільшується при наявності основних замісників. Так, хлордіазепоксид дає стійкі солі з сильними кислотами, виступаючи як однокислотна основа. При введенні в ядро 1,4-бензодіазепінів електроноакцепторних груп ( $-\text{NO}_2$ ;  $-\text{OH}$ ) основність сполук знижується.

1,2-дигідропохідні 1,4-бензодіазепіну (оксазепам, нітразепам) проявляють також слабкокислі властивості за рахунок наявності в молекулі амідної групи.

Введення замісників у положення 1 і 3 знижує основність сполук в основному за рахунок стеричного екранування атома нітрогену в положенні 4, і як наслідок, ускладнює його протонізацію.

Похідні 1,4-бензодіазепіну — кристалічні речовини білого або яскраво-жовтого кольору. У воді добре розчинним є хлордіазепоксид, а діазепам і оксазепам розчинні в спирті та хлороформі. Нітразепам практично нерозчинний в етанолі і хлороформі. Найбільш висока розчинність похідних 1,4-бензодіазепіну спостерігається в апротонних розчинниках — диметилформаміді, диметилсульфоксиді.

**Застосування.** Похідні 1,4-бензодіазепіну проявляють за спокійливу дію на ЦНС, мають протисудомну активність, сприяють нормалізації сну, зменшують почуття страху, підсилюють дію снодійних і анальгезуючих речовин.

Препарати застосовуються при лікуванні невротичних станів, неврозх, міозитах, шизофренії, епілепсії, депресивних станах, при безсонні, яке є наслідком нервового розладу, при захворюваннях шкіри, що супроводжуються свербінням, тощо.

Згідно з Переліком наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів похідні 1,4-бензодіазепіну належать до психотропних засобів, обіг яких обмежено і щодо яких допускаються виключення деяких заходів контролю (Таблиця III, Список №2).

Щодо вітчизняного денного транквілізатора бензодіазепінового ряду гідазепаму ([1-(гідразінокарбоніл)-метил-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бензодіазепін-2-он]), який в терапевтичних дозах не викликає багатьох седативних ефектів, то його спочатку було внесено до вказаного Переліку, потім виключено з нього (1997 р.). У липні 2004 р. гідазепам знову було включено до вищезазначеного Переліку, а через два місяці — виключено (і донині).

**Поведінка в організмі.** Похідні 1,4-бензодіазепіну всмоктуються в шлунку і тонкому кишечнику. Механізм всмоктування — проста дифузія. Потрапляючи в кров, похідні 1,4-бензодіазепіну на 80–95 % зв'язуються з білками плазми.

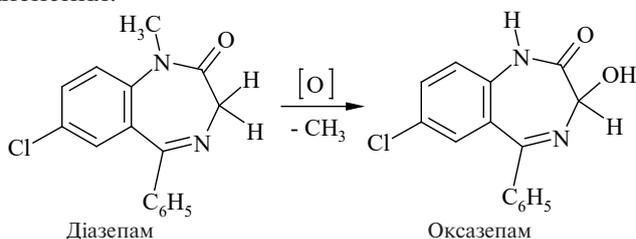
Максимальна концентрація в крові при введенні через рот досягається через 2–5 год після вживання терапевтичних доз препаратів. Далі їх концентрація у крові зберігається протягом 2 год на одному рівні, після чого починає повільно знижуватися.

Найбільший вміст похідних 1,4-бензодіазепіну відзначається в ШКТ, тканинах мозку, печінки і нирках.

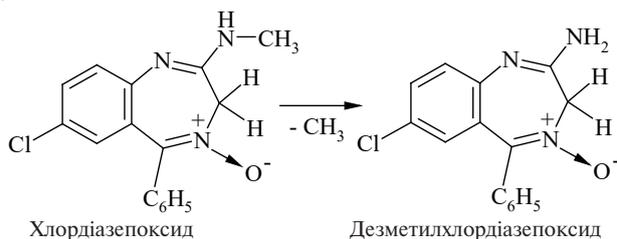
**Метаболізм** похідних 1,4-бензодіазепіну відбувається в печінці. Виводяться бензодіазепіни в основному нирками у вигляді нативних сполук і метаболітів.

Основні напрямки метаболізму похідних 1,4-бензодіазепіну, що включають реакції *N*-дезалкілювання, окиснення, відновлення, гідролізу, глюкуронізації, наведено нижче.

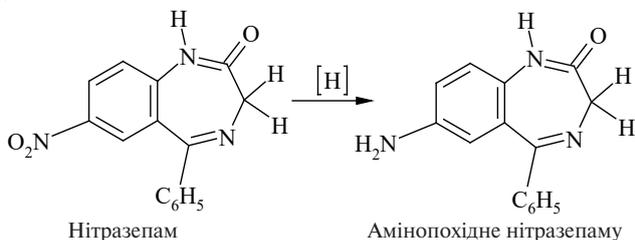
Окиснення:



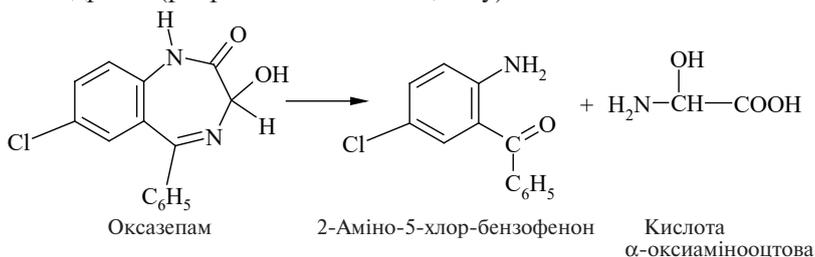
*N*-дезметилування:



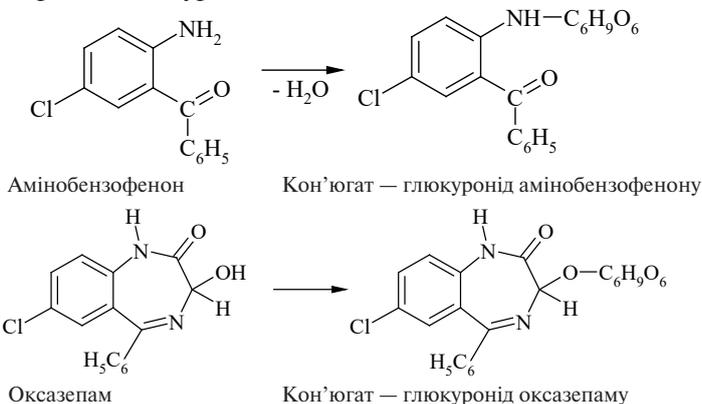
Відновлення:



Гідроліз (розрив азепінового циклу):



Утворення глюкуронідів:



**Токсична дія та симптоми отруєння.** За вибірковою токсичністю похідні 1,4-бензодіазепіну належать до речовин нейротоксичної та психотропної дії, що обумовлено гальмуванням ЦНС, послабленням процесів порушень у підкіркових утвореннях, гальмуванням нейронів спинного мозку і таламуса (центральна 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 деяких випадках відзначається ейфорія, м'язова гіпотонія.

Тяжка форма отруєння характеризується сплутаністю свідомості, появою клонічних судом, галюцинаторного синдрому. Смерть настає в зв'язку з дихальною і серцево-судинною недостатністю — судинний колапс, зупинка дихання, набряк легень.

Смертельна доза хлордіазепоксиду становить 1–2 г. Токсична концентрація в крові становить 5–20 мг/л, смертельна — більше ніж 50 мг/л.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Призначають промивання шлунка водою або ізотонічним розчином натрій хлориду, потім — сольове проносне, клізму. Речовина, що всмокталась, видаляється шляхом форсованого діурезу, але водне навантаження використовують з обережністю через небезпеку розвитку набряку легенів. При гіпотензії та колапсі вводять аналептики (кофеїн-бензоат натрію, коразол, кордіамін), застосовують переливання крові або плазми. При отруєннях хлордіазепоксидом використовують бемеград. Потерпілому вводять внутрішньовенно флумазеніл (0,2 мг за 30 с, після чого — ще 0,3 та 0,5 мг з інтервалом в 1 хв до максимальної дози 3 мг або навіть 5 мг). Флумазеніл (імідазобензодіазепін) є специфічним антагоністом бензодіазепінових рецепторів та використовується для зняття седативного синдрому, обумовленого передозуванням бензодіазепінами.

#### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

**Об'єкти дослідження:** шлунок і тонкий кишечник зі вмістом, головний мозок, печінка, нирки, кров, сеча.

Дослідження біологічного матеріалу на наявність похідних 1,4-бензодіазепіну та їх метаболітів виконується за двома напрямками:

• **I напрямок** передбачає дослідження за продуктами кислотного гідролізу похідних 1,4 бензодіазепіну — 2-амінобензофенонами (метод Б.М. Ізотова);

• **II напрямок** передбачає дослідження біологічного об'єкта на вміст у ньому нативних сполук разом із метаболітами.

Перевага дослідження похідних 1,4-бензодіазепіну за продуктами гідролізу — 2-амінобензофенонами — полягає

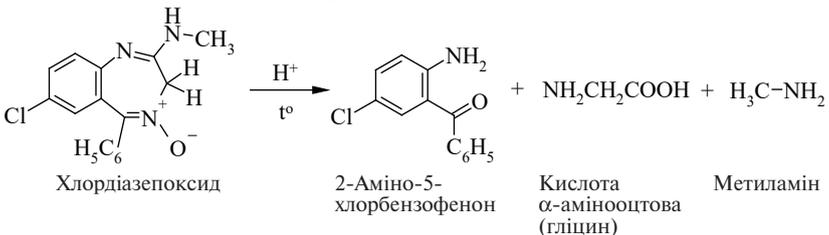
в можливості сумарно визначати нативні сполуки і метаболіти. При проведенні аналізу за I напрямком дослідження має негативне судово-токсикологічне значення. При позитивному результаті необхідно продовжувати дослідження за II напрямком (за нативними сполуками і метаболітами), що дозволяє ідентифікувати лікарську речовину, яка викликала отруєння (особливо при наявності хлордіазепоксиду та оксазепаму, які мають низку загальних метаболітів і гідролізуються до 2-аміно-5-хлорбензофенону).

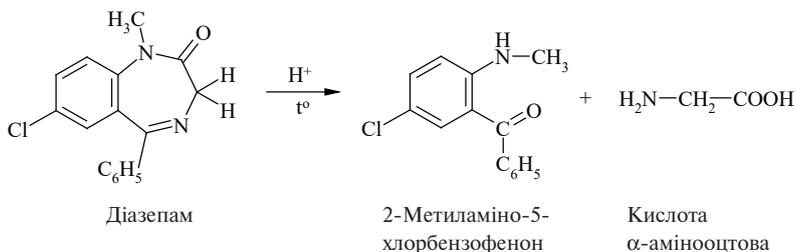
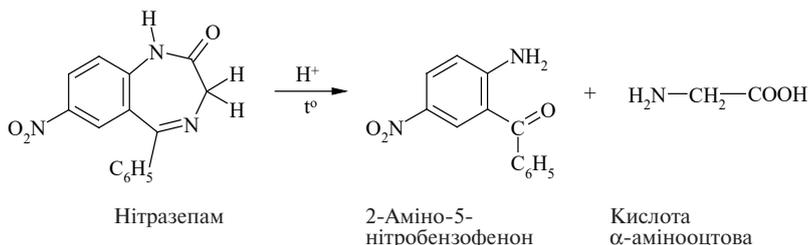
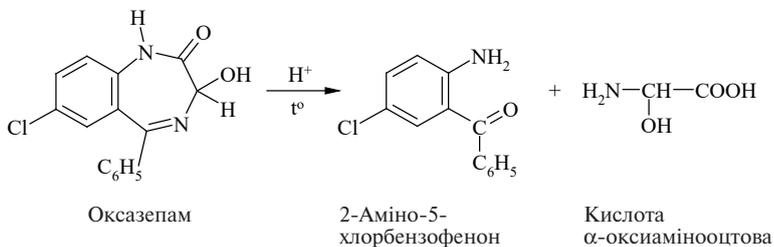
**Ізолювання** при дослідженні за I напрямком включає попередній кислотний гідроліз нативних сполук та продуктів біотрансформації 1,4-бензодіазепінів. Гідроліз проводять з гомогенізованою пробєю біологічного матеріалу за допомогою 6 М розчину кислоти хлоридної при нагріванні зі зворотним холодильником на гліцериновій бані ( $t = 140\text{--}145\text{ }^\circ\text{C}$ ) протягом 60 хв. У результаті гідролізу відбувається руйнування зв'язку білок-отрута і розрив азепінового циклу нативних сполук з утворенням амінобензофенонів. Гідролізат очищують центрифугуванням і фільтруванням.

Оскільки амінобензофенони характеризуються основними властивостями, їх екстрагують сумішшю хлороформ-пентанол (9:1) з лужного середовища, для чого гідролізат підлугуюють розчином натрій гідроксиду.

При дослідженні за I напрямком ізолювання нативних сполук та продуктів біотрансформації 1,4-бензодіазепінів також можна провести за допомогою загальних методів: А.О. Васильєвої (водою, підкисленою кислотою оксалатною) або Стаса-Отто (етанолом, підкисленим кислотою оксалатною). При цьому похідні 1,4-бензодіазепіну екстрагують з водної фази хлороформом послідовно з кислого (рН 2–3) та лужного (рН 9–10) середовища. Хлороформні екстракти об'єднують, випаровують досуха, залишок розчиняють у 6 М розчині кислоти хлоридної і проводять гідроліз при  $120\text{ }^\circ\text{C}$  протягом 20 хв.

Схема кислотного гідролізу похідних 1,4-бензодіазепіну:





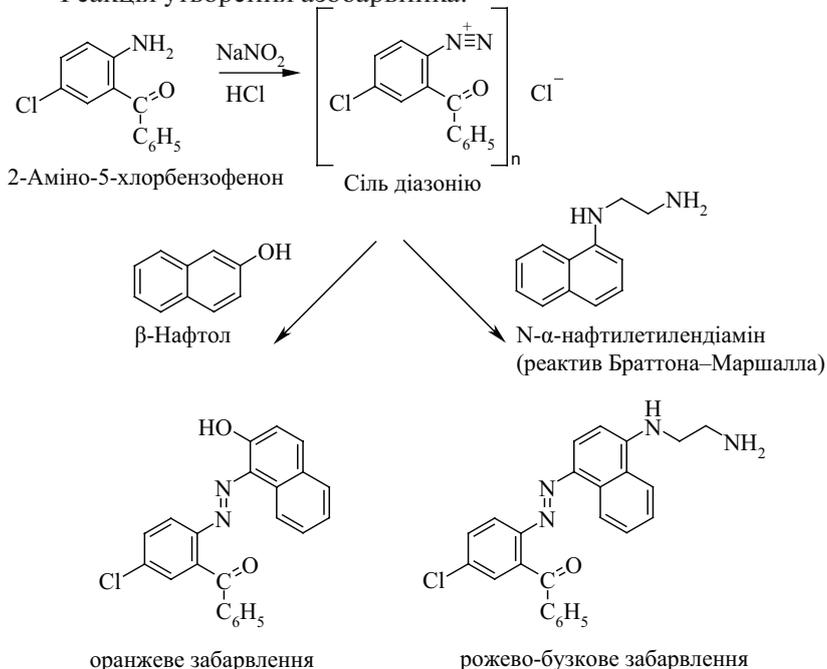
### **Виявлення та ідентифікація**

**ТЛХ-скринінг.** На цьому етапі використовують рухому фазу хлороформ–діоксан–ацетон–амоній гідроксид 25 % розчин (47,5:45:5:2,5); сорбент — силікагель КСК. Виявлення бензофенонів проводять за власним жовтим забарвленням плям; за реакцією утворення азобарвника (до реакції вступають 2-амінобензофенони) з β-нафтолом (оранжеві плями) або з *N*-α-нафтилетилендіаміном (рожево-бузкові плями). Бензофенони (*R<sub>f</sub>* 0,63–0,70) із сорбенту елюють бензолом.

Очистку від співекстрактивних домішок проводять за допомогою методів тонкошарової хроматографії, електрофорезу, гель-хроматографії, екстракційним методом.

Після очищення продукти кислотного гідролізу 1,4-бензодіазепінів — 2-амінобензофенони виявляють за допомогою хімічних реакцій та фізико-хімічних методів.

### Реакція утворення азобарвника:



Реакції чутливі, неспецифічні.

УФ-спектри бензофенонів характеризуються наявністю максимумів поглинання, положення яких залежить від рН середовища: при рН < 5 специфічне світлопоглинання спостерігають при 265 нм, при рН > 7 — при 235 та 290 нм.

**Кількісне визначення бензофенонів** проводять за допомогою фізико-хімічних методів:

- *спектрофотометрії* у видимій ділянці спектра за реакцією утворення азобарвника, екстракційної спектрофотометрії з кислотними барвниками, УФ-спектрофотометрії;
- *хроматографічних* (ГРХ і ВЕРХ), після ретельної очистки біологічних екстрактів від домішок.

При дослідженні за II напрямком (за нативними речовинами та метаболітами) ізолювання проводять за допомогою загальних методів. Після екстракції бензодіазепінів та їх метаболітів хлороформом з підкисленої та підлуженої водних фаз проводять ТШХ-скринінг у рухомих фазах, які рекомендовано для речовин основного характеру; проявник — реактив Драгендорфа за Мун'є (оранжево-коричневі плями).

Для виявлення нативних сполук похідних 1,4-бензодіазепіну використовують реакції осадження та забарвлення, фізико-хімічні методи (УФ-спектрофотометрію, ГРХ, ВЕРХ).

**Реакції осадження.** Через наявність у зазначених молекулах третинних атомів нітрогену похідні 1,4-бензодіазепіну утворюють осадки з загальноалкалоїдними осадковими реактивами: Драгендорфа, Бушарда, кислотою пікриною, сіллю Рейнеке та ін.

**Реакції забарвлення** на нативні сполуки деяких похідних 1,4-бензодіазепіну наведено нижче.

#### **Виявлення хлордіазепоксиду**

• *Реакція з реактивом Маркі* — хлордіазепоксид утворює з цим реактивом жовте забарвлення.

• *Реакція з реактивом Фреде* — з цим реактивом з хлордіазепоксидом утворює оранжеве забарвлення.

• *Реакція Віталі–Морена* — при виконанні реакції на хлордіазепоксид з'являється жовте забарвлення.

• *Реакція з нінгідрином* — до досліджуваного екстракту додають розчин нінгідрину в етиловому спирті. Цю суміш нагрівають на водяному нагрівнику. Після охолодження розчину до нього додають етиловий спирт. При цьому розчин набуває синього кольору.

• *Реакція діазотування* базується на перетворенні хлордіазепоксиду на 2-аміно-5-хлорбензофенон під дією кислоти хлоридної при нагріванні. При виконанні реакції діазотування 2-аміно-5-хлорбензофенону з розчином дигідрохлориду *N*-(1-нафтил)-етилендіаміну в етиловому спирті з'являється червоно-фіолетове забарвлення.

#### **Виявлення оксазепаму**

• *Реакція утворення азобарвника* — після кислотного гідролізу оксазепам дає реакцію утворення азобарвника (з лужним розчином  $\alpha$ -нафтолу утворюється червоне забарвлення).

#### **Виявлення нітразепаму**

• *Реакція діазотування.* Реакція базується на перетворенні нітразепаму на 2-аміно-5-нітробензофенон під дією кислоти хлоридної при нагріванні. При виконанні реакції діазотування 2-аміно-5-нітробензофенону з розчином дигідрохлориду *N*-(1-нафтил)-етилендіаміну в етанолі утворюється червоно-фіолетове забарвлення.

• *Реакція з нінгідрином* — при виконанні цієї реакції нітразепам утворює жовто-коричневе забарвлення.

Дослідження нативної сполуки і метаболітів дає можливість провести ідентифікацію похідних 1,4-бензодіазепіну і підтвердити результати аналізу за бензофенонами.

**УФ-спектроскопія.** Електронні спектри похідних 1,4-бензодіазепіну характеризуються наявністю 3 смуг світлопоглинання

у таких ділянках УФ-спектра: 200–215 нм; 220–240 нм; 290–330 нм. Дві перші смуги поглинання відповідають збудженню ароматичних хромофорів. Третю довгохвильову смугу відносять до азометинового зв'язку, з'єднаного з ароматичними хромофорами.

За характером світлопоглинання в УФ-ділянці спектра 1,4-бензодіазепіни належать до сполук, абсорбція яких змінюється залежно від рН розчину. У кислому середовищі відбувається протонування атома нітрогену в 1 (у хлордіазепоксиду) і 4 (1,2-дигідропохідні 1,4-бензодіазепіну — нітразепам, оксазепам, діазепам) положеннях. У лужному середовищі в молекулі 1,2-дигідропохідних 1,4-бензодіазепіну відбувається зміна хромофорної системи — збільшення сполучення за рахунок лактім-лактамною таутомерії азометинового зв'язку в положеннях 1, 2 (нітразепам, оксазепам).

*Виявлення хлордіазепоксиду за УФ- і ІЧ-спектрами.* Хлордіазепоксид у 0,1 М розчині натрій гідроксиду має максимуми поглинання при 243 і 260 нм. У 0,05 М розчині кислоти сульфатної — при 245 і 306 нм, а в 0,1 М розчині кислоти хлоридної — при 246 і 308 нм.

Хлордіазепоксид в ІЧ-ділянці спектра (диск із калій бромідом) має основні смуги абсорбції при 1625, 1458 і 693  $\text{см}^{-1}$ .

*Виявлення оксазепаму за УФ- і ІЧ-спектрами.* Розчин оксазепаму в етиловому спирті мають максимуми поглинання при 230 і 315 нм. В ІЧ-ділянці спектра оксазепам (диск із калій бромідом) має основні смуги абсорбції при 1706, 1687, 830 і 693  $\text{см}^{-1}$ .

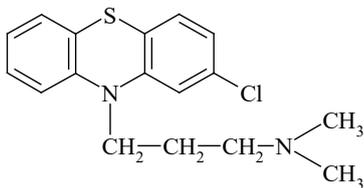
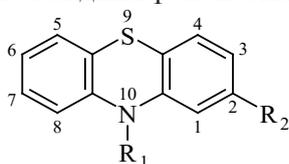
*Виявлення нітразепаму за УФ- і ІЧ-спектрами.* Розчин нітразепаму в етиловому спирті має максимуми поглинання при 218 і 260 нм. Нітразепам у 0,05 М розчині кислоти сульфатної має максимум поглинання при 277 нм і вигин при 340 нм. В ІЧ-ділянці спектра нітразепам (диск із калій бромідом) має основні смуги абсорбції при 1692, 1615, 1352 і 702  $\text{см}^{-1}$ .

*Виявлення діазепаму за УФ- і ІЧ-спектрами.* Діазепам у 0,05 М розчині кислоти сульфатної має максимуми поглинання при 242, 284 і 366 нм. В ІЧ-ділянці спектра діазепам (диск із калій бромідом) має основні смуги абсорбції при 1681, 1484 і 1313  $\text{см}^{-1}$ .

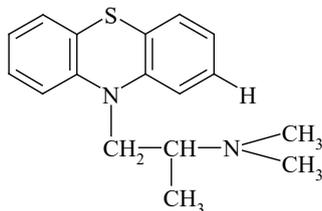
### **6.8.2. ПОХІДНІ ФЕНОТІАЗИНУ**

Похідні фенотіазину належать до лікарських препаратів нейролептичної дії. В основі хімічної будови даної групи сполук лежить цикл фенотіазину. Значна кількість лікарських речовин похідних фенотіазину обумовлена наявністю радикалів у положенні 2 і 10 молекули.

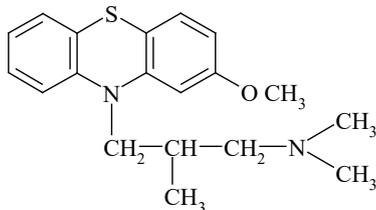
Загальна формула похідних фенотіазину:



Аміназин (хлорпромазин) — 2-хлор-10-(3-диметиламінопропіл)-фенотіазину гідрохлорид



Дипразин (прометазин) — 10-(2-диметиламінопропіл)-фенотіазину гідрохлорид



Тизерцин (левомепромазин) — 2-метокси-10-(3-диметиламіно-2-метилпропіл)-фенотіазину гідрохлорид

**Фізико-хімічні властивості.** Основний характер похідних фенотіазину обумовлений наявністю в структурі молекули гетероциклічного атома нітрогену (рКа 4) і третинного атома нітрогену в аліфатичному радикалі (рКа 9,1–9,8).

При взаємодії з кислотами фенотіазини утворюють солі — білі чи кремуваті порошки, які розчинні у воді, етанолі, хлороформі, але нерозчинні в діетиловому етері і бензені.

Основи фенотіазинів являють собою сиропоподібну масу, нерозчинну у воді, але розчинну в етанолі, діетиловому етері, хлороформі.

*Аміназин* — білий або білий з кремуватим відтінком дрібнокристалічний порошок; гігроскопічний, під впливом світла темнішає, добре розчиняється у воді (1:0,4), етиловому спирті (1:3), хлороформі (1:1), майже не розчиняється в діетиловому етері.

*Дипразин* розчиняється у воді (1:0,6), етиловому спирті (1:9), хлороформі (1:2), майже не розчиняється в діетиловому

етері. Екстрагується органічними розчинниками з лужних водних розчинів.

*Тизерцин гідрохлорид* — білий кристалічний порошок, який мало розчиняється у воді, добре — в етиловому спирті, дітиловому етері та хлороформі.

**Застосування.** Похідні фенотіазину (аміназин, дипразин, тизерцин) виявляють седативну дію, снодійний та антигістамінний ефекти. Препарати підсилюють дію наркотичних, снодійних і анальгезуючих засобів.

Похідні фенотіазину застосовуються для лікування безсоння, психічних захворювань, алергій, дерматозів.

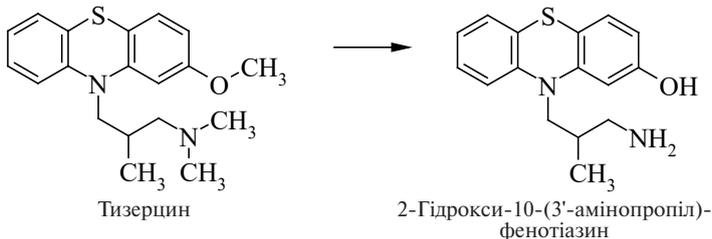
Згідно з Переліком наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів похідні фенотіазину належать до психотропних засобів, обіг яких обмежено і щодо яких допускаються виключення деяких заходів контролю (Таблиця III, Список №2).

**Поведінка в організмі.** Похідні фенотіазину, як речовини основного характеру, переважно всмоктуються в кишечнику, активно зв'язуються з білками, що обумовлює їх здатність до кумуляції в організмі.

Препарати локалізуються в мозку, печінці, нирках. Виводяться нирками, у сечі виявляються в основному у вигляді метаболітів.

**Метаболізм** похідних фенотіазину характеризується високою інтенсивністю та пов'язаний з окисненням, деметилюванням, гідроксилюванням, кон'югацією з кислотою глюкуроною. Так, для аміназину в організмі людини виявлено близько 70 метаболітів, але тільки 10–12 виявляються у значних кількостях. Основні напрямки біотрансформації похідних фенотіазину наведено нижче.

Деметилювання:



Окиснення гетероциклічного атома сульфуру до сульфоксиду та сульфону:



Ароматичне гідроксилювання в 3 і 6 положеннях з наступною кон'югацією з кислотою глюкоуроною:



**Токсична дія та симптоми отруєння.** Препарати характеризуються нейротоксичним ефектом, викликають порушення психічного стану, діяльності серцево-судинної системи, гемодинаміки; можливі диспептичні явища.

При прийомі терапевтичних доз можливі ускладнення: зниження артеріального тиску, підвищення 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 судинорухового центрів; з'являється тахікардія, ниткоподібний пульс. Смерть настає при легенево-серцевій недостатності. Смертельна доза аміазину (для дорослих) становить 5–10 г.

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Призначають промивання шлунка та прийом сольового проносного. Якщо після отруєння пройшло більш ніж 4 год, промивання шлунка є недоцільним. Для швидшого виведення речовини використовують метод форсованого діурезу, у дуже тяжких випадках — метод осмотичного діурезу, обмінне переливання крові та перитоніальний діаліз.

При комі з явищами асфіксії проводять штучну вентиляцію легенів, внутрішньовенне введення глюкози з кислотою аскорбіновою. При колапсі вводять плазму та її замітники (гемодез). Судомна реакція знімається внутрішньовенним введенням барбітуратів короточасної дії (гексенал).

## Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* мозок, печінка, нирки, шлунок зі вмістом, промивні води, легені, сеча.

**Ізолювання** препаратів проводять за методами Є.М. Саломатіна: екстракцією етанолом, підкисленим кислотою оксалатною (модифікація методу Стаса—Отто) та екстракцією ацетонітрилом, підкисленим кислотою хлоридною (модифікація методу Шведзинські).

При екстракції зазначеної групи речовин з біологічного матеріалу в етанольно-водний (ацетонітрильно-водний) розчин утворюються солі похідних фенотіазину, які добре розчинні як у воді, так і в хлороформі. При цьому солі похідних фенотіазину погано розчинні в діетиловому етері. Тому екстракційну очистку етанольно-водного (ацетонітрильно-водного) екстракту проводять з кислого середовища діетиловим етером. Перед екстракційною очисткою попередньо проводять осадження білків 96 % етанолом (модифікація методу Стаса—Отто) або висолювання домішок за допомогою розчину натрій сульфату (модифікація методу Шведзинські).

Враховуючи, що фенотіазини є сильними основами, їх екстрагують органічним розчинником (хлороформом) з лужного середовища при рН 13, яке створюють за допомогою розчину натрій гідроксиду. Після цього проводять реекстракцію похідних фенотіазину у 0,5 % розчин кислоти сульфатної. Це запобігає втратам досліджуваних речовин, адже основи фенотіазинів є леткими сиропоподібними речовинами.

*Основні етапи ізолювання похідних фенотіазину за Є.М. Саломатіним (модифікація методу Стаса—Отто)*

1. Настоювання біологічного матеріалу з етиловим спиртом, підкисленим кислотою оксалатною (рН 2—3).
2. Випарювання спиртових витяжок на водяній бані.
3. Осадження домішок 96 % етанолом.
4. Упарювання спиртової витяжки.
5. Розчинення осаду у воді при нагріванні та фільтруванні.
6. Підкислення водного розчину до рН 2—3.
7. Екстракція етером.
8. Підлучення водної витяжки до рН 13.
9. Екстракція етером.
10. Реекстракція 0,5 % розчином кислоти сульфатної.

*Основні етапи ізолювання похідних фенотіазину за Є.М. Саломатіним (модифікація методу Шведзинські)*

1. Настоювання біологічного матеріалу з ацетонітрилом, підкисленим кислотою хлоридною (рН 2—3), при струшуванні.

2. Фільтрування ацетонітрильної витяжки у водний розчин натрій сульфату.

3. Екстракція одержаного розчину етером після підкислення розчином HCl до pH 2–3.

4. Екстракція водно-ацетонітрильної витяжки етером після підлуження розчином NaOH до pH 13.

5. Екстракція етерної витяжки 0,5 М розчином кислоти сульфатної.

### **Виявлення та ідентифікація**

**ТШХ-скринінг.** Його проводять у рухомій фазі хлороформ–діоксан–ацетон–25 % розчин амоній гідроксиду (47,5:45:5:2,5); сорбент — силікагель КСК; проявники: концентровані кислоти (сульфатна, нітратна, хлоридна), реактиви ФПН, Маркі, Манделіна, ферум(III) хлориду 10 % розчин. Наявність плям рожевого і бузкового кольору в інтервалі значень  $R_f$  0,63–0,83 вказує на можливість присутності у витяжці похідних фенотіазину.

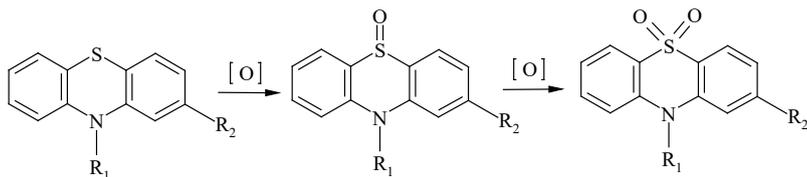
**Очистка.** ТШХ-скринінг дозволяє провести виявлення і очистку екстракту від біогенних домішок, які у вказаній рухомій фазі локалізуються на хроматографічних пластинах в областях значень  $R_f < 0,2$  та  $> 0,8$ .

Для додаткової очистки використовують також поєднання екстракційного і ТШХ методів, ТФЕ, гель-хроматографію, електрофорез.

**Підтверджуючі дослідження елюату** включають найбільш чутливі хімічні реакції та фізико-хімічні методи аналізу.

**Реакції осадження** проводять з загальноалкалоїдними осадковими реактивами (кислота пікринова, сіль Рейнеке, реактиви Драгендорфа, Марме, Майера, Зонненшейна та ін.). Аморфні або кристалічні осади з нехарактерною формою кристалів вказують на наявність гетероциклічного атома нітрогену в молекулі досліджуваної речовини. Реакції високочутливі, неспецифічні.

**Реакції забарвлення** проводять з концентрованими кислотами (сульфатною, нітратною, хлоридною, перхлорною); реактивами Фреде, Манделіна, Маркі; розчинами солей (ферум(III) хлоридом, натрій нітритом). Хімізм зазначених реакцій, у процесі яких відбувається окиснення похідних фенотіазину, описується за схемою:



Продукти реакцій набувають забарвлення. Реакції забарвлення є чутливими, неспецифічними.

#### **Виявлення аміназину**

- Реакція з концентрованою кислотою сульфатною — утворює червоне забарвлення.

- Реакція з концентрованою кислотою нітратною — утворює червоно-фіолетове забарвлення, яке швидко зникає.

- Реакція з концентрованою кислотою хлоридною — утворює рожево-фіолетове забарвлення, яке переходить у червоно-фіолетове.

- Реакція з реактивом Маркі — утворює червоне забарвлення.

- Реакція з реактивом Манделіна — утворює зелене забарвлення, яке переходить у пурпурне.

- Реакція з розчином ферум(III) хлориду — утворює червоне забарвлення; при додаванні реактиву до розчину аміназину в етанолі виникає жовте забарвлення.

#### **Виявлення дипразину**

- Реакція з концентрованою кислотою сульфатною — утворює червонувате забарвлення.

- Реакція з реактивом Фреде — утворює фіолетове забарвлення, яке переходить у червоне.

- Реакція з реактивом Манделіна — утворює зелене забарвлення, яке переходить у фіолетове.

- Реакція з реактивом Маркі — утворює пурпурове забарвлення.

- Реакція Віталі–Морена — з реактивами, які використовують для цієї реакції, дипразин утворює червоне забарвлення, що переходить у жовте.

#### **Виявлення тизерцину**

- Реакція з реактивом Маркі — утворює синювато-червоне забарвлення.

- Реакція з реактивом Фреде — утворює синювато-червоне забарвлення.

- Реакція з реактивом Манделіна — утворює слабке червоно-синє забарвлення.

**Мікрокристалоскопічні реакції.** Більшість похідних феногіазину утворюють характерні кристалічні осади з сіллю Рейнеке, однак диференціація окремих представників цієї групи за формою кристалів складна.

**УФ-спектрофотометрія.** Для ідентифікації використовують абсорбцію похідних феногіазину в УФ-ділянці спектра, яка

характеризується наявністю двох максимумів поглинання в інтервалах 250–260 нм та 300–315 нм.

Порівняння УФ-спектрів солей похідних фенотіазину зі спектрами їх основ показує, що вони практично ідентичні. Отже, зазначені УФ-спектри відображують тільки електронну структуру фенотіазинової частини молекули (аміназин, дипразин). Виняток складають ті похідні, які в положенні 2 містять радикали з вільними  $\pi$ -електронами (тизерцин).

Сульфоксиди фенотіазинів мають, на відміну від нативних сполук, 4 максимуми світлопоглинання в УФ-ділянці спектра при 230, 265, 285 та 400 нм.

*ІЧ-спектри* основ похідних фенотіазину (диск із калій бромідом) використовуються для підтвердження результатів дослідження в комплексі з хроматографічними та іншими спектральними методами.

*Виявлення аміназину за УФ- і ІЧ-спектрами.* Аміназин у водному розчині кислоти сульфатної має максимуми світлопоглинання при 255 і 307 нм. В ІЧ-ділянці спектра аміназин (диск із калій бромідом) має основні смуги світлопоглинання при 1561, 1455, 1402, 1240 і 747  $\text{см}^{-1}$ .

*Виявлення дипразину за УФ- і ІЧ-спектрами.* Розчин дипразину в суміші вода–етанол (1:1) має максимуми поглинання при 252 та 301 нм, у 0,01 М розчині кислоти хлоридної максимуми поглинання спостерігають при 249 та 300 нм. В ІЧ-ділянці спектра дипразин (диск із калій бромідом) має основні смуги при 1459, 1222 і 757  $\text{см}^{-1}$ .

*Виявлення тизерцину за УФ- і ІЧ-спектрами.* Розчин тизерцину в етиловому спирті має максимуми поглинання при 255 і 310 нм. Тизерцин у 0,1 М розчині кислоти хлоридної має максимуми поглинання при 251 і 302 нм. В ІЧ-ділянці спектра основа тизерцину (диск із калій бромідом) має основні смуги при 1587, 1460, 1446 і 1269  $\text{см}^{-1}$ .

**ГРХ** та **ВЕРХ**. Ідентифікацію проводять за параметрами утримування (час, об'єм, індекси, коефіцієнт ємності колонки).

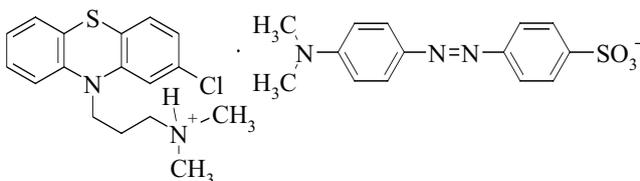
**Кількісне визначення** проводять за допомогою інструментальних методів. Використовують спектрофотометрію у видимій ділянці спектра за реакцією з кислотою сульфатною концентрованою. Недоліком методу є можливість обвуглювання співекстрактивних речовин, особливо при використанні гнилісно зміненого біологічного матеріалу.

Діапазон застосування методик УФ-спектрофотометричного визначення зазвичай охоплює область токсичних та летальних

концентрацій лікарських речовин у біологічних екстрактах при умові ретельної очистки екстрактів від домішок і використовується після очистки методами ТШХ або ТФЕ. Аналітична довжина хвилі для похідних фенотіазину у 0,5 % розчині кислоти сульфатної знаходиться в межах  $\lambda_{\max}$  250–255 нм.

Метод екстракційної спектрофотометрії базується на утворенні іонного асоціату похідного фенотіазину з кислотним барвником метиловим оранжевим та екстракції забарвленого продукту реакції хлороформом. У прямому варіанті екстракційно-спектрофотометричного визначення вимірюють світлопоглинання забарвленого хлороформного шару, в зворотному — руйнують іонний асоціат додаванням до хлороформного шару 1 % розчину кислоти сульфатної в абсолютному етанолі (метанолі) та вимірюють світлопоглинання отриманого забарвленого розчину.

Найбільш вигоідний склад іонного асоціату аміназину з метиловим оранжевим:



Метод екстракційної спектрофотометрії зазвичай дозволяє проводити визначення лікарських речовин у біологічних об'єктах у токсичних та летальних концентраціях і може бути здійснений безпосередньо після додаткової екстракційної очистки, оскільки не вимагає настільки ретельного видалення домішок, як УФ-спектрофотометрія або ГРХ та ВЕРХ.

Для кількісного визначення похідних фенотіазину використовують ГРХ, ВЕРХ, денситометрію (за інтенсивністю забарвлення плями на хроматографічній пластині).

### 6.8.3. ТРИЦИКЛІЧНІ АНТИДЕПРЕСАНТИ

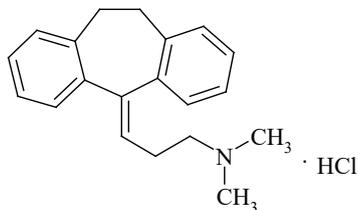
Серед загальної кількості летальних отруєнь психоактивними та наркотичними речовинами антидепресанти посідають одне з перших місць у багатьох країнах світу поряд з опіатами, бензодіазепінами, кокаїном та етанолом. Причинами є поширення захворювань на депресію (за даними ВООЗ, сьогодні від депресії потерпають близько 200 мільйонів людей у світі, а це 3–5 % населення земної кулі) та токсичність окремих груп антидепресантів, зокрема кардіотоксичність трициклічних антидепресантів

(ТЦА). За результатами епідеміологічних досліджень, кількість смертельних отруень ТЦА вища, ніж антидепресантами інших груп, зокрема в 10 разів вища, ніж антидепресантами з групи СІЗЗС. При цьому отруєння ТЦА характеризуються приблизно в 5 разів вищою летальністю, ніж отруєння СІЗЗС.

Група трициклічних антидепресантів включає такі лікарські препарати, як іміпрамін (імізін), амітриптилін, кломіпрамін, докsepін та ін. ТЦА належать до I покоління антидепресантів. За хімічною будовою вони близькі до похідних фенотіазину, у яких під час застосування було відмічено тимоаналептичний ефект. Трициклічна структура фенотіазинів стала основою першого антидепресивного препарату з групи ТЦА — іміпраміну (1959 р.).

**Фізико-хімічні властивості.** Основними трициклічними антидепресантами, що нині застосовуються, є амітриптилін та іміпрамін. За хімічною будовою останній відрізняється від амітриптиліну тільки тим, що атом карбону в центральній частині молекули амітриптиліну замінено на атом нітрогену.

*Амітриптилін* — 10,11-дигідро-5-(3'-N,N-диметиламінопропіліден)-5-N-добензоциклогептану гідрохлорид:



Білий кристалічний порошок,  $t_{пл.}$  — 196–197 °С. Амітриптилін добре розчиняється у воді (1:1), етанолі (1:1,5), метанолі (1:1), хлороформі (1:1,2); погано розчиняється в ацетоні (1:56); практично не розчиняється в діетиловому етері.

**Застосування.** У амітриптиліну тимоаналептична дія поєднується з вираженим седативним ефектом, на відміну від іміпраміну, у якого супутнім є стимулюючий ефект.

Застосовують амітриптилін головним чином при ендогенних депресіях, особливо він є ефективним при тривожно-депресивних станах — зменшує тривогу, ажитацію. Він не викликає загострення марення, галюцинацій, що може виникати при застосуванні антидепресантів-стимуляторів (іміпрамін).

Амітриптилін також застосовують не тільки для корекції розладів психічного стану, а й у комбінації з анальгетиками, при лікуванні хронічних больових синдромів різного походження,

для зняття депресивного стану при лікуванні алкоголізму, опіоїдної та героїнової залежності.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Трициклічні антидепресанти мають досить вузький терапевтичний індекс, і доза, менша за 10 терапевтичних денних доз, може викликати гостре отруєння. Так, добова терапевтична доза амітриптиліну складає 70–250 мг для дорослих, а надходження до організму 10–20 мг/кг препарату *per os* може викликати отруєння, що загрожує життю.

Прийом терапевтичних доз амітриптиліну може викликати побічні ефекти: сухість у роті, розширення зіниць, порушення акомодациї, затримку сечовиведення, закреп, сонливість, тремор рук, аритмію, тахікардію, алергічні реакції.

Токсичні дози ТЦА викликають насамперед аритмії. Розповсюдженими причинами летального отруєння є стан зі стійким пригніченням функції міокарда, шлункова тахікардія та фібриляція шлуночків. При цьому можливі як брадикардії, так і тахіаритмії, а також гіпотензія та набряк легенів. Останній може розвинути через 5–48 год після прийому ТЦА.

Поєднання передозувань нейрорептичними засобами та ТЦА підвищує кардіотоксичність останніх. Значно підвищують тривалість елімінації та рівень ТЦА в кровотоці деякі інші антидепресанти (флуоксетин, флувоксамін та інші антидепресанти з групи селективних інгібіторів зворотнього нейронального захвату серотоніну), а також токсичний метаболіт парацетамолу — N-ацетил-n-бензохінонімін, що утворюється у печінці.

Токсична концентрація амітриптиліну в плазмі крові становить 0,4 мкг/мл, смертельна — 10,0–20,0 мкг/мл, смертельна доза — 600 мг — 3,5 г препарату *per os*.

**Поведінка в організмі.** Після абсорбції ТЦА швидко розподіляються в тканинах та виявляються у високих концентраціях у печінці, нирках, легенях, міокарді. Звичайно співвідношення тканина—плазма перевищує 10:1. ТЦА характеризуються високою ліпофільністю, для них відмічаються значні величини об'ємів розподілу  $V_d$  (15–40 л/кг). Так, для амітриптиліну  $V_d$  становить 15 л/кг.

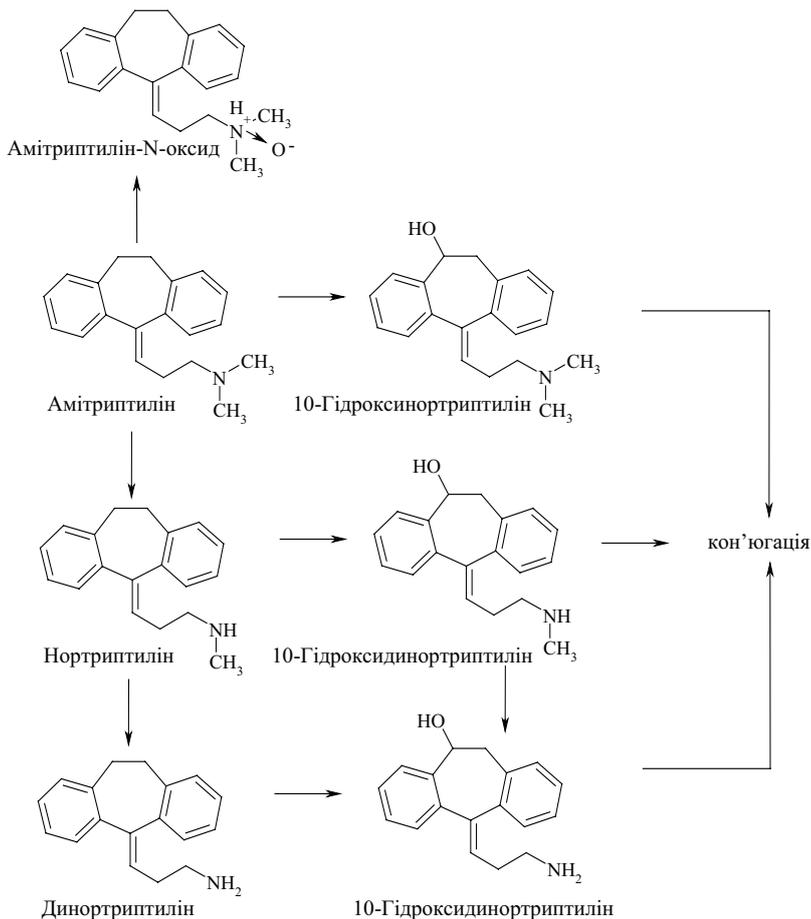
Максимальна концентрація амітриптиліну в тканинах спостерігається через 4 год після прийому. Час напіввиведення  $T_{1/2}$  амітриптиліну складає 9–25 год, а його активного метаболіту нортриптиліну — 18–35 год. Зв'язування з білками плазми становить близько 95 %.

Виводиться амітриптилін в основному нирками у вигляді метаболітів. Лише 0,2 % від прийнятої дози виводиться у незміненому стані.

**Метаболізм.** Основні шляхи метаболізму амітриптиліну в організмі людини включають реакції гідроксилювання та *N*-деметилування з утворенням нортриптиліну, динортриптиліну та їх гідроксипохідних, які у II фазі метаболізму вступають в реакції кон'югації з кислотою глюкуроною.

Біотрансформація амітриптиліну відбувається у печінці. Основним метаболітом, що міститься в плазмі, є нортриптилін, який значною мірою відповідає за фармакологічний ефект амітриптиліну.

У сечі ж спостерігається найбільша кількість 10-гідроксинортриптиліну (до 38 % з урахуванням кон'югатів), 8 % 10-гідроксидинортриптиліну (з урахуванням кон'югатів), 7 % динортриптиліну, 4 % 10-гідроксиамітриптиліну (з урахуванням кон'югатів), 3 % нортриптиліну.



**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** Рішення про госпіталізацію потерпілого роблять на підставі таких показників, як пригнічення ЦНС та дихання, гіпотензія, аритмія.

Хворого спостерігають перші 6 год (час, коли розвиваються найбільш тяжкі ускладнення). У випадку, коли зазначені симптоми відсутні, після останнього введення активованого вугілля хворого переводять до психіатричного відділення.

Для зменшення абсорбції ТЦА у перші 6 год проводять промивання шлунка або використовують іпекакуану як блювотний засіб, дають активоване вугілля (1 г/кг), при сильних передозуваннях використовують багатократні дози активованого вугілля (0,5–1,0 г/кг) через кожні 4 год. При пригніченні дихання проводять гіпервентиляцію легенів, гіпотензію лікують введенням добутаміну, дофаміну або норадреналіну. Судоми знімають за допомогою діазепаму (0,1 мг/кг внутрішньовенно) або фенітоїну (15 мг/кг внутрішньовенно). Аритмії лікують введенням натрій хлориду, натрій бікарбонату, магній сульфату та ін.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

*Об'єкти дослідження:* шлунок, кишечник, печінка, нирки, кров, сеча.

**Ізолювання.** При ненаправленому судово-токсикологічному дослідженні амітриптилін ізолюють з біологічного матеріалу за допомогою загальних методів, антидепресант виявляють у «лужному» хлороформному екстракті. Але ефективність загальних методів невисока. За методами А.О. Васильєвої та Стаса–Отто з біологічного матеріалу ізолюється не більше 20 % амітриптиліну.

Використання розчинників з амфіфільними властивостями підвищує ступінь виділення препарату з біологічного матеріалу. За допомогою підкисленого ацетонітрилу за методом Сшедзінські виділяється понад 30 % амітриптиліну.

З біологічних рідин (кров, сеча) амітриптилін екстрагують хлороформом з лужного середовища при рН 12. Форменні елементи крові заздалегідь осаджують за допомогою розчину кислоти трихлорацетатної або хлоридної.

### **Виявлення та ідентифікація**

**ТШХ-скринінг.** Виявлення амітриптиліну проводять із використанням загальних ТШХ-систем, рекомендованих для речовин основного характеру, наприклад, метанол–амоній гідроксид

25 % розчин (100:1,5) ( $R_f$  0,51), етилацетат–метанол–25 % розчин амоній гідроксиду (85:10:5) ( $R_f$  0,69).

*Проявники:* кислота сульфатна концентрована, спостерігають оранжеве забарвлення; реактив Маркі — коричневе забарвлення; реактив Драгендорфа — оранжеве забарвлення; калій йодплатинату підкислений розчин — синьо-фіолетове забарвлення.

Проводять додаткову очистку «лужного» хлороформного екстракту (методи екстракції, ТШХ, ТФЕ, гель-хроматографії та ін.) та підтверджують наявність амітриптиліну за допомогою кольорових реакцій та фізико-хімічних методів.

- *Реакція з реактивом Манделіна* — спостерігають коричневе забарвлення, що переходить у зелене.

- *Реакція з реактивом Маркі* — спостерігають коричневе забарвлення, що переходить в оранжеве.

- *Реакція з кислотою сульфатною концентрованою* — спостерігають оранжеве забарвлення.

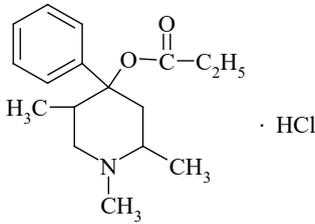
*Виявлення амітриптиліну за УФ- і ІЧ-спектрами.* Амітриптилін має максимум світлопоглинання у 0,1 М розчині кислоти хлоридної при 238 нм ( $A_{1\text{см}}^{1\%}$  365). В ІЧ-спектрах основні смуги абсорбції спостерігають при хвильових числах 756, 770, 746, 969, 1014, 1258  $\text{см}^{-1}$  (диск із калій бромідом).

*Хроматографічні методи.* Розроблено методики визначення амітриптиліну в біологічних об'єктах методами ВЕРХ з УФ-спектрофотометричним, МС-, МС/МС-детектуванням; ГРХ з нітроген-фосфорним та МС-детектуванням. Ідентифікацію проводять за параметрами утримування (час, об'єм та індекси утримування, коефіцієнт ємності колонки) та мас-спектрами при використанні МС-детектування. Запропоновано методику визначення амітриптиліну в плазмі крові методом капілярного зонного електрофорезу (КЗЕ).

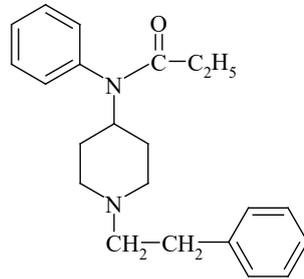
*Кількісне визначення амітриптиліну:* інструментальні методи — УФ-спектрофотометрія, екстракційна спектрофотометрія з кислотними барвниками (бромфеноловим синім або метиловим оранжевим), ГРХ, ВЕРХ, КЗЕ.

#### **6.8.4. СИНТЕТИЧНІ ОПОЇДИ**

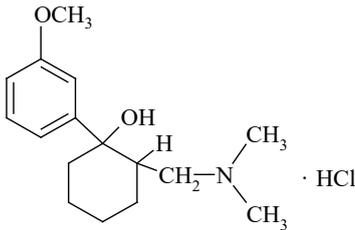
Синтетичні опіоїди використовують у медичній практиці як наркотичні анальгетики (промедол, фентаніл, трамадол, етоцин та ін.), деякі також у замісній терапії опіатної залежності (метадон).



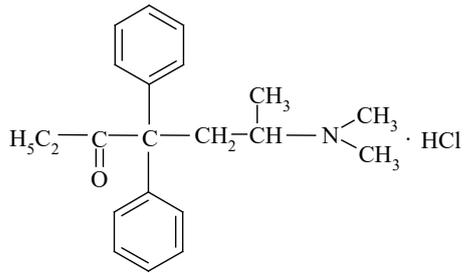
Промедол



Фентаніл



Трамадол



Метадон

### **Фізико-хімічні властивості та застосування**

*Промедол* — білий кристалічний порошок; легко розчиняється у воді, розчиняється в етанолі. Характеризується значною анальгезуючою активністю, хоч і поступається морфіну за силою в 2–4 рази та тривалістю дії. У порівнянні з морфіном, промедол менш пригнічує дихальний та блювотний центри. Застосовують при травмах та інших захворюваннях, що супроводжуються значними больовими відчуттями, в анестезіологічній практиці та у післяопераційний період.

*Фентаніл* — білий кристалічний порошок, практично не розчиняється у воді, легко розчиняється в етанолі. Виявляє сильну, але короточасну анальгезуючу дію, пригнічує дихальний центр. Застосовують головним чином для нейролептаналгезії в поєднанні з нейролептиками, разом із дроперідолом входить до складу комбінованого препарату «Таламонал».

*Трамадол* — білий кристалічний порошок, гіркий на смак, добре розчиняється у воді та етанолі. Має високу анальгезуючу активність, дає швидкий та довготривалий ефект, але поступається морфіну. Використовують при гострому та хронічному болях.

*Метадон* — білий кристалічний порошок, гіркий на смак, розчиняється у воді, етанолі, хлороформі, не розчиняється

в діетиловому етері. Застосовується у замісній терапії героїнової залежності, хоча його використання не є безсуперечним. Має високу наркотичну активність, яка за силою дії наближається до морфіну.

При використанні всіх наркотичних анальгетиків вирогідний розвиток звикання (послаблення дії) та хворобливої пристрасті.

Згідно з Переліком наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів, окремі похідні фентанілу (тіофентаніл, 2-метилфентаніл, ацетил- $\alpha$ -метилфентаніл та ін.) належать до особливо небезпечних наркотичних засобів, обіг яких заборонено (Таблиця I, Список №1). Промедол, фентаніл, трамадол, метадон відносять до наркотичних засобів, обіг яких обмежено (Таблиця II, Список №1).

**Поведінка в організмі.** Промедол метаболізує в організмі шляхом гідролізу та деметилювання з наступним утворенням глюкуронідів.

Фентаніл є ліпофільною речовиною, що швидко проникає крізь мембрани, рівномірно розподіляючись по всіх тканинах організму. Шляхи метаболізму фентанілу: відокремлення фенілалкільного замісника від атома нітрогену піперидинового циклу, гідроліз амідної групи, гідроксилування фенольного радикала з наступним утворенням глюкуронідів.

Трамадол піддається в організмі деметилюванню та гідроксилуванню. Гідроксильні похідні, що утворилися на I етапі метаболізму, утворюють кон'югати з кислотами глюкуроною та сульфатною.

Метадон метаболізує шляхом деметилювання з наступною циклізацією, гідроксилування фенольних радикалів, кон'югації продуктів першої фази метаболізму з кислотою глюкуроною. У вигляді метаболітів через 24 год виводиться близько 50 % дози метадону, що надійшла до організму; у нативному вигляді виводиться до 33 % метадону. Частина метадону виділяється з організму через ШКТ.

**Токсична дія, симптоми та лікування отруєнь** для синтетичних опіоїдів такі ж, як і для опіатів природного походження.

Для фентанілу зафіксована смертельна концентрація у крові, яка становила близько 27,5 мг/л; смертельний випадок було зареєстровано при прийомі 2 мг препарату.

Смертельні отруєння трамаделом зафіксовані при прийомі від 2 до 5 мг препарату. Явища інтоксикації спостерігались при концентрації трамадолу у крові 1 мг/л, а смертельні отруєння — при 25–27 мг/л.

Для метадону смертельні отруєння спостерігалися при прийомі до 50 мг препарату, але у випадках набутої толерантності смертельна доза може становити 200 мг і більше. Для осіб, які не зловживали наркотичними речовинами, токсична та смертельна концентрації метадону в крові становили 1–2 мг/л.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

*Об'єкти дослідження:* шлунок, кишечник, печінка, нирки, кров, сеча.

**Ізолювання** синтетичних опіоїдів з біологічного матеріалу можна проводити як з використанням підкисленої води (методи А.О. Васильєвої, В.П. Крамаренка), так і екстракцією підкисленим етанолом (метод Стаса—Отто) та ацетонітрилом. Зазначені речовини виявляють у «лужному» хлороформному екстракті.

#### **Виявлення та ідентифікація**

**ТШХ-скринінг.** Для виявлення опіоїдів рекомендовано використання загальних скринінгових ТШХ-систем та деяких спеціальних ТШХ-систем.

Промедол: етилацетат—етанол—25 % розчин амоній гідроксиду (85:10:2,5),  $R_f$  0,69.

Фентаніл: метанол—25 % розчин амоній гідроксиду (100:1,5),  $R_f$  0,70; циклогексан—толуен—дітиламін (75:15:10),  $R_f$  0,43.

Метадон: метанол—25 % розчин амоній гідроксиду (100:1,5),  $R_f$  0,48; циклогексан—толуен—дітиламін (75:15:10),  $R_f$  0,59.

Трамадол: толуен—етанол—дітиламін (90:10:10),  $R_f$  0,74; метанол—25 % розчин амоній гідроксиду (100:1,5),  $R_f$  0,55.

**Проявники.** Плями вказаних речовин на хроматографічних пластинах з флюоресцентним індикатором можливо детектувати опромінюванням в УФ-світлі ( $\lambda$  254 нм), при цьому спостерігається гасіння флюоресценції. При подальшій обробці пластин реактивом Драгендорфа плями набувають оранжевого кольору. Більш специфічними проявниками для зазначених речовин є такі реактиви: реактив Маркі — червоне забарвлення (промедол), розчин нінгідрину в кислоті сульфатній концентрованої з наступним нагріванням та промиванням водою (трамадол).

Для виявлення зазначених опіоїдів використовують такі реакції забарвлення:

- при додаванні *реактиву Маркі* промедол утворює червоно-пурпурове забарвлення; трамадол — брудно-коричневе, що переходить у брудно-зелене; метадон — рожево-червоне, що набуває інтенсивної флюоресценції при опроміненні УФ-світлом;

- при додаванні *кислоти сульфатної концентрованої* трамадол утворює яскраво-жовте забарвлення;
- при додаванні *реагенту Лібермана* метадон утворює оранжеве забарвлення;
- при додаванні *реагенту Манделіна* метадон утворює зелене забарвлення, що переходить у блакитне;
- при додаванні *реагенту Фреде* метадон утворює сірувато-коричневе забарвлення;
- при додаванні *кислоти лимонної 1 % розчину в оцтовому ангідриді* та наступному нагріванні фентаніл утворює червоно-фіолетове забарвлення.

*Ідентифікація за УФ-спектрами.* Промедол у 0,1 М розчині кислоти хлоридної має максимуми світлопоглинання при 251, 257, 263 нм; фентаніл у 0,1 М розчині кислоти хлоридної — при 251, 257, 263 нм; метадон у 0,1 М розчині кислоти хлоридної — при 253, 259, 264, 292 нм; трамадол у 0,1 М розчині кислоти хлоридної — при 272 нм.

Ідентифікацію синтетичних опіоїдів також проводять хроматографічними методами ГРХ, ГРХ-МС, ВЕРХ.

**Кількісне визначення:** *інструментальні* методи — УФ-спектрофотометрія, екстракційна спектрофотометрія з кислотними барвниками (метилловим оранжевим — для визначення промедолу, фентанілу, трамадолу; бромфеноловий синій або тропеолін 00 — для визначення промедолу), ГРХ, ВЕРХ.

### 6.8.5. АМФЕТАМІНИ

**Амфетаміни** — клас некатехоламінових похідних, які мають сильну стимулюючу дію на ЦНС і належать до симпатоміметиків. Деякі з них використовуються в медицині, а також у спорті як заборонені допінгові препарати і психомоторні стимулятори. Амфетаміни здатні викликати залежність та належать до контрольованих речовин. Згідно з Переліком наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів, широкий перелік амфетамінів належить до психотропних засобів, обіг яких заборонено або обмежено (Списки №2, відповідно, Таблиці I, II і III).

За хімічною будовою амфетаміни є похідними фенілалкіламінів. Існує декілька класифікацій фенілалкіламінів: за хімічною будовою, фармакологічною дією, джерелами отримання та походженням.

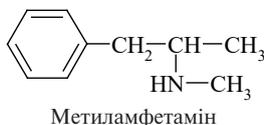
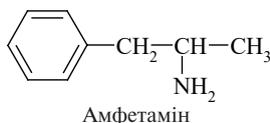
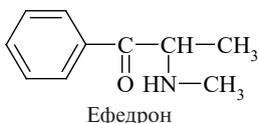
Фенілалкіламіни природного походження містяться, наприклад, у рослині каті їстівному (*Catha edulis*), що росте на півдні Аравійського півострова і у Східній Африці. Він проявляє

збуджувальну, стимулюючу дію, викликає ейфорію. Основними діючими речовинами, які входять до складу зазначеної рослини, є алкалоїди *катин* і *катинон*.

*Ефедра* (*Ephedra herba*) — загальне позначення для всіх видів рослин, які містять алкалоїд *ефедрин*, використовують у Китаї вже більше 5000 років при лихоманці, кашлі, для підвищення працездатності. Галюциногенний алкалоїд *мескалін* виділяють з кактуса пейот (*Lophophora williamsii*), який росте у Північній Мексиці. Вживання разової дози мескаліну викликає галюцинації, загострення чутливості.

Синтетичні амфетаміни складають значну частину наркотиків у незаконному обігу на території Західної Європи, вони підрозділяються:

- на амфетаміни;
- метамфетаміни (метиламфетамін);
- похідні амфетаміну, метоксизаміщені по бензольному кільцю;
- метилендіоксипохідні амфетаміну:



Поширення набули близько 20 похідних амфетаміну і метамфетаміну.

**Фізико-хімічні властивості.** За хімічними властивостями амфетаміни належать до речовин основного характеру. У вигляді основ вказані сполуки (крім ефедрину) є оліїстими малолеткими рідинами. Солі з кислотою хлоридною і сульфатною — білі або злегка кремуватого кольору порошки (кристали), легко розчинні в гідрофільних та гідроліпофільних розчинниках (воді, етанолі, метанолі) і практично нерозчинні в ліпофільних (хлороформі, етері) розчинниках.

Речовини є оптично активними. Розрізняють лівообертаючі (*L*), рацемати (*L*, *D*) і правообертаючі (*D*) ізомери, які відрізняються формою кристалів, розчинністю і температурою плавлення. УФ-спектри амфетамінів у водно-кислому середовищі

мають тонку коливальну структуру, характерну для бензольного поглинання.

Амфетаміни є психомоторними стимуляторами, викликають прискорене серцебиття, стимулюють дихання, активізують моторну діяльність, знижують апетит і потребу у сні, знімають втому, піднімають настрій. Фізіологічні симптоми: розширення зіниць, підвищення артеріального тиску, прискорений пульс, інколи тремтіння.

*Ефедрин* —  $\alpha$ -,  $\beta$ -адреностимулятор, викликає звуження судин, підвищує артеріальний тиск. Входить до складу комбінованих препаратів.

*Ефедрон* — продукт окиснення ефедрину. Зловживання цією речовиною має назву «ефедронові наркоманії».

*Амфетамін* — психостимулятор, який був синтезований як аналог ефедрину. Входить до складу антидоту для фосфорорганічних речовин з армійської індивідуальної аптечки «А-1» («Афін»). Препарат «Фенамін» використовується для лікування нарколепсії, астенії, депресії, апатії, сонливості.

*Метамфетамін* з немедичними цілями використовується шляхом внутрішньовенного або внутрішньом'язового введення, перорально, вдихання пари після змішування з марихуаною, тютюном. Найбільш небезпечною формою є «ісе» (лід) — кристалічна форма метамфетаміну гідрохлориду.

*Метилендіоксиамфетамін (МДА)* є одним із перших синтетичних амфетамінів. Значне поширення в незаконному обігу наркотиків МДА набув в Америці в кінці 60-х — на початку 70-х років.

*Метилендіоксиметамфетамін (МДМА)* у незаконному обігу наркотиків з'явився під назвою «екстазі» в кінці 1970-х років.

**Токсична дія.** Тривале вживання препаратів, що містять амфетаміни, призводить до порушення серцевої діяльності, кровообігу, підвищення агресивності (психози), а також ураження печінки, нирок і нервової системи. Вживання амфетамінів, що знаходяться в незаконному обігу, часто призводить до виникнення неврологічних захворювань. Існує великий ризик інтоксикації наявними домішками, передозування і летального отруєння. Крім того, у споживачів амфетамінів висока схильність до суїциду. Ці препарати провокують великі витрати енергії, викликаючи перевтому. Внаслідок обумовленого амфетамінами порушення об'єктивної оцінки власного стану пацієнт може ігнорувати небезпечні наслідки втоми і подальше погіршення фізичного стану.

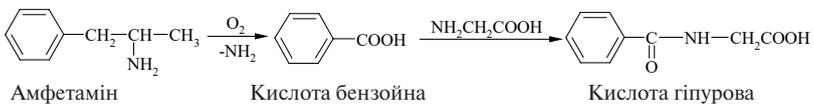
Також із несприятливих наслідків вживання препаратів є занепокоєння, стійка депресія, постійні галюцинації, збільшується вірогідність інсульту, гіпертонії, аритмії.

Летальні дози амфетаміну та метамфетаміну значною мірою залежать від індивідуальних особливостей організму. Відомі випадки летального отруєння як від вживання *per os* 1,5 мг/кг метамфетаміну, так і 28 мг/кг. Смерть від передозування у толерантних пацієнтів настає рідко, внутрішньовенна доза може досягати 5 г зазначених речовин.

**Поведінка в організмі та метаболізм.** Усі амфетаміни швидко всмоктуються в шлунково-кишковому тракті після перорального введення, максимальна концентрація в крові досягається через 2–3 год. За 24 год виводиться з сечею 70–90 % речовин, повністю вони екскретують за 2–3 дні.

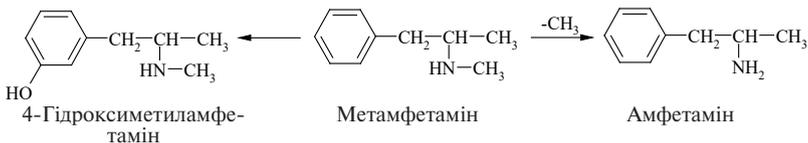
Значення рН істотно впливає на метаболізм і період напіввиведення з плазми крові: при кислому значенні спостерігається максимальний вихід речовини в незміненому стані зі збільшенням періоду напіввиведення; при лужному значенні збільшується відсоток метаболітів і знижується період напіввиведення.

Амфетамін у незміненому вигляді екскретується з сечею лише на 30 %. Як його метаболіти визначають кислоту гіппурову, бензоглюкуронід, 4-гідроксиметамфетамін, норепедрин.

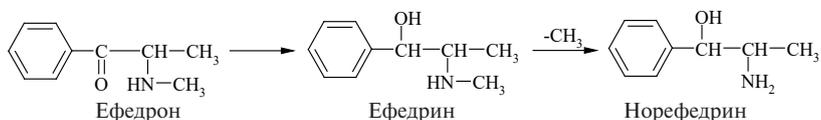


Метамфетамін у незміненому вигляді з сечею виділяється у кількості, близькій до 45 %.

Основні метаболіти метамфетаміну: амфетамін, 4-гідроксиметамфетамін.



Ефедрон у незміненому вигляді виділяється у кількості 20–30 % протягом 12–16 год. Основний його метаболіт — ефедрин (50–60 %), який можна виявити через 24–36 год після вживання. Присутні також невеликі кількості норепедрину і невстановленого метаболіту.



**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** При гострому отруєнні амфетаминами доцільне промивання шлунка з подальшою інстиляцією через трубку активованого вугілля та невідкладна дегідратація (діурез з використанням манітолу).

### Хіміко-токсикологічний аналіз

**Ізолювання.** При ізолюванні амфетамінів з біологічних об'єктів за допомогою загальних методів зазначені речовини екстрагуються хлороформом з лужних водних (водно-етанольних) витяжок і їх виявляють у «лужному» хлороформному екстракті. При направленому токсикологічному дослідженні амфетаміни екстрагують з водних (водно-етанольних) витяжок діетиловим етером або хлороформом при рН 12.

#### Виявлення та ідентифікація

**ТШХ-скринінг.** Його проводять із використанням загальних та спеціальних ТШХ-систем: хлороформ–діоксан–ацетон–25 % розчин амоній гідроксиду (45:47,5:5:2,5), метанол–25 % розчин амоній гідроксиду (100:1,5) ( $R_f$  амфетаміну становить 0,43,  $R_f$  метамфетаміну — 0,31), бензен–етанол–діетиламін (9:1:1) ( $R_f$  ефедрону — 0,41,  $R_f$  метамфетаміну — 0,42).

**Проявники:** реактив Драгендорфа (коричнево-оранжеві плями), розчин нінгідрину в ацетоні (*n*-бутанолі) (ефедрон виявляється у вигляді плям синьо-фіолетового кольору, амфетамін — блакитного, метамфетамін — жовто-коричневого).

Із загальноосадовими реактивами амфетаміни утворюють аморфні осадки. Ефедрин утворює кристалічні осадки з реактивом Драгендорфа, з кислотою платинохлоридною та калій йодидом.

#### Реакції забарвлення

- **Реакція з реактивом Маркі** — при наявності амфетаміну спостерігають оранжеве забарвлення, яке поступово перетворюється в коричневе. За наявності метамфетаміну утворюється жовто-зелене забарвлення.

- **Реакція з нінгідрином** — при взаємодії з ефедроном утворюється фіолетове забарвлення, амфетаміном — рожево-оранжеве, метамфетаміном — зелене.

**Виявлення за УФ-спектрами.** Амфетамін і метамфетамін у 0,1 М розчині кислоти хлоридної мають три смуги світлопоглинання при 251, 257 і 263 нм. В УФ-спектрі

ефедруну виявляється одна смуга з максимумом при довжині хвилі 251 нм.

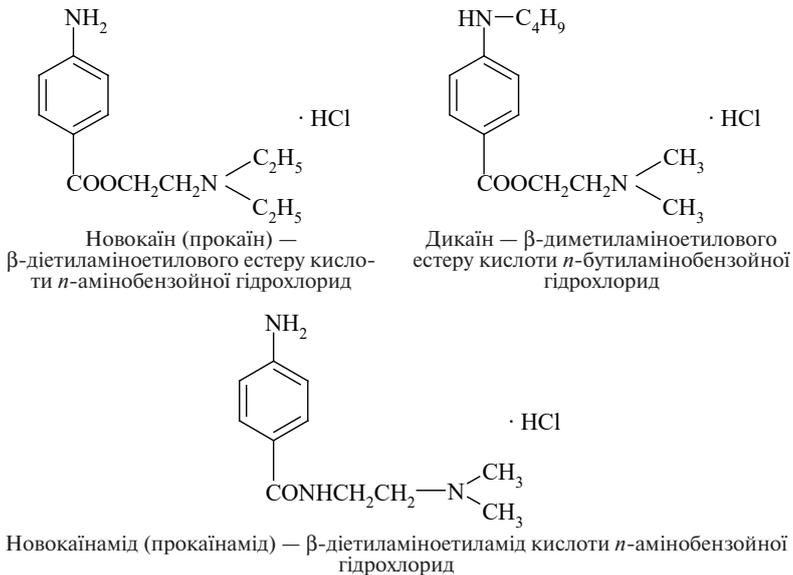
Для ідентифікації амфетамінів використовують ВЕРХ, ГРХ.

**Кількісне визначення** амфетамінів у біологічних об'єктах проводять із використанням фізико-хімічних методів: УФ-спектрофотометрії, екстракційної спектрофотометрії з кислотними барвниками, наприклад, ефедрину — з бромкрезоловим зеленим або еозином; ВЕРХ, ГРХ.

### 6.8.6. ПОХІДНІ КИСЛОТИ *n*-АМІНОБЕНЗОЙНОЇ

Лікарські препарати, що належать до похідних *n*-амінобензойної кислоти (ПАБК) (новокаїн, новокаїнамід, дикаїн та ін.) широко застосовуються в медичній практиці та проявляють токсичні ефекти, що обумовлює їх хіміко-токсикологічне значення.

Хімічна будова деяких похідних кислоти *n*-амінобензойної:



**Фізико-хімічні властивості.** Препарати мають основні властивості. Значення величин рКа становлять 4,6 (аміногрупа) і 9,24 (третинний атом нітрогену).

**Новокаїн** — це білий кристалічний порошок без запаху. Розчиняється у воді (1:1), етанолі (1:15), мало розчиняється в діетиловому етері та хлороформі. Новокаїн екстрагується органічними розчинниками з лужних водних розчинів.

*Дикаїн* є гідрохлоридом  $\beta$ -диметиламіноетилового естеру кислоти *n*-бутиламінобензойної. Це білий кристалічний порошок, який розчиняється у воді (1:8), хлороформі (1:22), етанолі (1:40), не розчиняється в діетиловому етері.

Основи похідних ПАБК максимально екстрагуються з водних розчинів органічними розчинниками (діетиловий етер, хлороформ) при рН 11.

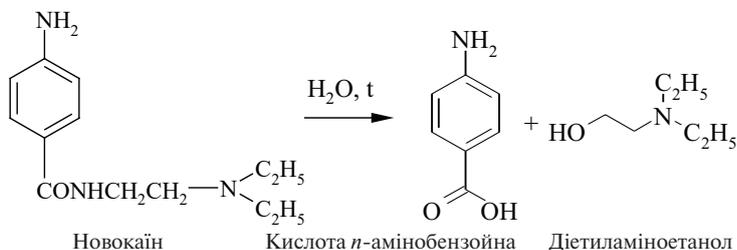
**Застосування.** Новокаїн і дикаїн проявляють місцевоанестезуючу дію.

Новокаїн після всмоктування в кров знижує збудливість периферичних холінореактивних систем, при цьому спостерігається зменшення спазмів гладкої мускулатури, зниження збудливості м'яза серця і деяких відділів головного мозку.

Дикаїн застосовується для анестезії горла при інтубації, при бронхографії, в офтальмології.

Новокаїнамід характеризується здатністю знижувати збудливість і провідність серцевого м'яза і застосовується як антиаритмічний засіб.

**Поведінка в організмі та метаболізм.** Новокаїн використовується в медицині в основному у вигляді ін'єкцій. Потрапляючи в кров, він швидко гідролізується до кислоти *n*-амінобензойної і діетиламіноетанолу:

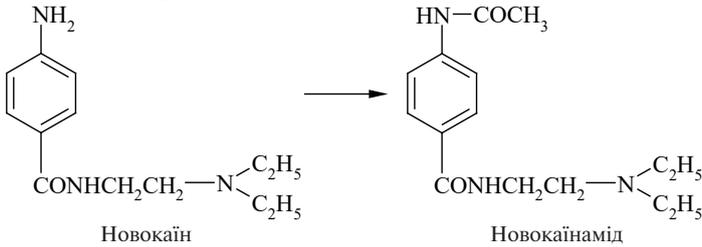


Тільки 2 % від введеної внутрішньовенно дози новокаїну виводиться в незмінному стані протягом перших 24 год, а 90 % виводиться у вигляді кислоти *n*-амінобензойної, яка виявляється в крові у вільній та кон'югованій формах. Діетиламіноетанол у вільному стані виводиться приблизно на 33 %, решта метаболізує далі.

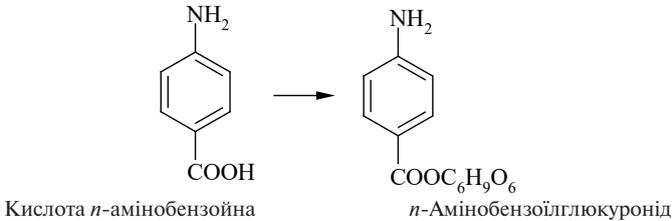
Дикаїн в організмі метаболізує з утворенням кислоти *n*-амінобензойної.

Новокаїнамід при оральному введенні швидко майже цілком абсорбується з травного тракту. Максимальна концентрація сполуки в плазмі крові людини виявляється через 15–60 хв після введення. Тільки 14 % від загального вмісту новокаїнаміду

в крові знаходиться в 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 з сечею за 24 год у незміненому стані). Основним метаболітом є *N*-ацетилновокаїнамід, який є фармакологічно активним і може бути присутнім у плазмі в більш високих концентраціях, ніж нативна сполука.



Близько 2–10 % новокаїнаміду метаболізує до кислоти *n*-амінобензойної, яка виявляється як у вільній, так і в кон'югованій формі:



**Токсична дія та симптоми отруєння.** Токсична дія похідних кислоти *n*-амінобензойної характеризується нервово-психічними і серцево-судинними розладами.

У терапевтичних дозах препарати викликають алергічні ускладнення (висипи на шкірі), запаморочення, диспепсичні явища, набряк шкіри, слизових оболонок, бронхоспазм.

У токсичних дозах препарати викликають порушення, а потім параліч центральної нервової системи. Клінічна картина характеризується психомоторним порушенням, клоніко-тонічними судомами, втратою свідомості, зниженням артеріального тиску, брадикардією. За токсичністю дикаїн перевершує новокаїн (летальна доза становить 1 г) і новокаїнамід (летальна доза — 1,5 г).

**Невідкладна допомога та лікування отруєнь.** При передозуванні місцевими анестетиками потерпілому призначають активоване вугілля. При надходженні великої кількості токсичної речовини *per os* розглядають доцільність використання промивання

шлунка. При масованому передозуванні лідокаїном проводять переливання крові (лідокаїн має середні величини значень об'єму розподілу), яке особливо показано при порушенні кровообігу та захворюванні печінки.

### Хіміко-токсикологічний аналіз

*Об'єкти дослідження:* печінка, нирки, кров, сеча.

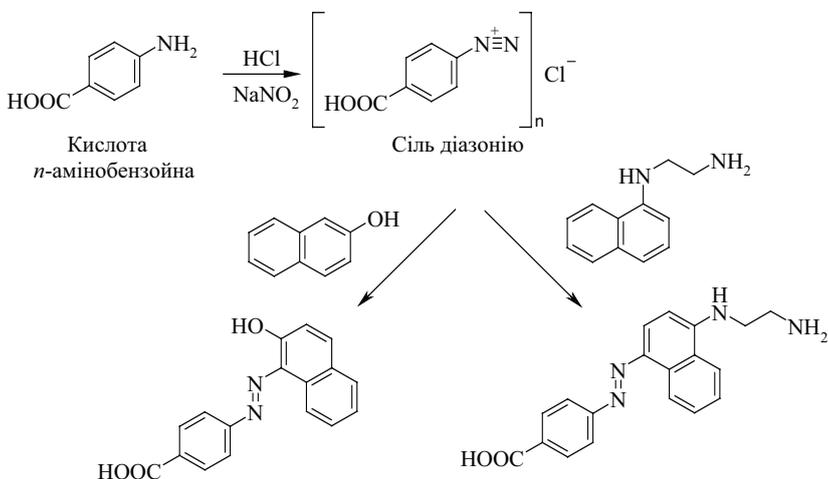
**Ізолювання** препаратів, похідних кислоти *n*-амінобензойної з біологічних об'єктів (тканин органів) проводиться водою, підкисленою до рН 2–3 кислотою хлоридною, при цьому солі препаратів добре розчиняються у вказаному полярному розчиннику. З водної фази препарати у вигляді основ екстрагують хлороформом при рН 11 (підлогування водної фази проводять розчином натрій гідроксиду). При цьому більшість співекстрактивних речовин з біологічного матеріалу залишається у водній фазі.

#### Виявлення та ідентифікація

**ТІІХ-скринінг.** У рухомій фазі хлороформ–діоксан–ацетон–25 % розчин амоній гідроксиду (47,5:45:5:2,5) похідні ПАБК мають значення  $R_f$  в інтервалі 0,63–0,83. Для проявлення речовин на пластинках використовують реактив Драгендорфа за Мун'є (оранжево-коричневі плями) або ідентифікують за реакцією утворення азобарвника з  $\beta$ -нафтолом (оранжеві плями).

#### Виявлення новокаїну

• **Реакція утворення азобарвника** — при реакції утворення азобарвника з  $\beta$ -нафтолом спостерігають червоно-оранжеве забарвлення, з *N*- $\alpha$ -нафтилетилендіаміном — рожево-бузкове забарвлення:



Реакція чутлива, неспецифічна (характерна для новокаїну і новокаїнаміду).

- *Реакція з розчином кислоти цитратної в оцтовому ангідриді при нагріванні* — поява червоного або пурпурового забарвлення свідчить про наявність новокаїну в пробі. Цю реакцію дають третинні аміни та їх солі, серед яких є й деякі алкалоїди.

- *Реакція з реактивом Драгендорфа* — при взаємодії новокаїну з реактивом Драгендорфа утворюється кристалічний осад, який складається з прямокутних пластинок червоно-бурого кольору.

#### **Виявлення дикаїну**

- *Реакція Віталі–Морена* — при нагріванні дикаїну з кислотою нітратною утворюється осад жовтого кольору, при додаванні до нього спиртового розчину луку виникає червоне забарвлення.

- *Реакція з натрій нітритом* — при додаванні до екстракту, що містить дикаїн, 30 %-го розчину натрій нітриту утворюється осад, який має вигляд призми, роздвоєних на кінцях.

- *Реакція з натрій нітритом і β-нафтолом* — дикаїн із цими реактивами утворює білий осад (при цьому забарвлення не спостерігається).

Ця реакція дає змогу відрізнити дикаїн від новокаїну. Дикаїн відрізняється від новокаїну характером аміногруп і боковими ланцюгами, сполученими з бензеновим кільцем. Новокаїн має первинну, а дикаїн — вторинну аміно-групи. При взаємодії новокаїну з нітритами утворюється сіль діазонію, яка дає з β-нафтолом забарвлену діазосполуку. Вторинна аміно-група дикаїну утворює з нітритами не сіль діазонію, а нітросполуку, яка при взаємодії з β-нафтолом не утворює забарвлення.

Для підтвердження наявності похідних кислоти *n*-амінобензойної використовують фізико-хімічні методи аналізу: УФ-спектрофотометрію, ІЧ-спектроскопію, ГРХ, ВЕРХ.

*Виявлення новокаїну за УФ- і ІЧ-спектрами.* Водний розчин новокаїну має максимум поглинання при 290 нм. Новокаїн у 0,1 М розчині кислоти сульфатної має максимуми поглинання при 228, 272 і 279 нм. В ІЧ-ділянці спектра новокаїн (диск із калій бромідом) має основні смуги при 1274, 1605 і 1690 см<sup>-1</sup>.

*Виявлення дикаїну за УФ- і ІЧ-спектрами.* Дикаїн у 0,05 М розчині кислоти сульфатної має максимуми поглинання при 229, 281 і 312 нм. В ІЧ-ділянці спектра основа дикаїну (диск із калій бромідом) має основні смуги при 1598, 1270 і 1166 см<sup>-1</sup>.

**Кількісне визначення** похідних ПАБК при токсикологічних дослідженнях проводять з використанням

УФ-спектрофотометрії, спектрофотометрії в видимій області спектра (або фотоколориметрії) за реакцією утворення азобарвника, екстракційної спектрофотометрії (фотоелектроколориметрії) на основі реакції з кислотним барвником метиловим оранжевим, хроматографічних методів (ГРХ, ВЕРХ).

## 6.9. ТЕРАПЕВТИЧНИЙ ЛІКАРСЬКИЙ МОНІТОРИНГ

Одним із напрямків клінічної токсикології є терапевтичний лікарський моніторинг (ТЛМ). Клінічна токсикологія розглядає всі аспекти діагностики та лікування різних отруень, які базуються як на оцінці симптомів, що виявлені при обстеженні пацієнта, так і на результатах дослідження зразків біологічних проб хворого на вміст токсичних речовин. Одним із завдань ТЛМ є запобігання інтоксикацій лікарськими препаратами.

Так, терапевтичний лікарський моніторинг часто застосовується під час лікування препаратами, які мають вузький терапевтичний індекс, з метою уникнення або, принаймні, зведення до мінімуму побічних ефектів або більш небезпечних токсичних ефектів. Крім того, генетичні особливості фармакокінетики (всмоктування, розподіл, метаболізм та екскреція препаратів), що зумовлюють варіабельність рівня лікарського засобу в плазмі крові у різних хворих при введенні їм аналогічної дози, в окремих випадках потребує визначення індивідуальної дози лікарського препарату, яка нерідко виходить за рамки загальноприйнятої. Для деяких препаратів призначення так званих середніх доз, без урахування знання концентрації препарату в крові, може призвести до непередбачуваних наслідків.

В основу терапевтичного лікарського моніторингу покладено основний фармакологічний постулат, що не доза, а концентрація препарату в крові визначає його дію. ТЛМ передбачає вимірювання концентрації лікарського препарату в крові в різні проміжки часу після введення до організму з метою визначення відповідності її терапевтичному діапазону і оптимізації режиму дозування.

У розвинених країнах світу ТЛМ набув практичного застосування з середини 1970-х років, але його об'єктивна наукова основа була закладена в 1940-х роках, коли Marshall вперше висловив концепцію про те, що активність препарату залежить від його концентрації в плазмі крові. У 1960 р. Buchthal показав взаємозв'язок між контролем нападів і концентрацією

в плазмі фенітоїну у хворих, які проходили лікування від епілепсії. Baastrup і Schou (1967 р.) описали кореляцію між концентрацією в плазмі і фармакологічним ефектом для сполук літію.

Терапевтичний лікарський моніторинг все більше привертає увагу медичної спільноти в усьому світі. На необхідності ТЛМ наголосила 55-та сесія Всесвітньої асамблеї охорони здоров'я (2002 р.), яка прийняла резолюцію, що зобов'язує країни приділяти пильну увагу питанням безпеки пацієнтів з використанням фармакокінетичних показників. Існує так званий міжнародний список лікарських препаратів, на які слід звертати особливу увагу при плануванні ТЛМ або визначенні біоеквівалентності генеричного засобу. До них відносять протиепілептичні лікарські препарати (карбамазепін, етосуксимід, фенобарбітал, фенітоїн, примідон, кислота вальпроєва), антиаритмічні (дигітоксин, дигоксин, дезопірамід, лідокаїн, прокаїнамід, хінідин), антидепресанти (ТЦА, препарати літію), антибіотики (амікацин, гентаміцин, нетилміцин, тобраміцин, ванкоміцин), протипухлинні (метотрексат), бронхолітики (кофеїн, теофілін), імунодепресанти (циклоспорин, еверолімус, кислота мікофенолова, сиролімус, такролімус).

Для проведення ТЛМ, особливо розрахунку дози та інтерпретації результатів вимірювання концентрації лікарського препарату, необхідно визначити деякі фармакокінетичні параметри: біодоступність ( $F$ ), максимальну концентрацію ( $C_{\max}$ ) та час її наростання ( $T_{\max}$ ) у крові, період напіввиведення ( $T_{1/2}$ ), рівноважну концентрацію ( $C_{ss}$ ), об'єм розподілу ( $Vd$ ), кліренс ( $Cl$ ).

Як біологічні зразки для ТЛМ можуть бути плазма (сироватка), кров, сеча, слина і волосся. Плазма (або сироватка) крові є найбільш розповсюдженим об'єктом для терапевтичного лікарського моніторингу. Але відбір такого біологічного зразка вимагає інвазивної процедури (прокол вени), що є недоліком використання вказаних об'єктів, особливо для такого специфічного контингенту хворих, як діти чи люди похилого віку.

Плазма містить значну кількість протеїнів, і багато лікарських препаратів, важливих щодо ТЛМ (наприклад, фенітоїн, вальпроати), показують значне зв'язування з білками плазми. Таким чином, загальна (вільна та зв'язана з білками плазми) концентрація лікарського засобу в плазмі залежить від концентрації білка. Фармакологічну активність виявляє лише вільна фракція (при цьому терапевтичний індекс враховує як зв'язану з білком, так і вільну фракції лікарського засобу). Для ТЛМ при визначенні

концентрації незв'язаного з білком препарату використовують ультрафільтрацію плазми *in vitro* шляхом центрифугування крізь відповідні фільтри або рівноважного діалізу крізь напівпроникнені мембрани. Проводять також відбір зразків ультрафільтратів плазми *in vivo*.

Деякі препарати (наприклад, окремі імунодепресанти) зосереджені в еритроцитах, у цьому випадку цільна кров, оброблена відповідним антикоагулянтом, наприклад ЕДТА, є більш прийнятним біологічним об'єктом, ніж плазма.

Дослідження волосся дає уявлення про концентрацію лікарського засобу протягом тижнів або місяців, які передували відбору проби. Це може бути особливо важливим для експертизи з приводу вживання наркотичних і психотропних засобів, і менше пов'язано з розробкою індивідуальної схеми терапії.

На сьогодні найбільш широке застосування для рутинного ТЛМ знайшли три методи аналізу: газова хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія та імунохімічні методи. Швидко набувають популярності тандемні методи з мас-спектрометричним детектуванням.

ТЛМ сполук літію найчастіше проводять за допомогою методів атомно-абсорбційної та полуменево-емісійної спектрометрії, хоча електрохімічний метод із використанням іон-селективних електродів все більше витісняє спектрометричні методи. Для ТЛМ антибіотиків все ще широко використовують біологічні методи, але вони недостатньо специфічні для комбінованих препаратів, є експресними та трудомісткими.

ВЕРХ-МС/МС є оптимальним аналітичним методом завдяки експресності, гнучкості, специфічності, низьким значенням межі виявлення (визначення). Нині методики хромато-мас-спектрометричного визначення «слідів» лікарських речовин у біологічних субстратах розроблені для великої кількості препаратів. Так, застосування тандемної мас-спектрометрії дозволило проводити терапевтичний лікарський моніторинг скополаміну при нашкірних аплікаціях, діапазон концентрацій препарату становив 56–245 пг/мл.

Здійснення ТЛМ є спільною роботою клінічних фармакологів, лікарів та клінічних токсикологів (клінічних хіміків). ТЛМ є ефективним лише у тому випадку, коли забезпечене якісне визначення концентрації препаратів у крові, адекватний вибір терміну забору зразків крові, застосування статистичних методів розрахунку, ретельне ведення документації.

## РОЗДІЛ 7

### АНАЛІТИЧНА ДІАГНОСТИКА ОТРУЄНЬ ТОКСИЧНИМИ ГАЗАМИ

#### 7.1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЧАДНОГО ГАЗУ

*Чадний газ (карбон(II) оксид)* зустрічається скрізь, де існують умови для неповного згоряння карбоновмісних сполук; він широко застосовується в сучасному промисловому органічному синтезі як одна з вихідних сполук. Утворюється чадний газ у великих кількостях при пожежах, при згорянні абсолютної більшості полімерів. Він входить до складу багатьох промислових газів — доменного, генераторного, коксового.

Отруєння чадним газом посідає одне з перших місць серед інгалаційних отруєнь; карбон(II) оксид часто викликає дуже тяжкі отруєння — він не має специфічних органолептичних ознак, завдяки чому довгий час людина взагалі не відчуває, що вдихає чадний газ.

**Фізичні властивості.** Карбон(II) оксид — безбарвна речовина, без запаху та смаку. М.м. = 28,01 г/моль,  $\rho = 0,814$  (при 195 °С),  $t_{\text{кип.}}$  — 191,5 °С. У воді майже нерозчинний (0,0026 г/100 мл), горить синім полум'ям з утворенням карбон(IV) оксиду та виділенням тепла. Суміш карбон(II) оксиду з повітрям є вибухонебезпечною при вмісті CO понад 16 %.

ГДК карбон(II) оксиду у повітрі робочих приміщень становить 20 мг/м<sup>3</sup>.

**Шляхи надходження до організму:** виключно через органи дихання.

**Токсична дія на організм.** При вдиханні повітря з концентрацією в ньому CO понад  $3 \cdot 10^{-3}$  г/л протягом 1 год проявляється токсичний ефект. В основі механізму токсичної дії лежить утворення дуже стійкої сполуки гемоглобіну з карбон(II) оксидом — карбоксигемоглобіну яскраво-червоного кольору, який нездатний переносити кисень, внаслідок чого виникає гіпоксія, що має гемічний (транспортний) характер. Додатково карбон(II) оксид взаємодіє з тканинним дихальним ферментом, що містить іони

Fe<sup>2+</sup>. Вивільнення СО з цього комплексу проходить дуже повільно, що викликає порушення тканинного дихання і окиснювально-відновних процесів у клітинах. Отже гіпоксія має також частково тканинний характер. У свою чергу, внаслідок гіпоксії страждають усі органи. Таким чином, хоча чадний газ і належить до групи кров'яних отрут, за своїми ефектами він є токсичною речовиною загальної дії.

Залежно від ступеня зв'язування карбон(II) оксиду з гемоглобіном (тобто від частки карбоксигемоглобіну від загального гемоглобіну крові) виділяють такі ступені отруєння чадним газом:

*легкий (10–30 %)* — у постраждалих не відмічається втрати свідомості, з'являється характерний головний біль, прискорений пульс та частота дихання, загальна слабкість, нудота, гіперемія шкіри;

*середній (30–50 %)* — різкий головний біль, туман перед очима, блювота, розлади дихання та функцій серцево-судинної системи, часто колапс;

*тяжкий (50–70 %)* — підвищення температури тіла, судоми, розлад дихання, втрата свідомості, кома, рожеві плями на шкірі.

При вмісті карбоксигемоглобіну в гемоглобіні крові понад 70 % смерть постраждалого може настати менше ніж за годину.

Тим не менш, суворої відповідності між вмістом карбоксигемоглобіну в крові та ступенем інтоксикації не спостерігається, тому робити висновок про тяжкість отруєння за його вмістом у крові можна лише орієнтовно.

При посмертному знаходженні людей у зоні з підвищеною концентрацією чадного газу можливе посмертне утворення карбоксигемоглобіну, яке не перевищує 20 %. У таких випадках важливим є встановлення дійсної причини смерті.

***Перша допомога та детоксикація при отруєнні чадним газом.*** Зв'язок гемоглобіну з СО має оборотний характер. З припиненням доступу чадного газу до організму відбувається швидка елімінація токсиканта. Лікування потрібно розпочинати терміново — постраждалого винести на свіже повітря, зробити штучне дихання, стимулювати дихання за допомогою амоніаку, дати кисневу маску.

Детоксикація організму при отруєннях карбон(II) оксидом включає гіпербаричну оксигенацію (при вмісті карбоксигемоглобіну в гемоглобіні крові понад 25 %) та внутрішньовенне введення метиленового синього (50–100 мл 1 % водного розчину або 1 % розчину на 25 % розчині глюкози).

**Профілактика отруєнь.** Робота в приміщеннях із достатнім рівнем вентиляції; при концентрації чадного газу у повітрі, вищій за допустиму, працювати необхідно у спеціальних респіраторах та протигазах.

## 7.2. ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ НА ВМІСТ ЧАДНОГО ГАЗУ

Чадний газ належить до токсичних речовин, які можна виявити і кількісно визначити безпосередньо в біологічному матеріалі.

Виявлення певних критичних кількостей карбоксигемоглобіну в крові є доказом отруєння карбон(II) оксидом. Для виявлення та кількісного визначення карбоксигемоглобіну в крові застосовують хімічні, оптичні (спектроскопія, спектрофотометрія), хроматографічні (газова хроматографія) та деякі інші методи аналізу (метод мікродифузії).

*Об'єкт дослідження:* кров.

### 7.2.1. ХІМІЧНІ МЕТОДИ ВІЯВЛЕННЯ КАРБОКСИГЕМОГЛОБІНУ

Хімічні методи виявлення карбоксигемоглобіну в крові ґрунтуються на тому, що визначувана сполука є досить стійкою, і тому гемоглобін, що міститься в її складі, не здатний вступати в реакції з низкою сполук, які реагують з вільним гемоглобіном. У ході виявлення порівнюють забарвлення зразків крові, що відповідно містять та не містять карбоксигемоглобін, після додавання до них відповідних реагентів (табл. 7.1).

Таблиця 7.1

#### Реакції виявлення карбоксигемоглобіну в крові

Назва проби	Реагент	Забарвлення крові, що містить НЬСО	Забарвлення крові за відсутності НЬСО
1	2	3	4
Залеського	10 % розчин $\text{CuSO}_4$	Пурпурно-червоне	Зелене
Кункеля-Ветцеля	3 % розчин таніну	Карміново-червоний осад	Сірувато-коричневий осад
Бюркера	1 % розчин $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	Червоне	Жовте
Гоппе-Зейлера	30 % розчин $\text{NaOH}$	Яскраво-червоне	Буре
Сальковсько-Катаями	$(\text{NH}_4)_2\text{S}$ + 30 % розчин $\text{CH}_3\text{COOH}$	Малиново-червоне	Сіро-зелене

1	2	3	4
Хорошкевича–Маркса	8 % розчин хініну гідрохлориду $\rightarrow t^{\circ} + (NH_4)_2S$	Світло-червоне	Червоно-буре
Сидорова	0,01 % розчин $K_2Cr_2O_7$ + 20 % розчин $K_3[Fe(CN)_6]$	Карміново-червоне	Коричнево-зелене
Рубнера	5 % розчин $Pb(CH_3COO)_2$	Червоне	Коричневе
Лібмана	40 % розчин формальдегіду	Червоне	Коричнево-чорне
Ветцеля	20 % розчин $K_3[Fe(CN)_6]$ + $CH_3COOH$ льодяної	Вишнево-червоний осад	Сірувато-коричневий осад

Кров, що містить карбоксигемоглобін, після додавання зазначених реагентів не змінює або майже не змінює забарвлення, в той час як кров за його відсутності під впливом тих самих реагентів контрастно змінює своє забарвлення. При виконанні будь-якої з наведених реакцій на наявність карбоксигемоглобіну паралельно виконують два досліди. Для виконання першого досліду беруть донорську кров, а для другого — аналізований зразок крові людини, що отруїлася карбон(II) оксидом. До обох зразків крові додають однакові об'єми реагентів і спостерігають зміни, що відбуваються в обох зразках. Результати реакцій наведено в таблиці 7.1.

Висновок про наявність карбоксигемоглобіну не повинен ґрунтуватися на результаті тільки однієї з зазначених вище реакцій, а тільки на позитивних результатах більшості з них.

При отруєнні карбон(II) оксидом легкого ступеня в крові міститься лише незначна кількість карбоксигемоглобіну. Відносно більша кількість гемоглобіну в крові при легких отруєннях не зв'язана з карбон(II) оксидом і може маскувати результати реакцій виявлення. У зв'язку з цим кров, що містить незначні кількості карбоксигемоглобіну, із зазначеними реагентами буде давати такі ж самі візуальні ефекти, які дає кров без карбоксигемоглобіну.

Таким чином, вищезазначені реакції придатні для виявлення відносно великих кількостей карбоксигемоглобіну в крові, а при його незначному вмісті можна отримати хибнонегативний результат.

## 7.2.2. ОПТИЧНІ МЕТОДИ ВИЯВЛЕННЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КАРБОКСИГЕМОГЛОБІНУ

У крові здорової людини гемоглобін знаходиться у вигляді дезоксигемоглобіну (Hb), оксигемоглобіну ( $HbO_2$ ), карбгемоглобіну ( $HbCO_2$ ), а також певної кількості метгемоглобіну (MtHb).

З оксигемоглобіном та дезоксигемоглобіном карбон(II) оксид в організмі може утворювати карбоксигемоглобін, метгемоглобін з карбон(II) оксидом не зв'язується.

При отруєнні чадним газом смерть настає значно раніше, ніж відбувається повне перетворення гемоглобіну на карбоксигемоглобін. Тому в крові людей, які отруїлися карбон(II) оксидом, одночасно присутні карбоксигемоглобін ( $\text{HbCO}$ ) і всі зазначені вище форми гемоглобіну.

Усі згадані сполуки гемоглобіну в області довжин хвиль 450–620 нм мають характерні спектри поглинання.

Спектр оксигемоглобіну містить дві смуги поглинання при довжинах хвиль 536–556 і 577–589 нм. Спектр карбоксигемоглобіну також містить дві смуги поглинання при довжинах хвиль 523–546 ( $\lambda_{\text{max}} = 540\text{--}541$  нм) і 564–579 нм ( $\lambda_{\text{max}} = 571$  нм). У спектрі дезоксигемоглобіну спостерігається одна широка смуга поглинання при довжині хвиль 543–596 нм ( $\lambda_{\text{max}} = 557$  нм). Візуально спектри поглинання оксигемоглобіну та карбоксигемоглобіну практично не відрізняються один від одного, тому їх спектральні характеристики не використовують в аналізі, проте різний характер спектрів поглинання дезоксигемоглобіну та карбоксигемоглобіну дозволяє виявляти та кількісно визначати карбоксигемоглобін.

Оксигемоглобін, карбгемоглобін та метгемоглобін при взаємодії з відновниками (натрій дитіоніт, амоній сульфід) здатні відновлюватися до дезоксигемоглобіну, в той час як карбоксигемоглобін за звичайних умов в таку реакцію не вступає. Проте після насичення крові киснем (за цих умов відбувається повне витіснення чадного газу з крові) його також можна перетворити на дезоксигемоглобін.

Саме наведені хімічні та спектральні властивості покладено в основу оптичних методів виявлення та визначення карбоксигемоглобіну.

### **Спектроскопічний метод виявлення карбоксигемоглобіну**

Для виявлення карбоксигемоглобіну в крові використовують мікроспектроскоп, з'єднаний з окуляром. При проходженні променя світла через розбавлений розчин крові, що містить гемоглобін та його похідні, крізь окуляр спектроскопа у спектрі можна бачити появу смуг поглинання, розташованих між лініями Фраунгофера D та E у жовтій та зеленій частинах спектра.

Спектр розчину крові, що містить оксигемоглобін, як уже зазначалося, буде містити дві смуги поглинання. Після додавання

до розчину крові свіжоприготованого розчину амоній сульфїду або інших відновників (натрій дитіонїту) оксигемоглобїн перетворюється на дезоксигемоглобїн, у спектрі якого спостерігається одна широка смуга поглинання.

Спектр розчину крові, що містить карбоксигемоглобїн, також буде містити дві смуги поглинання, проте після додавання відновників його смуги поглинання не зникають, не зміщуються і не перетворюються на одну широку смугу, оскільки карбоксигемоглобїн не здатний відновлюватися. Можна спостерігати при цьому лише появу невеликого затемнення між двома смугами за рахунок присутнього в крові оксигемоглобїну, що перетворився на дезоксигемоглобїн.

Таким чином, за наявності відповідних смуг поглинання у спектрі розчину крові, а також за характером їх перетворень роблять висновок про можливе отруєння карбон(II) оксидом.

Спектроскопічний метод дає задовільний результат у випадках, коли частка карбоксигемоглобїну від загального гемоглобїну крові становить 10–30 %.

### **Спектрофотометричний метод визначення карбоксигемоглобїну**

Існує декілька варіантів методик кількісного визначення карбоксигемоглобїну в крові людини методом спектрофотометрії.

*Варіант 1.* Визначення побудоване таким чином:

1) готують зразок розчину донорської крові, що містить лише карбоксигемоглобїн — шляхом насичення крові карбон(II) оксидом (для переведення метгемоглобїну у дезоксигемоглобїн до розчину додають відновник);

2) готують зразок розчину донорської крові, що містить лише дезоксигемоглобїн (до розчину крові додають відновник);

3) реєструють спектри обох розчинів — типову схему накладення спектрів наведено на рис. 7.1; вона містить три максимуми поглинання ( $\lambda_{\text{max}} = 541, 557, 571$  нм) та три ізобестичні точки при довжинах хвиль 550, 565, 580 нм; у свою чергу, експериментальним шляхом встановлено, що при довжині хвилі 538 нм спостерігається найбільша різниця величин поглинання дезоксигемоглобїну та карбоксигемоглобїну;

4) для досліджуваного зразка крові готують розчин А (шляхом додавання фосфатного буферного розчину з рН 7,38), розчин Б, що містить карбоксигемоглобїн та дезоксигемоглобїн (шляхом додавання до розчину А натрій дитіонїту), та розчин В, в якому всі форми гемоглобїну повністю переведено в карбоксигемоглобїн (шляхом насичення розчину А карбон(II) оксидом);

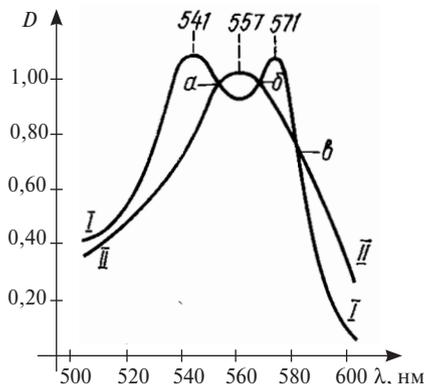


Рис. 7.1. Спектри карбоксигемоглобіну(I) та дезоксигемоглобіну(II) (за В.П. Крамаренком та співавт.)

5) вимірюють оптичну густину розчину Б при довжинах хвиль 538 і 550 нм ( $A_{538 \text{ нм}}^B$  та  $A_{550 \text{ нм}}^B$ ) та розчину В при довжині хвилі 538 нм ( $A_{538 \text{ нм}}^B$ );

6) розрахунок вмісту карбоксигемоглобіну для досліджуваної крові у відсотках  $P$  проводять за формулою:

$$P = 100 - \frac{(A_{538 \text{ нм}}^B - A_{538 \text{ нм}}^B)}{A_{550 \text{ нм}}^B \cdot 0,372}.$$

Відносна невизначеність середнього результату при кількісному визначенні карбоксигемоглобіну в діапазоні концентрацій від 3 до 20 % становить  $\pm 3 \%$ , при концентраціях вище 20 % зазначена величина становить  $\pm 5 \%$ .

*Варіант 2.* Для визначення готують три розчини:

- розчин А — розчин досліджуваної крові;
- розчин Б — розчин досліджуваної крові, який насичують карбон(II) оксидом (100 % карбоксигемоглобіну);
- розчин В — розчин досліджуваної крові, який насичують киснем (100 % оксигемоглобіну).

До кожної з проб додають відновник (натрій дитіоніт) та реєструють їх спектри поглинання. Типову схему накладення спектрів наведено на рисунку 7.2.

Для кожного з досліджуваних розчинів вимірюють оптичну густину при довжинах хвиль 540 ( $A_{540 \text{ нм}}^A$ ,  $A_{540 \text{ нм}}^B$  та  $A_{540 \text{ нм}}^B$ ) та 579 нм

( $A_{579 \text{ нм}}^A$ ,  $A_{579 \text{ нм}}^B$  та  $A_{579 \text{ нм}}^B$ ) і розраховують вміст карбоксигемоглобіну для досліджуваної крові у відсотках  $P$ :

$$P = \frac{A_{540 \text{ нм}}^A / A_{579 \text{ нм}}^A - A_{540 \text{ нм}}^B / A_{579 \text{ нм}}^B}{A_{540 \text{ нм}}^B / A_{579 \text{ нм}}^B - A_{540 \text{ нм}}^B / A_{579 \text{ нм}}^B} \cdot 100 \%$$

Зазначена методика ефективна при дослідженнях крові, що містить понад 10 % карбоксигемоглобіну.

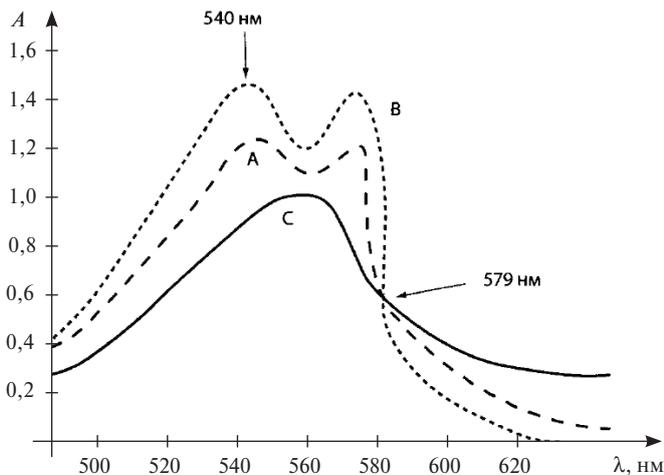


Рис. 7.2. Спектри досліджуваної крові (розчин А), карбоксигемоглобіну (розчин Б) та дезоксигемоглобіну (розчин В) (за Т.Х. Вергейчик та співавт.)

**Варіант 3.** Методика ґрунтується на відмінностях у спектрах поглинання дезоксигемоглобіну та карбоксигемоглобіну у лужному середовищі (рис. 7.3).

За цих умов спектр дезоксигемоглобіну має максимуми поглинання при довжинах хвиль 528 нм та 558 нм, а спектр карбоксигемоглобіну — при довжинах хвиль 538 нм та 572 нм. При довжині хвилі 532 нм спостерігається ізобестична точка.

Для визначення готують розчин натрій дитіоніту в суміші 0,1 % розчину натрій карбонату та 5 М розчину натрій гідроксиду (25:2) та додають до нього цільну кров. Вимірюють поглинання приготованого розчину при довжинах хвиль 532 нм ( $A_{532 \text{ нм}}$ ) та 558 нм ( $A_{558 \text{ нм}}$ ) і розраховують вміст карбоксигемоглобіну для досліджуваної крові у відсотках  $P$ :

$$P = \left( 2,44 - \frac{A_{558\text{HM}}}{A_{532\text{HM}}} \right) \cdot 67$$

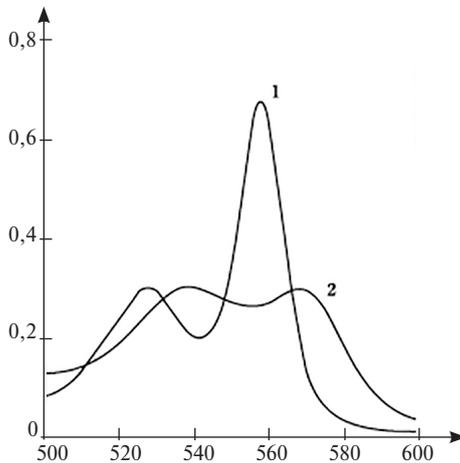


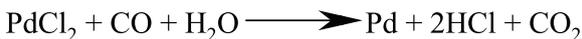
Рис. 7.3. Спектри дезоксигемоглобіну (1) та карбоксигемоглобіну (2) (за Osamu Suzuki та Kanako Watanabe)

Наведені методики не можуть бути коректно застосовані у випадках, коли кров зазнала процесів гниття. За цих умов спостерігається утворення сульфогемоглобіну, який як і карбоксигемоглобін не реагує з натрій дитіонітом і тому не здатний відновлюватися. Присутність сульфогемоглобіну спотворює результати визначення.

### 7.2.3. ВИЯВЛЕННЯ КАРБОН(II) ОКСИДУ МЕТОДОМ МІКРОДИFUЗІЇ

Метод мікродифузії використовують при спрямованому аналізі. Він носить попередній характер і дозволяє виявити летку речовину, що міститься в досліджуваному об'єкті в малих концентраціях; має судово-негативне значення.

Суть методу полягає в тому, що до зовнішньої камери приладу для проведення мікродифузії вносять 1 мл крові і 1 мл 10 % розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; розчин поглинання — 2 мл 0,1 % розчин  $\text{PdCl}_2$  у 0,1 М розчині  $\text{HCl}$  вносять до внутрішньої камери, закривають та залишають на 1 год. За наявності в крові карбоксигемоглобіну під дією кислоти сульфатної виділяється карбон(II) оксид, який відновлює паладій хлорид до металічного паладію, внаслідок чого спостерігають появу сріблястої плівки:



## 7.2.4. ВИЯВЛЕННЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КАРБОН(II) ОКСИДУ МЕТОДОМ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Виявлення та кількісне визначення карбон(II) оксиду методом газової хроматографії проводять або безпосередньо в газовій фазі, або після відновлення до метану ( $\text{CH}_4$ ), або після окиснення до карбон(IV) оксиду.

### Визначення карбон(II) оксиду безпосередньо в газовій фазі

Карбон(II) оксид, отриманий при додаванні до досліджуваного зразка крові натрій карбонату або гідрокарбонату, відбирають шприцом та вводять у дозатор хроматографа (детектор — катарометр). Виявлення CO проводять за часом утримування, а концентрацію його розраховують за допомогою градууювального графіка залежності площі піку від концентрації.

Методику застосовують при вмісті карбон(II) оксиду в крові понад 30 %.

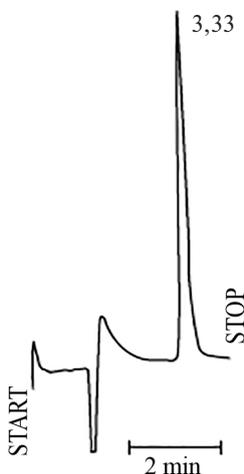
### Визначення карбон(II) оксиду після відновлення до метану

*Варіант 1.* Карбон(II) оксид виділяють із крові, як і в попередній методиці, додаванням до досліджуваного зразка крові натрій карбонату або гідрокарбонату та вводять в дозатор хроматографа. Як газ-носіє використовують гелій, він витісняє CO з дозатора та переносить до хроматографічної колонки з нікелевим каталізатором на ІНЗ-600. Під дією водню CO відновлюється до метану, який реєструють за допомогою полуменево-іонізаційного детектора.

*Варіант 2.* Карбон(II) оксид виділяють із крові шляхом обробки досліджуваного зразка крові 5 % розчином сапоніну та 20 % розчином калій гексаціаноферату(III). Умови хроматографування: колонка Molecular Sieve 5A ( $\varnothing$  3 мм  $\times$  2 м), з'єднана зі сталюю колонкою ( $\varnothing$  3 мм  $\times$  140 см), упакованою нікелевим каталізатором Shimalite-Ni; газ-носіє — водень, швидкість потоку — 40 мл/хв, температура колонки — 80 °С, температура інжектора — 150 °С. Сталюю колонку нагрівають до 650 °С у реакційній печі; за цих умов CO відновлюється до метану, який виявляють за допомогою полуменево-іонізаційного детектора, t детектора — 150 °С.

Типову хроматограму, отриману за цих умов, наведено на рисунку 7.4.

Методику високочутливі і дозволяють проводити аналіз малих об'ємів крові (0,1 мл).



*Рис. 7.4. Типова хроматограма CO при його визначенні після відновлення до метану (за Osamu Suzuki та Kanako Watanabe)*

### **Визначення карбон(II) оксиду після окиснення до карбон(IV) оксиду**

Як і в попередній методиці, до досліджуваного зразка крові додають натрій карбонат або гідрокарбонат та вводять в дозатор хроматографа парогазову фазу, що містить суміш CO та CO<sub>2</sub> ендogenousного походження.

На колонці з силікагелем розділяють карбон(II) оксид та карбон(IV) оксид, що фіксується детектором. Потім карбон(II) оксид у спеціальній комірці окиснюють йод(V) оксидом до карбон(IV) оксиду і реєструють пік, обумовлений загальною кількістю CO<sub>2</sub>. Кількісний вміст CO розраховують за різницею площ піків ендogenousного та сумарного CO<sub>2</sub>.

Слід зазначити, що зразки крові для дослідження на вміст CO в гемоглобіні необхідно зберігати в темному місці, оскільки під дією світла відбувається інтенсивна дисоціація карбоксигемоглобіну.

## **7.3. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ**

### **7.3.1. ХЛОР**

Хлор — поширений у природі елемент, на нього припадає 0,04 % маси земної кори, проте у вільному стані він в природі не зустрічається, оскільки в хімічному відношенні є дуже

активним. Найбільш поширеною природною сполукою хлору є натрій хлорид.

Хлор використовують як дезінфікуючий засіб (для знезараження (хлорування) питної води та води в басейнах); у виробництві хлорорганічних сполук (вінілхлориду та його полімеру полівінілхлориду, хлоропренового каучуку, дихлоретану, хлороформу тощо), барвників, лікарських речовин, для вибілювання тканини і паперу.

Він є досить токсичною речовиною, яка може викликати гострі та хронічні отруєння. Хронічні отруєння зазвичай виникають у людей, професійна діяльність яких передбачає використання хлору (хімічна, текстильна і фармацевтична промисловість). Проте отруїтися можна навіть при використанні миючих засобів у побуті (відбілювачі, дезінфікуючі розчини і порошки, таблетки і рідини для посудомийних машин тощо).

**Фізико-хімічні властивості.** Проста речовина хлор ( $\text{Cl}_2$ ) за нормальних умов — газ жовтувато-зеленого кольору, з різким задушливим запахом. Відчутний запах хлору відзначається при його концентрації 2–3 мг/м<sup>3</sup>. М.м. = 70,9 г/моль,  $\rho$  — 3,21 г/л (за нормальних умов), 1,557 г/л (при –35 °С), 1,9 г/л (при –105 °С). Добре розчинний у воді (0,96 г/100 мл при 20 °С та 0,65 г/100 мл при 25 °С), хлороформі, тетрахлорметані, розчинний в бензені. Розчин хлору в воді називають хлорною водою,  $t_{\text{кип.}}$  — 34,55 °С,  $t_{\text{пл.}}$  — 100,95 °С.

ГДК хлору у повітрі робочої зони становить 1 мг/м<sup>3</sup>, у повітрі населених пунктів — 0,1 мг/м<sup>3</sup> (короткотривала) та 0,003 мг/м<sup>3</sup> (середньодобова).

**Токсична дія на організм.** Хлор може потрапляти до організму різними шляхами — через органи дихання, перорально (у вигляді хлорованої води) та резорбтивним шляхом через шкіру. Газоподібний хлор негативно діє на шкіру, слизові оболонки, легені та очі. При вдиханні хлор дуже подразнює слизову оболонку і викликає гострий кашель. Наслідком впливу на дихальну систему є ларингіт, емфізема легенів, бронхіт, фарингіт і пневмосклероз. Вдихання хлору протягом тривалого часу або великі кількості його в повітрі призводять до летальних випадків.

Перші ознаки отруєння хлором — дискомфорт і подразнення слизової оболонки дихальних шляхів; підвищене слиновиділення і спазм голосових зв'язок; кашель і ускладнене дихання; відчуття різі та печіння в очах, сльозотеча; нудота і гіркота у роті; головний біль, можливо, судоми.

При попаданні на шкіру спостерігається значний свербіж і гіперемія, вірогідні підшкірні крововиливи без пошкодження цілісності шкіри. У воді хлор здатний утворювати сполуки, що можуть спровокувати розвиток ракових захворювань та туберкульозу легенів.

Тяжкість патологічного процесу та симптоми отруєння хлором знаходяться в прямій залежності від дози токсичної речовини і тривалості її дії.

Для легкої форми отруєнь характерні подразнення слизових оболонок дихальних шляхів і рота, які проходять самостійно через 2–3 дні. При отруєнні хлором середньої тяжкості виникають напади задухи, печіння в очах, слезотеча, біль у грудях, сухий кашель, набряк легенів через 2–4 год після отруєння. Симптоми отруєння хлором тяжкого ступеня — короткочасна повна зупинка дихання, відновлення поверхневого дихання, судоми, втрата свідомості, смерть через 5–30 хв. Блискавичне отруєння — зупинка дихання, судоми, здуття вен на шиї та обличчі, миттєва смерть.

При хронічному отруєнні хлором спостерігаються такі ознаки: сухий кашель, депресивні стани, захворювання дихальних шляхів, часті судоми.

**Невідкладна допомога та детоксикація при отруєнні хлором.** Безпосередньо перша допомога при отруєнні хлором зводиться до таких дій:

- постраждалого слід негайно винести за межі зони ураження; якщо це неможливо, забезпечити доступ кисню та бажано провести інгаляцію киснем;
- ротову порожнину, горло, очі і ніс промити впродовж 10 хв 2 % розчином натрій гідрокарбонату;
- внутрішньом'язово ввести 125 мг гідрокортизону або 60 мг преднізолону;
- внутрішньовенно ввести 10 % розчин кальцій хлориду — щоб уникнути набряку легень;
- якщо хлором уражено шкіру, необхідно промити її водою з милом або будь-яким спиртово-лужним розчином;
- при потрапленні до шлунку — промити його теплою водою та дати випити активоване вугілля;
- дати випити постраждалому молока або лужної мінеральної води.

**Лікування** тяжкого отруєння хлором проводиться тільки в стаціонарі.

## Хіміко-токсикологічний аналіз

В організмі людини при контакті з вологою хлор утворює суміш кислот хлоридної та гіпохлоритної:



Тому дослідження біологічних об'єктів на наявність та вміст власне хлору не проводять.

Описано методики виявлення кислоти гіпохлоритної — з цією метою проводять її відгонку з подрібненого біологічного матеріалу у присутності карбон(IV) оксиду. Оскільки за цих умов може частково відганятися кислота хлоридна, потік карбон(IV) оксиду спочатку пропускають крізь розчин аргентум нітрату, а потім вже крізь суміш розчинів калій йодиду та крохмалю:



Посиніння цієї суміші свідчить про присутність у біологічному матеріалі кислоти гіпохлоритної. Відгонку продовжують у приймач з водою, насиченою сульфур(IV) оксидом:



Після цього залишок  $\text{SO}_2$  видаляють нагріванням розчину, а потім проводять в ньому виявлення та кількісне визначення хлорид-іонів (див. п. 7.2.3). Позитивний результат може свідчити лише про можливе отруєння хлором, оскільки гіпохлорит-іони можуть бути присутні в біологічному матеріалі і при отруєннях хлорним вапном.

### 7.3.2. СІРКОВОДЕНЬ

У сучасному житті людина досить часто контактує з **сірководнем (гідроген сульфідом)**. Природними джерелами  $\text{H}_2\text{S}$  є вулканічні гази та деякі мінеральні води (їх використовують як лікувальні ванни). Гідроген сульфід завжди утворюється при гнитті залишків рослинного та тваринного походження, при розкладанні органічних речовин, до складу яких входить сульфур. Проте у великих кількостях у природі  $\text{H}_2\text{S}$  не накопичується, бо він легко окиснюється киснем повітря. Гідроген сульфід утворюється при виплавці чавуну, виробництві асфальту, целюлози та віскози; у каналізаційних водах у процесі їх очищення.

Гідроген сульфід у невеликих кількостях утворюється в деяких клітинах ссавців (з цистеїну під впливом ферментів цистатіонін- $\beta$ -синтетази і цистатіонін- $\gamma$ -ліази) і має низку біологічних сигнальних функцій. Він розширює судини та послаблює

дію на гладкі м'язи, бере активну участь у роботі мозку, де активує передачу імпульсів через рецептори NMDA і таким чином поліпшує довгострокову пам'ять.

**Фізико-хімічні властивості.** Гідроген сульфід ( $H_2S$ ) — це безбарвний газ зі солодкуватим смаком та характерним неприємним запахом тухлих яєць. Відчутний запах гідроген сульфїду відзначається при його концентрації 1,4–2,3 мг/м<sup>3</sup>, значний запах — при 4 мг/м<sup>3</sup>, тяжкий запах — при 7–11 мг/м<sup>3</sup>. М.м. — 34,082 г/моль. Мало розчинний у воді (0,025 г/100 мл при 40 °С), розчинний в етанолі;  $t_{\text{кип.}}$  — 60,28 °С. Горить синім полум'ям з утворенням  $SO_2$  та води. Термічно нестійкий (при температурі > 400 °С розкладається на прості речовини). Суміш гідроген сульфїду з повітрям є вибухонебезпечною в межах концентрацій 4,5–45 %  $H_2S$ .

ГДК гідроген сульфїду у повітрі робочої зони — 10 мг/м<sup>3</sup>, а у суміші з вуглеводнями — 3 мг/м<sup>3</sup>. ГДК у повітрі населених місць — 0,008 мг/м<sup>3</sup>.

**Токсична дія на організм.** Гідроген сульфїд може потрапляти до організму різними шляхами — переважно через органи дихання, а також перорально (у вигляді розчинів сульфїдів та полісульфїдів лужних металів) та резорбтивним шляхом через шкіру. При його вдиханні з'являється свербіж у носі, нежить, а також підвищене слиновиділення, солодкуватий присмак у роті. При вдиханні повітря з великою концентрацією  $H_2S$  запах гідроген сульфїду майже відразу перестає відчуватися — внаслідок паралічу нюхового нерва. Якщо концентрація  $H_2S$  у повітрі невелика — людина досить швидко адаптується до неприємного запаху, і він перестає відчуватися, в результаті цього настає сильне отруєння гідроген сульфїдом.

При підвищенні концентрації газу у повітрі до 0,01 мг/м<sup>3</sup> може статися отруєння — виникає запаморочення, головний біль, нудота. Якщо концентрація становить більше 0,05 мг/м<sup>3</sup>, людина відчуває різке погіршення стану. У першу чергу уражаються травна та нервова системи, відзначаються порушення в роботі практично всіх внутрішніх органів, що призводить до коми, судом, набряку легенів і навіть до летального наслідку. Найчастіше смерть настає при контакті з  $H_2S$  більше 30 хв. При високій концентрації — одноразове вдихання може викликати миттєву смерть.

Дуже небезпечно, якщо гідроген сульфїд потрапляє в очі, — виникає набряк органів зору, гіперемія кон'юнктиви, больові

відчуття, помутніння рогівки. В результаті отруєння виникає світлобоязнь, при дуже високій концентрації можлива навіть втрата зору.

Сірководень небезпечний для здоров'я і при попаданні на шкіру. Якщо концентрація невисока, то  $H_2S$  може викликати її почервоніння, а при більш високих концентраціях розвивається опік II або III ступеня. За наявності великих ділянок ураженої шкіри у людини може статися шок.

**Невідкладна допомога та детоксикація при отруєнні гідроген сульфідом.** Антитод — 1 % розчин метиленового синього (50–100 мл внутрішньовенно).

Безпосередньо перша допомога при отруєнні гідроген сульфідом зводиться до таких дій:

- постраждалого негайно слід винести за межі зони ураження; якщо це неможливо — забезпечити доступ кисню та бажано провести інгаляцію киснем;
- ротову порожнину, горло і ніс промити впродовж 10 хв 2 % розчином натрій гідрокарбонату або водою;
- очі промити 0,5 % розчином дикаїну та зробити примочки з 3 % розчином кислоти боратної;
- при надходженні до шлунка — промити його теплою водою;
- дати постраждалому випити молока або лужної мінеральної води;
- при попаданні на шкіру якнайшвидше промити водою уражені ділянки та накласти пов'язку.

**Лікування** тяжкого отруєння гідроген сульфідом проводиться тільки в стаціонарі.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

*Об'єкти дослідження:* кров, сеча.

Аналітичні методи дослідження крові для  $H_2S$  поділяють на дві групи — виявлення його в неіонізованій формі в кислих розчинах та в іонізованій формі — в лужних розчинах.

Гідроген сульфід в організмі легко окиснюється до тіосульфат- та сульфат-іонів. Оскільки рівень сульфатів в організмі є достатньо високим за нормальних умов, його не можна використовувати як маркер отруєння гідроген сульфідом. Проте тіосульфат-іони можуть бути використані з цією метою, їх вміст у здоровому організмі зазвичай дуже низький.

Тому виявлення та кількісне визначення гідроген сульфиду в біологічних рідинах виконують за різних умов — власне

за сульфід-іоном у крові та за його метаболітом (тіосульфат-іоном) у крові та сечі — методом газо-рідинної хроматографії.

**Виявлення та визначення гідроген сульфіду за нативною сполукою.** Умови хроматографування: колонка — скляна,  $\varnothing$  3 мм  $\times$  3 м, упакована діатомітом, обробленим кислотою та силаном (60–80 mesh), покритим 25 % 1,2,3-трис(2-ціаноетокси)-пропаном; детектор — полуменево-фотометричний (з фільтром за сульфуром); газ-носії — нітроген; швидкість потоку — 50 мл/хв; температура колонки — 70 °С; температура інжектора — 150 °С; об'єм проби — 1–3 мкл.

Для проведення досліджень 1 мл цільної крові обробляють холодним ацетоном та 20 % розчином кислоти хлоридної, центрифугують 5 хв при 3000 об/хв при низькій температурі. Надосадову рідину розбавляють у 5–20 разів ацетоном та вводять у хроматограф. Готувати пробу потрібно при низьких температурах і слідкувати, щоб простір над рідиною в посуді був якнайменшим з метою запобігання окисненню гідроген сульфіду.

Межа виявлення — 0,1 мкг/мл.

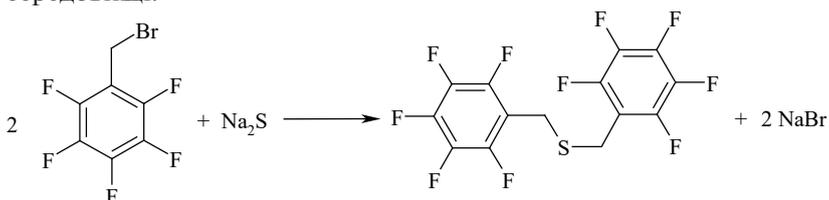
Час утримування гідроген сульфіду за таких умов становить 0,7 хв, він частково може перекриватися піками пентану та гексану, час утримування ацетону — 3,8 хв.

**Виявлення та визначення сульфід-іонів після дериватизації.**

Умови хроматографування: колонка — НР-5,  $\varnothing$  0,32 мм  $\times$  30 м, товщина шару 0,25 мкм; детектор — мас-спектрометричний; газ-носії — гелій; швидкість потоку — 2 мл/хв; температура колонки — 100 °С, витримують 2 хв, підвищення зі швидкістю 10 °С/хв до 220 °С, витримують 5 хв; температура інжектора — 220 °С; об'єм проби — 1 мкл.

Умови детектування: температура джерела іонів — 210 °С; режим іонізації — електронний удар; енергія електронів — 70 еВ; струм іонізації — 300 мкА; режим детектування — скануючий та «single ion monitoring» (SIM).

В основі методики лежить реакція попередньої дериватизації сульфід-іонів пентафлуорбензилбромідом у слаболужному середовищі:



Внутрішній стандарт — 1,3,5-трибромбензен.

Для проведення досліджень до 0,2 мл цільної крові додають внутрішній стандарт (розчин в етилацетаті), тетрадецилдиметилбензиламоній хлорид у насиченому натрій тетраборатом розчині та дериватизуючий реагент (розчин у толуені). Суміш обробляють калій дигідрогенфосфатом, центрифугують 5 хв при 2500 об/хв. Надосадову рідину вводять у хроматограф.

Межавиявлення — 0,2 мкг/мл (скануючий режим), 0,02 мкг/мл (SIM).

Типові хроматограми наведено на рисунку 7.5.

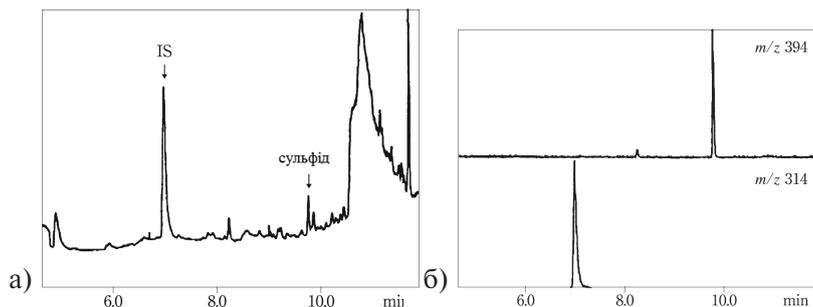


Рис. 7.5. Типові хроматограми сульфід-іона при його виявленні за дипентафлуорбензилсульфідом (за Osamu Suzuki та Kanako Watanabe): а) скануючий режим; б) single ion monitoring

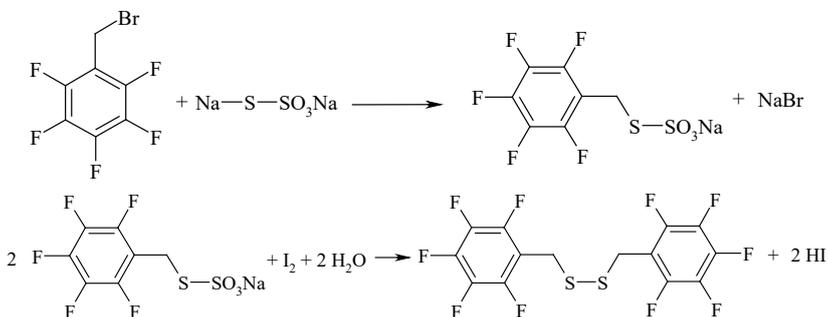
Час утримування похідного сульфідів за таких умов становить 9,8 хв внутрішнього стандарту — 7,0 хв.

Токсичні концентрації сульфід-іонів у крові, встановлені за наведеною методикою для випадків отруєнь гідроген сульфідом різних типів, знаходилися в діапазоні 0,08–0,45 мкг/мл. У випадках отруєнь сульфідами та полісульфідами ці концентрації були вищими більше ніж у 20 разів.

Слід зазначити, що для виявлення сульфідів у крові зразки біологічної рідини повинні бути відібрані якнайшвидше після вдихання  $H_2S$ , оскільки він швидко метаболізує в організмі, і вже через 4 год після експозиції його виявити неможливо.

**Виявлення та визначення метаболіту гідроген сульфід (тіосульфату) після дериватизації.** Умови хроматографування та детектування розглядалися у попередній методиці.

В основі методики лежить реакція попередньої дериватизації тіосульфат-іонів пентафлуорбензилбромідом у слаболужному середовищі:



Внутрішній стандарт — 1,3,5-трибромбензен.

Для проведення досліджень до 0,2 мл цільної крові або сечі додають суміш кислоти аскорбінової, 5 % розчину натрій хлориду та дериватизуючий реагент (розчин в ацетоні). Витримують 1 хв та додають розчин йоду в етилацетаті та внутрішній стандарт (розчин в етилацетаті). Суміш центрифугують 5 хв при 2500 об/хв та залишають на 1 год. Надосадову рідину вводять у хроматограф.

Межа виявлення — 0,02 мкмоль/мл (скануючий режим), 0,002 мкмоль/мл (SIM).

Типові хроматограми наведено на рисунку 7.6.

Час утримування похідного сульфідів за таких умов становить 11,9 хв, внутрішнього стандарту — 7,0 хв.

Токсичні концентрації тиосульфат-іонів у сечі та крові, встановлені за наведеною методикою для випадків отруєнь різних типів, знаходилися в діапазоні 0,12–0,51 мкмоль/мл та 0,008–0,143 мкмоль/мл відповідно. Виявлення та визначення тиосульфатів у сечі є більш показовим для нелетальних випадків отруєнь гідроген сульфідом, у крові — для гострих летальних випадків.

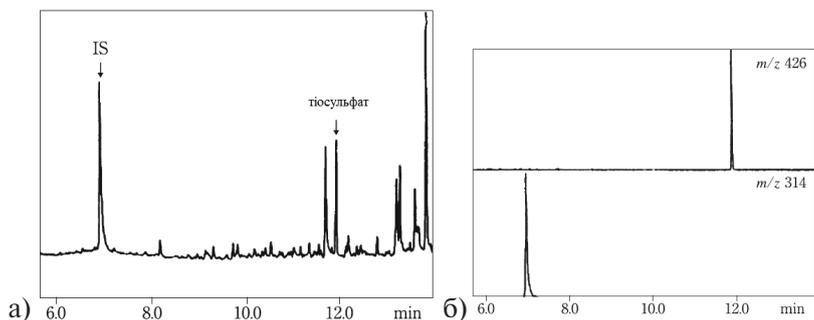


Рис. 7.6. Типові хроматограми тиосульфат-іона при його виявленні за дипентафлуорбензилдисульфідом (за Osamu Suzuki та Kanako Watanabe): а) скануючий режим; б) single ion monitoring

### 7.3.3. НІТРОГЕН(I, II, IV) ОКСИДИ

**Нітроген(I) оксид (нітрогену закис)** використовують як засіб для інгаляційного наркозу, він знаходить застосування в харчовій промисловості (як харчовий продукт має індекс E942) як пропелент, іноді використовується для поліпшення технічних характеристик двигунів внутрішнього згорання.

**Фізико-хімічні властивості.** Нітроген(I) оксид — безбарвний газ із характерним солодкуватим запахом і присмаком. М.м. = 44,0128 г/моль,  $\rho$  — 1,98 г/л (за нормальних умов). Розчинний у воді (0,15 г/100 мл при 15 °С), етанолі, діетиловому етері;  $t_{\text{кип.}}$  — 88,48 °С,  $t_{\text{пл.}}$  — 90,86 °С.

ГДК нітроген(I) оксиду у повітрі робочої зони становить 5 мг/м<sup>3</sup>.

**Нітроген(II) оксид** є одним із небагатьох відомих газотрансмітерів, ключовим вторинним посередником в організмах хребетних і відіграє важливу роль у міжклітинній та внутрішньоклітинній передачі сигналу і, як наслідок, у багатьох біологічних процесах.

**Фізико-хімічні властивості.** Нітроген(II) оксид — безбарвний газ. М.м. = 30,0061 г/моль. Мало розчинний у воді (0,01 г/100 мл);  $t_{\text{кип.}}$  — 151,7 °С,  $t_{\text{пл.}}$  — 163,6 °С.

ГДК нітроген(II) оксиду у повітрі робочої зони становить 5 мг/м<sup>3</sup>, у повітрі населених місць — 0,085 мг/м<sup>3</sup>.

**Нітроген(IV) оксид** застосовується у виробництві сульфатної та нітратної кислот, як окисник у рідкому ракетному паливі та сумішах вибухових речовин.

**Фізико-хімічні властивості.** Нітроген(IV) оксид — газ червоно-бурого кольору, з характерним гострим запахом, або жовтувата рідина. М.м. = 46,0055 г/моль,  $\rho$  — 2,0527 г/л (за нормальних умов),  $t_{\text{кип.}}$  — 21,1 °С,  $t_{\text{пл.}}$  — 11,2 °С. При розчиненні у воді утворює суміш нітратної та нітритної кислот.

ГДК нітроген(IV) оксиду у повітрі робочої зони становить 2 мг/м<sup>3</sup>, у повітрі населених місць — 0,06 мг/м<sup>3</sup>.

**Токсична дія на організм.** Нітроген оксиди потрапляють до організму через легені. Малі концентрації нітрогену закису викликають легке сп'яніння. При вдиханні чистого газу швидко розвиваються стан сп'яніння і сонливість. Нітрогену закис має слабку наркотичну активність, у зв'язку з чим у медицині його застосовують у великих концентраціях. У суміші з киснем при правильному дозуванні (до 80 % нітрогену закису) викликає хірургічний наркоз.

Нітрогену закис, призначений для медичних потреб (високого ступеня очищення), не викликає подразнення дихальних шляхів. У процесі вдихання, розчинюючись у плазмі крові, практично не змінюється і не метаболізує, не зв'язується з гемоглобіном. Після припинення надходження до організму виділяється (протягом 10–15 хв) через дихальні шляхи у незмінному вигляді. Період напіввиведення — 5 хв.

Вдихання повітря, що містить  $N_2O$  в концентрації 40 %, супроводжується занепокоєнням, сплутаністю свідомості і седативним ефектом; повітря, що містить 80 %  $N_2O$ , у більшості людей викликає несвідомий стан. При зловживанні  $N_2O$  можливий летальний результат — газ пригнічує ЦНС, може спричинити асфіксію. Посмертні концентрації  $N_2O$  в тканинах і органах знаходяться в межах 11–88 мг/кг.

Нітроген(II) оксид подразнює дихальні шляхи і очі. Симптоми отруєння з'являються тільки через певний період часу з затримкою в кілька годин — подразнення горла, утруднене дихання, головний біль, нудота. Подальші ускладнення при відсутності лікувальних заходів можуть викликати повну втрату сил, непостійність дихання, ціаноз, а також смерть у результаті набряку легенів.

Нітроген(IV) оксид сильно подразнює слизові оболонки дихальних шляхів. Вдихання парів нітроген(IV) оксиду може призвести до серйозного отруєння. Він викликає сенсорні, функціональні та патологічні ефекти. Навіть при малих концентраціях, що становлять всього  $0,23 \text{ мг/м}^3$ , людина відчуває присутність цього газу. Однак здатність організму виявляти  $NO_2$  зникає після 10 хв вдихання, але при цьому відчувається сухість і першіння в горлі. Ці ознаки зникають при тривалому впливі газу в концентрації, яка в 15 разів перевищує поріг виявлення. Нітроген(IV) оксид послаблює нічний зір — здатність очей адаптуватися до темряви. Цей ефект спостерігається при концентрації  $0,14 \text{ мг/м}^3$ , що, відповідно, нижче порога виявлення. Потрапляючи до організму людини,  $NO_2$  при контакті з вологою утворює нітратну та нітритну кислоти, які роз'їдають стінки альвеол легенів. При цьому стінки альвеол і капілярів стають настільки проникними, що пропускають сироватку крові в порожнину легенів. У цій рідині розчиняється повітря, яке вдихається, утворюючи піну, що перешкоджає подальшому газообміну. Виникає набряк легенів, який часто призводить до летального результату. Деякі

дослідники вважають, що у районах з високим вмістом в атмосфері діоксиду нітрогену спостерігається підвищена смертність від серцевих і ракових захворювань.

### ***Невідкладна допомога та детоксикація при отруєнні оксидами нітрогену:***

- постраждалому необхідно дати абсолютний фізичний спокій щонайменше на 24 год (навіть при уявному легкому отруєнні), потрібно попередити можливе переохолодження; транспортування лише в лежачому положенні;
- при загрозі набряку легенів — внутрішньовенно повільно ввести 20 % розчину кальцій глюконату; при набряку легенів — фуросемід;
- якщо розвилася задуха, викликана рефлекторним бронхоспазмом, призначають ефедрин або атропін;
- очі промити водою та 0,5 % розчином дикаїну;
- при попаданні на шкіру слід якнайшвидше промити водою уражені ділянки та накласти пов'язку.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

*Об'єкти дослідження:* кров, сеча, мозок, легені, печінка, нирки, жирова тканина.

Оксиди нітрогену виявляють та визначають у біологічних об'єктах методами ІЧ-Фур'є-спектрометрії, газової та газо-рідинної хроматографії.

Додатково можна проводити визначення нітроген(II) та (IV) оксидів за нітрит- та нітрат-іонами (див. п.п. 8.4.1—8.4.3).

### **7.3.4. ФЛУОРООРГАНІЧНІ СПОЛУКИ**

Флуорорганічні сполуки, що мають токсикологічне значення, налічують значну кількість речовин — флуорацетати, флуорвуглеводні різного ступеня насиченості, флуорзаміщені спирти, флуорпохідні фосфорорганічних сполук тощо.

Термін «флуорацетати» об'єднує похідні флуорацетатної кислоти  $\text{CH}_2\text{FCOOH}$  (флуорацетонітрил, флуорацетамід, ангідрид кислоти флуорацетатної, етилфлуорацетат тощо). У природі кислота флуорацетатна (у вигляді калієвої солі) міститься в листі південноафриканської рослини *Dichapetalum cymosum*.

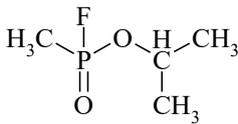
***Насичені флуорвуглеводні*** — малотоксичні речовини, їх токсичність значно нижча, ніж у відповідних хлорпохідних. Газоподібні флуорвуглеводні (наприклад,  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ ) використовують як фреони (хладони). Фторотан (1,1,1-трифлуор-2-хлорбромтан,

$\text{CF}_3\text{CHBrCl}$ ) застосовують як засіб для інгаляційного наркозу, він являє собою хімічно інертну, малотоксичну речовину.

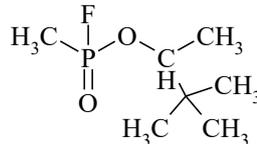
*Флуоралкени* — високотоксичні сполуки, наприклад, для перфлуорізобутилену  $(\text{CF}_3)_2\text{C}=\text{CF}_2$  ГДК становить  $1 \text{ мг/м}^3$ .

*Флуоретанол* — отруйна речовина, подразнювально діє на слизові оболонки носа і горла.

Флуорорганічні речовини знаходять застосування як не здатні окиснюватися термостійкі олії, гідравлічні рідини, пластмаси (фторопласти), каучуки, газопереносні середовища для кровозамінників. У сільському господарстві натрій флуорацетат застосовують як системний інсектицид та родентицид (для знищення гризунів). На початку Другої світової війни було синтезовано органічні флуорвмісні бойові отруйні речовини (ФОР) — диалкілфлуорфосфати — нервово-паралітичної дії (зарін, зоман).



Зарін



Зоман

**Фізико-хімічні властивості.** Кислота флуорацетатна являє собою безбарвні кристали з різким запахом;  $t_{\text{кип.}} - 165,1 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $t_{\text{пл.}} - 33,0 \text{ }^\circ\text{C}$ . Розчинна у воді, етанолі, етері та інших органічних розчинниках. Її естери і солі добре розчинні у воді.

Метилловий естер кислоти флуорацетатної є еталонною сполукою для флуорацетатів. Це безбарвна рідина без запаху, розчинна у звичайних органічних розчинниках (спирт, етер тощо). Розчинність у воді становить  $15 \%$ ,  $t_{\text{кип.}} - 104 \text{ }^\circ\text{C}$ . Хімічно стійкий, у водному розчині гідролізується з утворенням кислоти флуорацетатної.

Флуоретанол ( $\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ) має запах етанолу, змішується з водою в усіх співвідношеннях,  $t_{\text{кип.}} - 102-104 \text{ }^\circ\text{C}$ . Стійкий до гідролізу та дії окисників.

**Поведінка в організмі.** Флуорацетати легко адсорбуються зі ШКТ і розподіляються по всьому організму. Флуорацетати проявляють близькі показники рівня токсичності; це дозволяє припустити, що в організмі вони гідролізуються до кислоти флуорацетатної.

**Токсична дія та симптоми отруєнь.** При отруєннях кислотою флуорацетатною в організмі відбувається синтез кислоти флуорцитратної, яка, у свою чергу, блокує цикл трикарбонних кислот, пригнічуючи фермент аконітазу. Втрата енергії

в результаті зупинки циклу Кребса супроводжується клітинною дисфункцією і смертю.

Неможливо точно визначити смертельну для людини дозу кислоти монофлуорацетатної; найвірогідніший діапазон складає від 2 до 10 мг/кг. Особливістю речовин цієї групи є досить широкий розкид величин летальних доз для різних тварин. Кислоти ди- і трифлуорацетатні мають більш низький рівень токсичності, ніж кислота монофлуорацетатна.

Кислоти флуорацетатні діють переважно на центральну нервову і серцево-судинну системи людини. Сильні епілептичні конвульсії змінюються комою і депресією; смерть може настати в результаті асфіксії або від зупинки дихання. Найхарактернішими проте є порушення серцевої діяльності: фібриляція шлуночків і раптова блокада серця. Цим симптомам звичайно передують початковий латентний період тривалістю до 6 год, що характеризується нудотою, блювотою, підвищеним слиновиділенням, онімінням і пригніченим станом. Іншими ознаками, які можуть розвиватися згодом, є мимовільне сипання м'язів, низький кров'яний тиск і порушення зору.

**Лікування отруєнь.** При пероральному отруєнні флуорацетатами необхідно викликати блювоту і зробити промивання шлунка з наступним введенням великих доз моногліцерил-ацетату.

**Хіміко-токсикологічний аналіз.** Кількісне визначення проводять потенціометрично — за допомогою флуорселективного електрода — після мінералізації; методом рідинної хроматографії з УФ- або мас-спектрометричною детекцією та газо-рідинної хроматографії з полуменево-іонізаційною, електрон-захоплюючою або мас-спектрометричною детекцією.

## РОЗДІЛ 8

### АНАЛІТИЧНА ДІАГНОСТИКА ОТРУЄНЬ МІНЕРАЛЬНИМИ КИСЛОТАМИ, ОСНОВАМИ ТА ЇХ СОЛЯМИ

Отруєння речовинами припікаючої дії є одними з найтяжчих, завжди перебігають у гострій формі, оскільки при прийомі всередину зазначені сполуки викликають дуже глибокі та обширні опіки слизових оболонок.

Внаслідок досить поширеного застосування у побуті та виробництві найчастіше фіксують отруєння мінеральними кислотами (кислоти хлоридна, нітратна, сульфатна) та основами (калій та натрій гідроксиди, розчин амоній гідроксиду).

Причинами, що найчастіше призводять до такої ситуації, є недотримання техніки безпеки при роботі з хімічними речовинами, випадкові побутові отруєння (при помилковому вживанні всередину), порушення правил зберігання хімічних речовин, а також випадки самогубств.

Мінеральні кислоти та основи утворюють групу сполук, що ізолюють з біологічного матеріалу настоюванням досліджуваних об'єктів з водою. За цією ознакою до них долучають також деякі токсичні солі лужних металів — нітрати та нітрити.

#### 8.1. ІЗОЛЮВАННЯ МІНЕРАЛЬНИХ КИСЛОТ, ОСНОВ ТА СОЛЕЙ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ. ОЧИСТКА ВИТЯЖОК

*Об'єкти дослідження:* шлунок зі вмістом, залишки їжі, блювотні маси, залишки одягу; для дослідження на наявність та вміст солей — печінка.

Для ефективного проведення **ізолювання** біологічні об'єкти подрібнюють і заливають водою. Отриману суміш води і біологічного матеріалу настоюють протягом 1–2 год при постійному перемішуванні, потім суміш центрифугують та фільтрують отриману надосадову рідину.

**Очистку** отриманих водних витяжок із біологічного матеріалу від співекстрактивних речовин білкової природи та деяких інших високомолекулярних сполук проводять за допомогою методу діалізу — із застосуванням спеціальної напівпроникної мембрани. З цією метою одержані водні витяжки 2–3 рази діалізують (по 4–6 год), а потім об'єднані діалізати випаровують на водяній бані до об'єму 5–10 мл. Для прискорення цього процесу застосовують прийом накладення електричного поля, тобто проводять електродіаліз. Одержані діалізати досліджують на наявність кислот, основ та солей.

При дослідженні одягу або інших об'єктів на наявність на них кислот або основ можна використовувати водні витяжки без додаткової очистки їх методом діалізу.

## **8.2. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ МІНЕРАЛЬНИХ КИСЛОТ**

**Токсична дія.** Неорганічні кислоти викликають опік шкіри та слизових оболонок рота, стравоходу, шлунка, що обумовлено переважно їх прямою деструктивною дією. Пошкодження живих тканин викликане здатністю кислот віднімати воду, в результаті чого має місце зневоднення та порушення гідратаційної рівноваги в живих клітинах. Їх білкова структура різко змінюється, вони втрачають життєздатність.

Властивість віднімати воду з тканин залежить від наявності вільних іонів водню в молекулі, і тому має різний ступінь прояву у кислот. Чим більше вільних іонів водню, тим сильніша припікаюча та деструктивна дія кислоти. Слід зазначити, що кислоти також викликають вторинні ефекти, такі як порушення іонної рівноваги, ацидоз, розлад кровообігу та дихання, внутрішні пошкодження печінки та нирок.

Ковтання кислот призводить до блювання, різкого болю в шлунку, кров'янистих випорожнень тощо.

**Заходи невідкладної допомоги.** При потраплянні на шкіру концентрованих кислот їх необхідно обережно витерти сухою тканиною або ватно-марлевым тампоном, а ушкоджену ділянку промити водою з 1 % розчином натрій гідрокарбонату. Розбавлені кислоти змивають з уражених ділянок водою, після чого промивають 1 % розчином натрій гідрокарбонату.

**Загальні умови дослідження.** Дослідження на наявність кислот проводять лише у випадках, коли попередні дослідження

вказують на можливість їх присутності. До таких ознак слід у першу чергу віднести виражену кислу реакцію отриманих діалізатів з деякими індикаторами:

- зелене забарвлення метилового фіолетового;
- червоне забарвлення метилового оранжевого;
- червоне забарвлення конго червоного тощо.

За умов підтвердження кислотності середовища переходять до досліджень на наявність аніонів відповідних кислот, але лише після їх відгонки з діалізату в отриманих дистилатах (тільки в такій ситуації можна бути впевненим, що підтверджено наявність саме кислоти, а не відповідних солей!).

### 8.2.1. КИСЛОТА СУЛЬФАТНА

**Фізико-хімічні властивості.** Кислота сульфатна ( $H_2SO_4$ ) — важка, масляниста, прозора, безбарвна рідина. Змішується з водою у будь-яких пропорціях. У розведеному розчині має гострий запах та кислий смак, кипить за температури  $330\text{ }^\circ\text{C}$ . При змішуванні з водою виділяє велику кількість тепла, належить до групи сильних кислот. За температури  $30\text{ }^\circ\text{C}$  виділяє пари. Пари над водним розчином кислоти сульфатної складаються із суміші водяної пари, кислоти сульфатної та сірчаного ангідриду.

**Застосування.** Кислота сульфатна широко застосовується у промисловості для виробництва добрив та мил, у кольоровій металургії і для добування рідкісних металів, у хімічному, лакофарбовому та шкіряному виробництві. Використовується як акумуляторний електроліт, хімічний реагент тощо.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Окрім загальних ознак отруєнь мінеральними кислотами, при вдиханні парів кислоти сульфатної та сірчаного ангідриду спостерігається ускладнене дихання та кашель. При великих концентраціях парів розвивається набряк гортані та легенів, іноді настає смерть внаслідок асфіксії та шоку.

Про отруєння кислотою сульфатною може свідчити зовнішній вигляд досліджуваних об'єктів. Наприклад, у осіб, які випили концентровану кислоту сульфатну, можуть бути пошкодження тканин губ, язика, стравоходу, шлунка (сліди хімічного опіку) — слизові оболонки мають сріблясто-бурий колір.

ГДК —  $1,5\text{ мг/м}^3$ . Летальна доза —  $5,0\text{ мл}$ .

**Відгонка кислоти сульфатної з діалізатів.** Як було зазначено, кислота сульфатна кипить за дуже високої температури, тому для полегшення та прискорення процесу відгонки

проводять її перетворення на більш леткі сполуки шляхом нагрівання у присутності мідних ошукрок.

У процесі взаємодії металічної міді з кислотою сульфатною утворюється газоподібний сульфур(IV) оксид, який відганяють і збирають до приймача, що містить розчин йоду. При взаємодії  $\text{SO}_2$  з йодом у водному розчині знову утворюється кислота сульфатна:

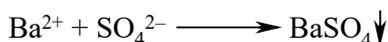


За процесом знебарвлення йоду контролюють повноту відгонки кислоти сульфатної, поступово додаючи розчин йоду за необхідності.

Після закінчення відгонки кислоти сульфатної (розчин йоду не змінює забарвлення) у приймач додають 2–3 мл розбавленої кислоти хлоридної і нагрівають рідину до повного переведення йоду, який не прореагував з сульфур(IV) оксидом, у йодид-іони. Отриманий дистилят використовують для виявлення та визначення кислоти сульфатної.

**Аналіз дистиляту на кислоту сульфатну.** Аналіз дистиляту на наявність кислоти сульфатної виконують за допомогою якісних реакцій на сульфат-іони.

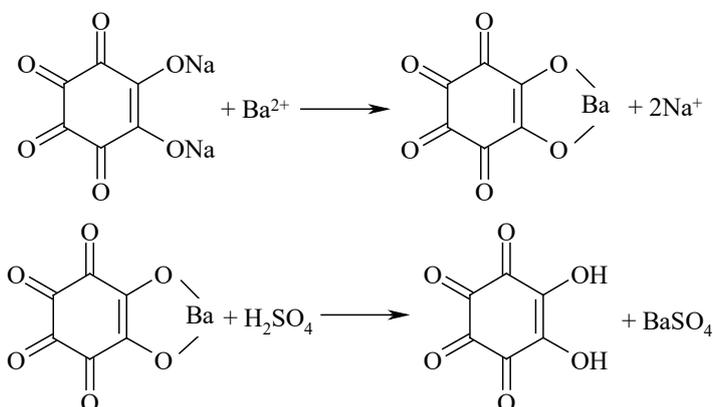
1. *Реакція з барій хлоридом* — поява білого осаду, нерозчинного в мінеральних кислотах та лугах, вказує на наявність кислоти сульфатної в дистиляті:



2. *Реакція з плюмбум(II) ацетатом* — за наявності кислоти сульфатної утворюється білий осад, нерозчинний у кислоті нітратній, але розчинний у лугах та розчині амоній ацетату при нагріванні:



3. *Реакція з натрій родизонатом* — натрій родизонат з солями барію утворює барій родизонат червоного забарвлення. При додаванні кислоти сульфатної або сульфатів до барій родизонату він руйнується з утворенням осаду барій сульфату і зникненням червоного забарвлення:



Реакція є специфічною на кислоту сульфатну та сульфати.

### 8.2.2. КИСЛОТА НІТРАТНА

**Фізико-хімічні властивості.** Кислота нітратна (HNO<sub>3</sub>) — прозора, безбарвна або жовтувата рідина з характерним задушливим запахом, парує на повітрі. Змішується з водою у будь-яких пропорціях, виділяючи при цьому тепло,  $t_{\text{кип.}} +82,6^{\circ}\text{C}$  з частковим розкладанням. Водні розчини HNO<sub>3</sub> з масовою часткою 95–98 % називають «димлячою кислотою», з масовою часткою 60–70 % — концентрованою. З водою утворює азеотропну суміш (масова частка 68,4 %), температура кипіння якої становить 120,7 °С.

**Застосування.** Кислота нітратна широко використовується в хімічній промисловості для виробництва добрив, вибухових речовин, лікарських препаратів; у лакофарбовому та гальванічному виробництві, поліграфії.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Кислота нітратна, як і всі мінеральні кислоти, викликає пошкодження живих тканин. При інгаляційному отруєнні кислотою нітратною спостерігається синюшність слизових оболонок повік та губ, збільшення в об'ємі легень, набряк м'якої мозкової оболонки головного мозку.

При отруєнні кислотою нітратною концентрованою пошкоджуються тканини язика, стравоходу, стінок шлунка, а іноді й тканини обличчя. Під впливом кислоти нітратної тканини тіла набувають жовтого забарвлення за рахунок утворення продуктів нітрування. При отруєнні кислотою нітратною, концентрація якої менша за 20 %, жовте забарвлення шкіри та інших тканин може і не спостерігатися. Смерть настає від шоку або колапсу.

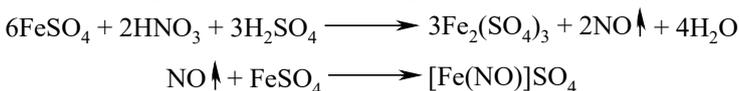
ГДК — 2–10 мг/м<sup>3</sup>. Летальна доза — 10,0 мл.



Проте реакція є неспецифічною, оскільки позитивний результат у цьому випадку можуть давати будь-які окисники (наприклад, хромати, хлорати тощо).

- *Реакція з бруцином* — за наявності нітрат-іонів у дистилаті останній набуває червоного забарвлення. Як і у випадку дифеніламіну, реакція є неспецифічною, оскільки таке забарвлення розчину в реакції з бруцином фіксується і для інших окисників.

- *Реакція з ферум(II) сульфатом і концентрованою кислотою сульфатною* — за наявності нітрат-іонів навколо кристалика ферум(II) сульфату утворюється буре кільце:



Для виявлення власне кислоти нітратної застосовують *реакцію фарбування шерсті (ксантопротеїнову реакцію)* — під час нагрівання білих шерстяних ниток з кислотою нітратною вони набувають жовтого забарвлення (внаслідок нітрування білкових молекул), яке при додаванні розчину амоній гідроксиду змінюється на жовте (за рахунок *аци-нітро-таутомерії*).

### 8.2.3. КИСЛОТА ХЛОРИДНА

**Фізико-хімічні властивості.** Кислота хлоридна (HCl) являє собою безбарвний або жовтий розчин гідроген хлориду зі специфічним гострим запахом, що парує на повітрі. Концентрована кислота хлоридна містить 37 % HCl і змішується в будь-яких пропорціях з водою, спиртом та етером. З водою утворює азеотропну суміш, яка містить 20,2 % HCl та кипить за температури 109,7 °C.

Вільна кислота хлоридна в невеликих кількостях міститься в шлунковому соці, а її солі — у тканинах організму.

**Застосування.** Кислота хлоридна застосовується в кольоровій металургії і для добування рідкісних металів, гальванопластиці, хімічній, консервній та текстильній промисловості; у побуті — для видалення накипу з посуду, в медицині 6 % розчин застосовують для лікування сверблячки; розчин цинк хлориду в кислоті хлоридній використовується для пайки.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** При вдиханні парів кислоти хлоридної спостерігається подразнення верхніх дихальних шляхів та легень. Смерть може настати від асфіксії внаслідок набряку гортані або її спазму. В осіб, які випили концентровану кислоту хлоридну, слизові оболонки ротової порожнини,

стравоходу, шлунка та верхнього відділу кишечника мають сірий або чорний колір, серцевий м'яз набуває жовтого забарвлення.

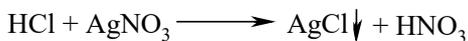
ГДК — 10 мг/м<sup>3</sup>. Летальна доза — 15,0 мл.

**Відгонка кислоти хлоридної з діалізату.** Кислота хлоридна не переганяється з дуже розбавлених діалізатів. Під час перегонки таких розчинів спочатку відганяється вода, а згодом, коли концентрація кислоти хлоридної перевищить 10 %, починає переганятися і власне кислота хлоридна. Тому діалізати, які досліджують на наявність кислоти хлоридної, потрібно відганяти повністю.

Кислота хлоридна може також відганятися з діалізатів і у тих випадках, коли в них міститься кислота сульфатна (внаслідок реакції кислоти сульфатної з природними хлоридами виділяється гідроген хлорид). Тому до виявлення кислоти хлоридної переходять лише у випадках, коли попередньо підтверджено відсутність у діалізаті кислоти сульфатної.

**Аналіз дистилляту на кислоту хлоридну.** Аналіз дистилляту на наявність кислоти хлоридної проводять за допомогою реакцій виявлення хлорид-іонів.

• *Реакція з аргентум нітратом* — за умов наявності хлорид-іонів спостерігають появу білого осаду, розчинного в розчині амоній гідроксиду:



• *Реакція з калій хлоратом* — за наявності хлорид-іонів у кислому середовищі виділяється вільний хлор, який можна ідентифікувати за посинінням йодидкрохмального папірця:



### 8.3. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ НЕОРГАНІЧНИХ ОСНОВ

*Луки (калій та натрій гідроксиди)* потрапляють до організму переважно перорально. Інгаляційні отруєння амоніаком складають приблизно 15–20 % усіх отруєнь припікаючими речовинами і часто виникають при аваріях на виробництві,

а також внаслідок його застосування з метою протверезіння. Летальність складає приблизно 5 %.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Механізм токсичної дії основ інший, ніж у кислот. Луги та амоній гідроксид у водних розчинах легко дисоціюють з утворенням великої кількості гідроксид-іонів ( $\text{OH}^-$ ), які, потрапляючи на шкіру, викликають характерний вологий некроз. Пари основ пошкоджують шкіру, очі, верхні дихальні шляхи.

Луги розчиняють ліпопротеїдну мембрану клітин за рахунок омилення жирів та утворення лужних альбумінатів. У цей спосіб вони розрихлюють та пом'якшують поверхневі тканини, роблячи їх більш доступними для проникнення лугів до глибоких шарів клітин.

Калій та натрій гідроксид чинять роз'їдаючу дію — як у твердому стані, так і у вигляді розчину. При контакті зі шкірою або слизовими оболонками утворюються м'які струпи. При потрапленні в очі розвивається вторинна глаукома, зморщення очного яблука.

Симптоми при пероральному отруєнні основами подібні до симптомів при отруєнні кислотами (глибокі опіки в стравоході і шлунку). Летальна доза становить 10–20 г.

**Заходи невідкладної допомоги.** При потрапленні на шкіру концентрованих розчинів основ вражене місце промивають водою, нейтралізують розведеною кислотою ацетатною або цитратною. При потрапленні розведених розчинів основ в очі або на шкіру їх промивають водою, 1 % розчином кислоти борної, а потім знову водою.

**Загальні умови дослідження.** Наявність калій або натрій гідроксиду в біологічному матеріалі підтверджують за вираженою лужною реакцією водних витягів із біологічного матеріалу або діалізатів (за відсутності карбонатів) і наявністю у витягах іонів калію або натрію відповідно.

Реакції виявлення іонів калію та натрію потребують суворого дотримання нейтральності реакційного середовища, тому перед виконанням реакцій діалізати обробляють розчином кислоти ацетатної до рН 6–7.

### 8.3.1. КАЛІЙ ГІДРОКСИД

**Фізико-хімічні властивості.** Калій гідроксид ( $\text{KOH}$ ) — це біла кристалічна речовина, легко розчинна у воді, спирті, гліцерині, нерозчинна в етері.

**Застосування.** Калій гідроксид застосовують у миловарінні, у виробництві солей калію та кислоти оксалатної. У харчовій промисловості позначається як харчова добавка E525 і використовується як регулятор кислотності, осушувач і засіб для зняття шкірки з овочів, коренеплодів і фруктів.

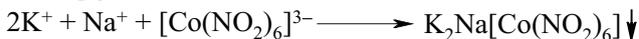
**Аналіз діалізату на калій гідроксид**

• *Реакція з натрій гідротартратом* — натрій гідротартрат у нейтральних або ацетатнокислих розчинах утворює з іонами калію білий кристалічний осад  $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ , який розчиняється в гарячій воді, мінеральних кислотах і лугах:



Проведенню реакції заважають іони амонію, які також утворюють осад відповідного гідротартрату.

• *Реакція з натрій гексанітрокобальтатом(III)* — натрій гексанітрокобальтат(III) осаджує з нейтральних або слабокислих розчинів іони калію у вигляді жовтого кристалічного осаду  $\text{K}_2\text{Na}[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ :



Проведенню реакції заважають іони амонію, які також утворюють осад подібного складу.

### 8.3.2. НАТРІЙ ГІДРОКСИД

**Фізико-хімічні властивості.** Натрій гідроксид ( $\text{NaOH}$ ) — біла кристалічна речовина, розчинна у воді, спирті, гліцерині.

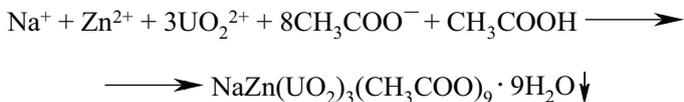
**Застосування.** Натрій гідроксид застосовують у багатьох галузях виробництва — целюлозно-паперовій та хімічній промисловості, при виробництві мила та інших миючих засобів. У побуті — для очищення виробів з нержавіючої сталі від жиру та як агент для розчинення засмічень каналізаційних труб. У харчовій промисловості (як харчова добавка E524) — для миття та очищення фруктів та овочів від шкірки, у виробництві шоколаду і какао, напоїв, морозива, фарбуванні карамелі, для розм'якшення маслин і надання їм чорного забарвлення, при виробництві хлібобулочних виробів.

**Аналіз діалізату на натрій гідроксид**

• *Реакція з калій гексагідроксостибіатом* — у нейтральному або слаболужному середовищі утворюється білий кристалічний осад  $\text{Na}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$ , який розчиняється у воді (при нагріванні) та в лугах:



• *Реакція з цинкураніацетатом* — за наявності іонів натрію в ацетатнокислому середовищі утворюється зеленувато-жовтий кристалічний осад  $\text{NaZn}(\text{UO}_2)_3(\text{CH}_3\text{COO})_9$ :



### 8.3.3. АМОНІАК

**Фізико-хімічні властивості.** Розчин амоніаку — це безбарвна рідина з різким запахом. Насичений розчин амоніаку містить до 33 % амоніаку, 10 % розчин амоніаку відомий як нашатирний спирт.

**Застосування.** Амоніак широко застосовується в хімічному синтезі, в холодильній промисловості. У медичній практиці застосовується нашатирний спирт — при втраті свідомості.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Розчини амоніаку при потраплянні на шкіру викликають болючі запальні реакції з утворенням сильного набряку. При довготривалій дії на організм спостерігається відшарування слизових оболонок, утворення пухирів та некрозу. При великій концентрації амоніаку у повітрі настає параліч ЦНС та швидка смерть з проявами асфіксії (ціаноз, судоми, зупинка дихання). Симптоми отруєння подібні до симптомів отруєння їдкими лугами: набряк гортані, психомоторні збудження, потім колапс, парез нижніх кінцівок. Смерть настає протягом 10–15 хв.

При розтині спостерігаються яскраво-червоні оболонки ротової порожнини, стравоходу, шлунка, набряк легень, у нирках — некроз, у головному мозку — крововиливи, амоніачний запах від порожнин.

Смертельна доза становить 10–15 мл 33 % розчину амоніаку та 25–50 мл 10 % розчину амоніаку.

**Заходи невідкладної допомоги** при отруєнні амоніаком зводяться до таких дій:

- постраждалого слід негайно винести за межі зони ураження; якщо це неможливо — забезпечити доступ кисню;
- ротову порожнину, горло і ніс промити водою впродовж 15 хв (додаткова ефективність промивань забезпечується при доданні у воду кислоти цитратної);
- протягом наступної доби після ураження необхідно забезпечити абсолютний спокій, що важливо навіть при незначному ступені отруєння;



## 8.4. СОЛІ ЛУЖНИХ МЕТАЛІВ (НІТРИТИ ТА НІТРАТИ)

Нітриоти та нітрати застосовують у хімічній промисловості для добування барвників, вони входять до складу вибухових матеріалів; у хімічних лабораторіях використовують як реактиви. У медицині нітриоти використовують як лікарські препарати (натрій нітрит, амлінітрит, нітрогліцерин); у народному господарстві — нітрати як мінеральні добрива ( $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ) — селітри; у харчовій промисловості — для консервування м'ясних продуктів як речовини, що діють на бактерії, які викликають ботулізм.

### 8.4.1. НІТРИТИ

**Токсична дія та симптоми отруєння нітриоти.** Максимально допустимою з точки зору охорони здоров'я населення є дія нітритів у концентрації 0,19–0,32 мг/м<sup>3</sup> протягом 1 год. Цей рівень не повинен перевищуватися протягом місяця більше ніж один раз. Нітриоти у концентрації 560–940 мг/м<sup>3</sup> призводять до смерті в результаті набряку легенів або асфіксії.

Певну кількість нітритів люди споживають з питною водою та харчовими продуктами. Нітриоти утворюються в рослинах, організмі людей і тварин за рахунок відновлення нітратів. Нітриоти, які надходять до організму, викликають утворення метгемоглобіну і метміоглобіну, які, на відміну від гемоглобіну і міоглобіну, не здатні брати участі у процесах перенесення кисню до клітин і тканин організму. Внаслідок вищезазначених факторів в організмі людей майже завжди міститься близько 2 % метгемоглобіну.

З накопиченням метгемоглобіну і метміоглобіну в організмі розвивається метгемоглобінемія, яка характеризується певними клінічними симптомами. За наявності в складі гемоглобіну понад 10 % метгемоглобіну з'являються ознаки ціанозу. При подальшому збільшенні кількості метгемоглобіну в організмі спостерігаються задуха, головний біль, тахікардія тощо. Вміст метгемоглобіну в крові, що сягає 50 % і більше, може стати причиною смерті.

Слід зазначити, що в організмі певна кількість метгемоглобіну під впливом ферменту метгемоглобінредуктази може перетворюватися на дезоксигемоглобін, що зменшує шкідливу дію метгемоглобіну.

Нітриоти особливо небезпечні для немовлят і дітей молодшого віку. Кількість метгемоглобіну в крові дітей завжди майже у 2 рази більша, ніж у дорослих. Це обумовлено тим, що у дитячому

шлунку містяться мікроорганізми, ферменти яких сприяють перетворенню нітратів на нітрити. Крім того, в шлунку дітей вищезазначений фермент метгемоглобінредуктаза відсутній.

У деяких наукових джерелах зустрічаються дані про те, що нітрити можуть бути причиною захворювань на рак. Останнім часом показано, що канцерогенну дію на організм виявляють не власне нітрити, а продукти взаємодії нітритів з амінами та амідами, об'єднані спільною назвою N-нітрозосполуки.

Нітрити, які в організмі не вступили в реакцію нітрузування або утворення метгемоглобіну, виділяються з сечею в незміненому стані, або у вигляді амоніаку протягом 6–8 год після потрапляння їх до організму.

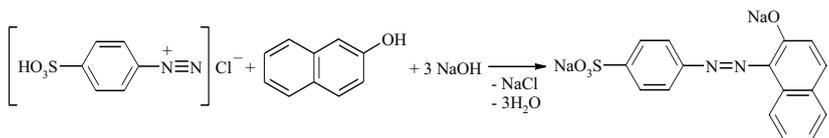
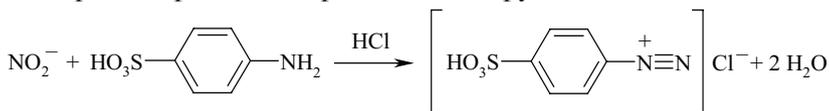
Смертельна доза нітритів для дорослої людини становить 8–14 г, гострі отруєння настають при надходженні до організму 1–4 г нітритів.

**Заходи невідкладної допомоги.** При підозрі на отруєння нітритами слід негайно промити шлунок великою кількістю слабого розчину калій перманганату та дати проносний засіб. Як засоби, що можуть допомогти зменшити вираженість симптомів отруєння нітритами, використовують активоване вугілля, солодкий чай з лимоном, квашену капусту, вітамін С, глюкозу.

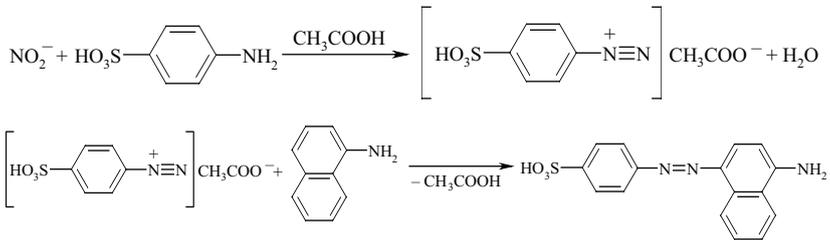
При отруєнні нітритами для руйнування метгемоглобіну застосовують внутрішньовенне введення 1 % розчину метиленового синього, 5 % розчину кислоти аскорбінової, 30 % розчину натрій тіосульфату.

**Аналіз діалізату на нітрити.** Дослідження діалізату на вміст нітритів проводять за допомогою реакції утворення солей діазонію з наступним їх перетворенням на азосполуки.

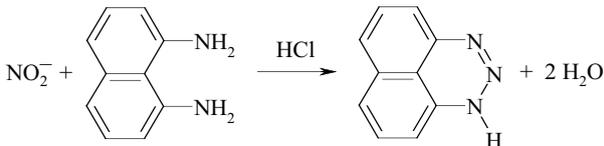
• **Реакція з кислотою сульфаніловою і β-нафтолом** — до підкисленого діалізату, що містить нітрити, додають кислоту сульфанілову, в результаті чого утворюється сіль діазонію. При взаємодії солі діазонію з лужним розчином β-нафтолу утворюється азобарвник оранжево-червоного кольору:



• *Реакція Грісса* — ґрунтується на взаємодії нітритів з реактивом Грісса (суміш кислоти сульфанілової і  $\alpha$ -нафтиламіну в кислоті ацетатній). За наявності нітритів відразу або через деякий час з'являється червоне забарвлення:



• *Реакція з 1,8-нафтилендіаміном* — у слабкокислом розчині нітрити з 1,8-нафтилендіаміном утворюють оранжево-червоне забарвлення або осад такого ж самого кольору за рахунок утворення 1,8-азімінонафталіну:



Зазначені реакції є специфічними, нітрати не дають позитивного результату за цих умов.

• *Реакція з йодидкромальним папірцем* — за наявності нітритів у діалізаті на папері з'являється пляма синього кольору:



#### 8.4.2. НІТРАТИ

*Токсична дія та симптоми отруєння нітратами.* Певна кількість нітратів надходить до організму людини і тварин з питною водою і продуктами харчування рослинного походження. До рослин нітрати потрапляють з ґрунту, куди їх вносять як мінеральні добрива.

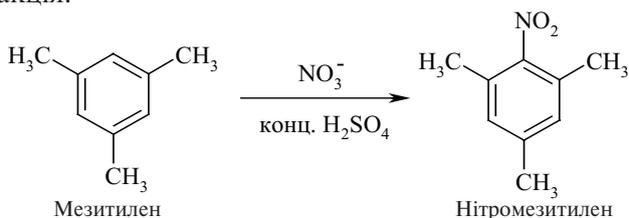
Значна частина нітратів, які надійшли до організму, відновлюються до нітритів, токсичну дію яких було висвітлено вище. Дослідження останніх років показали, що власне нітрати, не зазнавши перетворень в організмі, не мають канцерогенної дії і не можуть викликати захворювання на рак. В організмі нітрати можуть перетворюватись не лише на нітрити, а й на амоніак. Частина нітратів виділяється з організму в незміненому стані через 6–8 год після їх надходження (переважно з сечею).

**Аналіз діалізату на нітрати.** Для виявлення нітратів застосовують такі самі реакції, що і в аналізі біологічних об'єктів на кислоту нітратну.

Приступають до досліджень лише після попереднього руйнування та видалення нітритів.

### 8.4.3. АНАЛІЗ НІТРАТІВ ТА НІТРИТІВ МЕТОДОМ ГАЗО-РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Нітрити та нітрати виявляють та кількісно визначають методом газо-рідинної хроматографії після їх попередньої дериватизації за реакцією утворення нітросполуки в присутності внутрішнього стандарту — 4-нітро-*o*-ксилену. В основі методу лежить така реакція:



У разі необхідності виявлення та визначення нітратів до проби додають внутрішній стандарт та проводять обробку суміші насиченим розчином аргентум ацетату; після перемішування та центрифугування до надосадової рідини додають концентровану кислоту сульфатну та мезитилен, а після закінчення реакції — безводний натрій карбонат. Після центрифугування вводять пробу надосадової рідини до хроматографа.

У разі дослідження нітритів пробу попередньо обробляють гідроген пероксидом для їх переведення в нітрати. За необхідності визначити суміш нітритів та нітратів проводять два аналізи — до окиснення нітритів гідроген пероксидом та після, і за різницею площ піків розраховують кількість власне нітритів.

Умови хроматографування (варіант 1): колонка — кварцова капілярна DB-1,  $\varnothing$  0,53 мм  $\times$  15 м, товщина шару 0,25 мкм; детектор — нітрогенфосфорний; газ-носієй — гелій; швидкість потоку — 30 мл/хв; температура колонки — 100 °С, підвищення зі швидкістю 5 °С/хв до 125 °С, витримують 2 хв; температура інжектора — 250 °С; температура детектора — 270 °С; об'єм проби — 1–4 мкл.

Межа виявлення — 0,3 мкг/мл.

Умови хроматографування (варіант 2): колонка — кварцова капілярна DB-1,  $\varnothing$  0,25 мм  $\times$  30 м, товщина шару 0,25 мкм;

детектор — нітрогенфосфорний; газ-носіє — гелій; швидкість потоку — 2,1 мл/хв; температура колонки — 110 °С, витримують 3 хв, підвищення зі швидкістю 10 °С/хв до 200 °С, витримують 3 хв; температура інжектора — 280 °С; температура детектора — 280 °С; об'єм проби — 1–4 мкл.

Межа виявлення — 0,1 мкг/мл. Типову хроматограму наведено на рисунку 8.1.

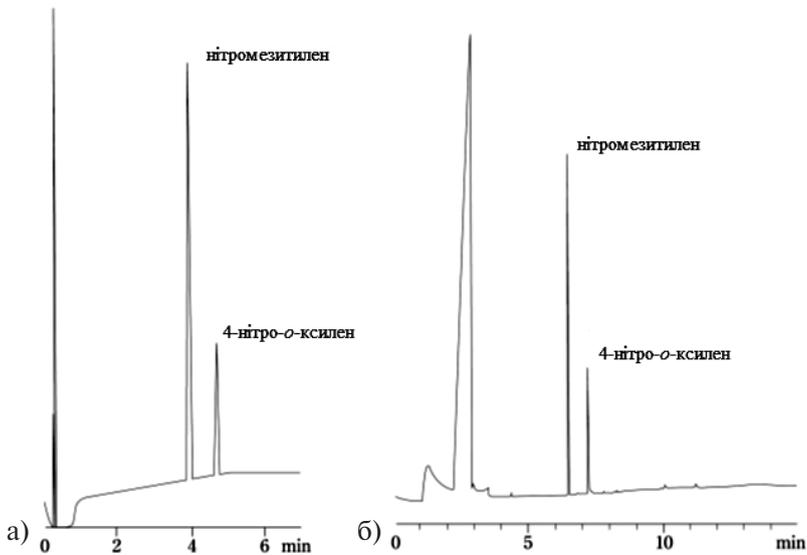


Рис. 8.1. Типові хроматограми нітрат-іона при його визначенні за нітрomezитиленом (за Osamu Suzuki та Kanako Watanabe): а) варіант 1; б) варіант 2

## 8.5. КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МІНЕРАЛЬНИХ КИСЛОТ, ОСНОВ ТА СОЛЕЙ В ДІАЛІЗАТАХ

Внаслідок виражених кислотних та основних властивостей відповідно для кількісного визначення кислот і основ застосовують метод кислотно-основного титрування з потенціометричною фіксацією точки еквівалентності. У випадку кислот застосовують метод алкаліметрії (титрування стандартним розчином лугу — натрій гідроксиду), для лугів — метод ацидиметрії (титрування стандартним розчином кислоти хлоридної); амоніак визначають способом зворотнього титрування (спочатку додають

надлишок стандартного розчину кислоти хлоридної, а потім відтитрують його стандартним розчином натрій гідроксиду).

Кількісне визначення кислоти хлоридної в дистилаті також проводять методом аргентометричного титрування (за Фольгардом) з потенціометричною фіксацією точки еквівалентності.

Кількісне визначення нітритів виконують спектрофотометричним методом після попередньої дериватизації за реакцією утворення азобарвника.

Нітрати та нітрити кількісно визначають методом газорідинної хроматографії за наведених вище умов.

Усі розглянуті речовини можна аналізувати за допомогою методу високоефективної рідинної іонообмінної хроматографії.

## РОЗДІЛ 9

# ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ФТОРИДІВ ТА КРЕМНІЙФТОРИДІВ. ЕКОЛОГІЧНА ТОКСИКОЛОГІЯ

### 9.1. ФТОРИДИ І КРЕМНІЙФТОРИДИ

Вільна кислота фторидна внаслідок малої доступності не має хіміко-токсикологічного значення. Найчастіше предметом хіміко-токсикологічного дослідження є її солі — фториди та гідрофториди металів, флуорборати та флуорсилікати.

**Фізико-хімічні властивості.** Фториди металів — кристалічні речовини з високими температурами плавлення, кислі солі — гідрофториди, легкоплавкі кристалічні речовини, добре розчинні у воді.

**Застосування.** Фториди застосовуються при виготовленні кислотостійких мастик та спеціального скла, в металургії як флюси, для травлення деревини, як реагент при фторуванні органічних сполук. Кислі солі — гідрофториди — використовуються як електроліти при отриманні елементарного флюору. Натрій фторид застосовується у сільському господарстві як інсектицид та зооцид.

**Поведінка в організмі.** Розчинні фториди легко всмоктуються. Малорозчинний кремнійфторид здатний всмоктуватися через шкіру. Швидкість їх екскреції мала, що призводить до накопичення їх в організмі, переважно у вигляді малорозчинного кальцій фториду. Фторид-іони у зв'язаному з неорганічними катіонами стані знайдені у тканинах тварин, переважно в кістках і зубах. Вміст фторидів у кілограмі свіжої кісткової тканини становить 0,1–0,3 г. Щодня з їжею людина одержує 0,2–0,3 мг фторидів.

**Токсична дія та симптоми отруєння.** Токсична дія розчинних фторидів, наприклад  $\text{NaF}$ , пов'язана з утворенням малорозчинного кальцій фториду  $\text{CaF}_2$ , що призводить

до порушення багатьох біохімічних процесів з участю  $\text{Ca}^{2+}$ . Фториди є енергійними інгібіторами окремих ферментів (ліпази, естерази, уретази, фосфатази та деяких каталаз).

*Летальна доза* натрій фториду для дорослої людини складає 5–10 г. Симптоми отруєння спостерігаються при надходженні до організму 0,25 г натрій фториду. Доза, нижча за смертельну, викликає нефрит та ураження печінки.

Діагностика отруєнь фторидами складна, оскільки клінічна та патологоанатомічна картини не характерні. Спостерігаються лише місцеві запальні явища. При гострому отруєнні виникає запалення слизової оболонки шлунка та кишечника, виникає відчуття печії в ділянці рота і горла, спрага, блювота і діарея. У тяжких випадках спостерігаються м'язові судоми, слабкість і тремор з подальшим розвитком дихальної і серцевої недостатності. Хронічне отруєння фторидами називають *флюорозом*. Ознаки флюорозу: плями на зубній емалі, кульгавість. Флюороз розвивається у людей, які працюють з порошками криоліту, кальцій фториду, якщо доза, що надходить до організму, перевищує 20 мг.

*Лікування отруєнь.* Фториди мало відрізняються від хлоридів, що знаходяться в організмі у величезних кількостях, тому вибірково вивести фториди з організму дуже важко. Доки фториди не всмокталися з ШКТ, застосовують методи очищення шлунка: викликання блювоти, промивання шлунка. Ефективного антидоту при отруєнні фторидами не існує. Далі для нейтралізації фторид-іонів рекомендовано внутрішньо застосувати препарати феруму або алюміній фосфат, які утворюють стійкі фторидні комплекси, або кальцій хлорид, який здатний зв'язувати фторид-іони у нерозчинний кальцій фторид.

### **Хіміко-токсикологічний аналіз**

*Ізолювання.* Фториди і кремнійфториди потребують спеціальних методів ізолювання з біологічного матеріалу. Його проводять у присутності суспензії кальцій оксиду для виключення втрати досліджуваних речовин. У фарфоровий тигель вносять 25 г подрібненого об'єкта, додають 13–14 мл суспензії кальцій оксиду (5 г кальцій оксиду та 15 мл води), суміш перемішують, змочують розчином амоній нітрату, висушують і витримують при температурі не вище 500 °С до повного спалювання. Зола промивають і висушують. Зола має містити малорозчинний кальцій фторид або кремнійфторид.

*Виявлення* фторидів і кремнійфторидів проводять за допомогою реакції травлення скла, реакції утворення гелю кислоти ортосилікатної та з алізариновим лаком.

• *Реакція «травлення» скла.* Частину залишку в платиновому (або свинцевому) тиглі змочують кількома краплями води і обливають невеликою кількістю кислоти сульфатної, тигель швидко накривають годинниковим склом, нижня поверхня якого покрита парафіном. Частину парафіну заздалегідь видаляють вістряем голки, роблячи умовний напис.



Тигель залишають на добу, після чого захисний шар парафіну видаляють, спостерігаючи травлення скла (умовний напис), викликане реакцією з фтористим воднем, що утворюється.



Чутливість реакції підвищується в 2–3 рази, якщо проводити реакцію при нагріванні. В цьому випадку як захисне покриття використовують лак.

• *Реакція утворення гелю кислоти ортосилікатної.* Частину золи змішують з  $\text{SiO}_2$  (піском), поміщають у пробірку і додають концентровану кислоту сульфатну. В отворі пробірки тримають скляну паличку з краплею води. Крапля мутніє внаслідок виділення кислоти силікатної з легкого кремній фториду, що утворюється (силіцій з силікату скла).

Фториди, що природньо містяться в організмі, та кремнійфториди не виявляються даними реакціями.

• *Реакція з алізаринцирконієвим лаком.* На смужку фільтрувального паперу наносять краплю суміші, що складається з рівних об'ємів 0,25 % розчину алізаринового червоного і 0,25 % розчину цирконій нітрату. Після підсушування на одержану пляму червоного кольору наносять досліджуваній розчин. За наявності в розчині фторид-іонів червоне забарвлення паперу переходить у жовте. Реакція високочутлива.

Фториди від кремнійфторидів відрізняють за допомогою реакцій з розчином амоній гідроксиду або натрій гідроксиду, солями калію та реакцією утворення гелю кислоти ортосилікатної.

• *Реакція з розчином амоній гідроксиду.* До водного розчину досліджуваної речовини додають декілька крапель 10 % розчину амоній гідроксиду (або натрій гідроксиду). При

нагріванні у присутності кремнійфторидів випадає осад кислоти ортосилікатної.



• *Реакція з солями калію.* До досліджуваного розчину додають 4 мл розчину калій хлориду. У присутності кремнійфторидів випадає білий осад складу  $\text{K}_2\text{SiF}_6$ . Додавання етанолу прискорює утворення осаду.

**Кількісне визначення фторидів.** Фториди визначають спектрофотометричним методом, що базується на утворенні потрійного комплексу алізарин-комплексону, церію і фтору. В мірну колбу місткістю 100 мл вносять 1–10 мл досліджуваного розчину, 10 мл  $5 \cdot 10^{-4}$  М розчину алізарин-комплексону, 2 мл ацетатного буферного розчину і додають 10 мл  $5 \cdot 10^{-4}$  М розчину церій нітрату. Вміст колби доводять до мітки і через 10 хв вимірюють оптичну густину при довжині хвилі 610 нм. Вміст фторидів розраховують за стандартним розчином натрій фториду.

## 9.2. ЕКОЛОГІЧНА ТОКСИКОЛОГІЯ ЯК НАПРЯМОК АНАЛІТИЧНОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

Глобальні масштаби антропогенного впливу людини на головні складові біосфери створюють передумови до деградації об'єктів довкілля, що, в свою чергу, може призвести до глибокої екологічної кризи. У зв'язку з цим для оптимізації умов взаємодії людини з природою важливою є роль всебічного аналізу навколишнього природного середовища, головними завданнями якого є комплексна оцінка екологічного резерву біосфери і її потенційних можливостей до самовідновлення і самоочищення, аналіз широкого спектра різних типів впливу на природні екосистеми і вивчення специфічних особливостей цих впливів.

На етапі усвідомлення людиною необхідності вивчення факторів, що безпосередньо або опосередковано впливають на зміни у довкіллі, викликані дією різноманітних негативних чинників, з'явилася нова галузь науки — екологічна токсикологія.

**Екологічна токсикологія** (екотоксикологія, від грец. *ekos* — житло, *toxikon* — отрута, *logos* — вчення) — міждисциплінарна галузь науки, що вивчає джерела надходження токсикантів у природні біосистеми, шкідливий вплив хімічних, біологічних

та фізичних агентів на живі організми, а також стійкість і функціонування біосистем в умовах їх токсичного забруднення.

Екологічна токсикологія є однією з наймолодших токсикологічних дисциплін, початок якій у 1962 р. дала книга Р. Карсон «Мовчазна весна», де авторка описує випадки масової загибелі птиці і риби через неконтрольоване використання пестицидів та наголошує на подібний негативний вплив ксенобіотиків і на людину в майбутньому. Книга викликала суспільний резонанс, почали з'являтися організації з охорони довкілля, викиди хімічних речовин стали регулювати на законодавчому рівні. Сам термін «екотоксикологія» почав використовуватися з 1973 року.

*Предмет* екологічної токсикології — біологічні системи, схильні до токсичного забруднення. *Метою* екотоксикології є розробка теоретичних основ і концепції взаємодії природних екосистем і виробничої діяльності людини.

До найважливіших *завдань* екотоксикології відносять:

- системний моніторинг джерел надходження екотоксикантів у природне середовище;
- вивчення на екосистемному рівні закономірностей впливу токсикантів на живі організми та відповідні їхні реакції;
- дослідження форм адаптації організмів до екотоксикантів;
- вивчення екотоксикокінетики та екотоксикодинаміки шкідливих речовин;
- встановлення основних механізмів дії токсикантів;
- розробку методів оцінки та розрахунку екотоксичної дії;
- вдосконалення процесу нормування та регулювання токсикантів;
- складання прогнозу впливу екотоксикантів, розрахунок ситуаційних наслідків застосування заходів ефективності протидії ураженню об'єктів біосфери;
- розробку і застосування методів знешкодження екотоксикантів залежно від обставин та терміну з моменту виникнення екотоксикохімічного ураження.

***Екотоксикодинаміка*** — розділ екотоксикології, який розглядає конкретні механізми розвитку та форми токсичного процесу, викликаного дією екотоксикантів на біоценоз і/або окремі види, його складові.

***Екотоксикокінетика*** — розділ екотоксикології, який розглядає частку ксенобіотиків (екополютантів) у навколишньому середовищі: джерела їх появи; розподіл в абіотичних та біотичних елементах довкілля; перетворення ксенобіотиків у середовищі існування; елімінацію з навколишнього середовища.

Екотоксикологічні дослідження об'єктів біосфери мають певні особливості. Важливими етапами визначення токсиканта є пробовідбір та пробопідготовка. На стадії відбору проби слід керуватися відповідними правилами, які залежать від об'єкта дослідження (вода, ґрунт, повітря), пори року, методики визначення тощо. Стадія пробопідготовки передбачає низку заходів, починаючи з попередньої очистки зразків, розділення і концентрування елементів, що визначаються. Також визначення токсикантів, особливо у невеликих кількостях, потребує застосування чутливих та специфічних методів аналізу, значних матеріальних ресурсів та часу.

На сьогодні екоаналітичний контроль об'єктів довкілля розвивається за двома напрямками: розробка максимально селективних і чутливих методів визначення індивідуальних речовин або поєднання методів попередньої пробопідготовки (поділу й концентрування) з неселективними методами визначення. Застосування таких комбінованих методів аналізу дозволяє отримувати необхідний результат, який відповідає всім метрологічним вимогам, швидше і з меншими матеріальними витратами, ніж при використанні унікального та високовартісного обладнання.

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

HPLC –	High Performance Liquid Chromatography
MTSS –	Merk Tox Screening System
TIAFT –	The International Association of Forensic Toxicologists
ААС –	атомно-абсорбційна спектрометрія
АЕС –	атомно-емісійна спектрометрія
ВЕРХ –	високоєфективна рідинна хроматографія
ВЕРХ-МС –	високоєфективна рідинна хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням
ГРХ –	газо-рідинна хроматографія
ГРХ-МС –	газо-рідинна хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням
ДЕЗ –	детектор електронного захоплення
ДМД –	діодно-матричний детектор
ДТП –	детектор за теплопровідністю
ЕТААС –	атомно-абсорбційна спектрометрія з електротермічною іонізацією
ІЗП-АЕС –	плазменна атомно-емісійна спектрометрія
ІЗП-МС –	мас-спектрометрія з індуктивно-зв'язаною плазмою
ІФА –	імуноферментний аналіз
ІЧ –	інфрачервоний (спектр)
КЗЕ –	капілярний зонний електрофорез
КПК –	Кримінальний процесуальний кодекс
ПІД –	полуменево-іонізаційний детектор
ПФІА –	поляризаційний флюороімунний аналіз

РІА –	радіоімунний аналіз
РСР –	робочі стандартні розчини
РФА –	рентгено-флюоресцентний аналіз
ТЛМ –	терапевтичний лікарський моніторинг
ТФЕ –	твердофазна екстракція
ТШХ –	тонкошарова хроматографія
УФ –	ультрафіолетовий (спектр)
ФІД –	фотоіонізаційний детектор
ФОС –	фосфорорганічні сполуки
ХТА –	хіміко-токсикологічний аналіз
ХОС –	хлорорганічні сполуки

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Вергейчик Т.Х.* Токсикологическая химия / Т.Х. Вергейчик. — М. : МЕДпресс-информ, 2009. — 400 с.
2. *Експрес-аналіз* гострих інтоксикацій : конспект лекцій / В.С. Бондар, В.І. Степаненко, О.О. Маміна та ін. — Харків : Вид-во НФаУ : Золоті сторінки, 2002. — 108 с.
3. *Еремін С.К.* Анализ наркотических средств / С.К. Еремін, Б.Н. Изотов, Н.В. Веселовская. — М. : Мысль, 1993. — 272 с.
4. *Крамаренко В.П.* Токсикологічна хімія / В.П. Крамаренко. — Київ : Вища шк., 1995. — 423 с.
5. *Лекарственная токсикология* / под ред. С.М. Дрогвоз, В.Д. Лукьянчука, Б.С. Шеймана. — Харьков : Титул, 2015. — 592 с.
6. *Лекции по лекарственной токсикологии* / С.М. Дрогвоз, Ю.В. Столетов, А.В. Зайченко и др. — Харьков : НФаУ, 2012. — 56 с.
7. *Лужников Е.А.* Клиническая токсикология : учебник / Е.А. Лужников, Г.Н. Суходолова. — 4-е изд., перераб. и доп. — М. : Мед. информ. а-во, 2008. — 576 с.
8. *Лужников Е.А.* Острые отравления : рук. для врачей / Е.А. Лужников, Л.Г. Костомарова. — М. : Медицина, 2000. — 434 с.
9. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства / М.Д. Машковский. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М. : Новая Волна, 2006. — 1206 с.
10. *Общая токсикология* / под ред. А.О. Лойта. — СПб. : ЭЛБИ СПб, 2006. — 244 с.
11. *Основи токсикології* : конспект лекцій для студентів фармац. вузів III–IV рівнів акредитації зі спец. «Технологія фармацевтичних препаратів» / В.С. Бондар, О.О. Маміна, В.І. Степаненко та ін. — Харків : Вид-во НФаУ, 2002. — 128 с.
12. *Токсикологічна хімія* : конспект лекцій / В.С. Бондар, О.О. Маміна, С.А. Карпушина та ін. — Харків : Вид-во НФаУ : Золоті сторінки, 2002. — 160 с.
13. *Токсикологічна хімія в схемах і таблицях* : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / В.С. Бондар, С.А. Карпушина, О.Г. Погосян та ін. — Харків : Вид-во НФаУ : Золоті сторінки, 2005. — 128 с.
14. *Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов* : учеб. пособие / под. ред. проф. Н.И. Калетиной. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 1016 с.
15. *Токсикологическая химия* : учеб. для вузов / Т.В. Плетенева, Е.М. Саломатин, А.В. Сыроежкин и др. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. — 512 с.

16. *Элленхорн М. Дж.* Медицинская токсикология: диагностика и лечение отравлений у человека : в 2 т. / М. Дж. Элленхорн ; пер. с англ. — М. : Медицина, 2003. — Т. 1. — 1048 с. ; Т. 2. — 1044 с.
17. *Baselt C.R.* Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man / C.R. Baselt. — 9-th ed. — Seal Beach Calif. : Biomedical Publications, 2011. — 1900 p.
18. *Clark's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material* / A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop [et al.]. — 4-th ed. — London; Chicago : Pharmaceutical Press, 2011. — 2736 p.
19. *Poisoning & Drug Overdose. Fourth Edition* / ed. by K.R. Olson. — Calif. : Zange Medical Books, Mc Graw-Hill, 2004. — 718 p.
20. *Suzuki Osamu.* Drug's and posions in humans / Osamu Suzuki, Kanako Watanable. — New York : Springer, 2005. — 672 p.

*Навчальне видання*

**Баюрка** Сергій Васильович  
**Бондар** Володимир Степанович  
**Мерзлікін** Сергій Іванович  
**Карпушина** Світлана Анатоліївна  
**Погосян** Олена Григорівна  
**Полуян** Світлана Михайлівна  
**Степаненко** Володимир Іванович  
**Шовкова** Зоя Віталіївна  
**Нетьосова** Кристина Юріївна  
**Москаленко** Валерія Юріївна  
**Ковальов** Віктор Миколайович

# *Аналітична* **ТОКСИКОЛОГІЯ**

Навчальний посібник  
для студентів вищих навчальних закладів

Редактор *Алла Миколук*  
Коректор *Тетяна Поливана*  
Комп'ютерне верстання *Олексія Якуніна*  
Оформлення обкладинки *Сергія Нурахметова*

Формат 60 × 90/16. Ум. друк. арк. 24,0. Тираж 500 пр. Зам. №938.

Національний фармацевтичний університет  
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК №3420 від 11.03.2009 р.

ТОВ «Золоті сторінки»  
вул. Маршала Бажанова, 28, м. Харків, 61002  
Тел./факс (057) 701–0–701  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК №276 від 12.12.2000 р.