

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования
НИЖЕГОРОДСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию
КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ И ФАРМАКОГНОЗИИ

Аналитическая токсикология.

Токсикологически важные вещества, подвергающиеся обязательному судебно-химическому исследованию

Группа веществ, изолируемых минерализацией
(«Металлические яды»)

Доцент кафедры фармацевтической химии и
фармакогнозии, к.х.н.,

Жильцова Ольга Евгеньевна

Классификация веществ по методам изолирования при ХТА.

I. Токсические вещества органической природы.

1. Группа токсикологически важных веществ, изолируемых дистилляцией («летучие яды»)
2. Группа токсикологически важных веществ, изолируемых экстракцией и сорбцией.

II. Токсикологические вещества неорганической природы.

1. Группа токсикологически важных веществ, изолируемых минерализацией: «металлические яды»
2. Группа токсикологически важных веществ, изолируемых экстракцией водой (настаиванием) с последующим диализом : кислоты (серная, азотная, соляная), щелочи (гидроксиды натрия, калия, аммония), нитраты и нитриты.
3. Группа токсикологически важных веществ, требующих особых методов изолирования: соединения фтора.
4. Группа веществ, не требующих особых методов изолирования: вредные пары и газы, оксид углерода.

Классификация биогенных элементов в зависимости от концентрации в организме человека (по Вернадскому):

- 1. Макроэлементы** (более 10^{-2} %).
O, C, H, N, P, S, Ca, Mg, Na, Cl.
- 2. Микроэлементы** (от 10^{-3} до 10^{-5} %)
I, Cu, As, F, Br, Sr, Ba, Co.
- 3. Ультрамикроэлементы** (ниже 10^{-5} %)
Hg, Au, V, Th, Ra, Se, Sb и другие.

По воздействию на организм человека металлы классифицируют следующим образом:

1. **Металлы, необходимые при питании человека и животных** (Co, Cu, Cr, Ge, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Si, V, Zn).
2. **Металлы, имеющие токсикологическое значение** (As, Be, Cd, Cu, Co, Cr, Hg, Mo, Ni, Pb, Pd, Se, Sn, Ti, V, Zn).

5 типов веществ в зависимости от их поведения в живых системах:

Необходимые (эссенциальные, незаменимые). В-ва, при недостатке которых в организме возникают функциональные нарушения, устраняемые путем введения в организм этого вещества.

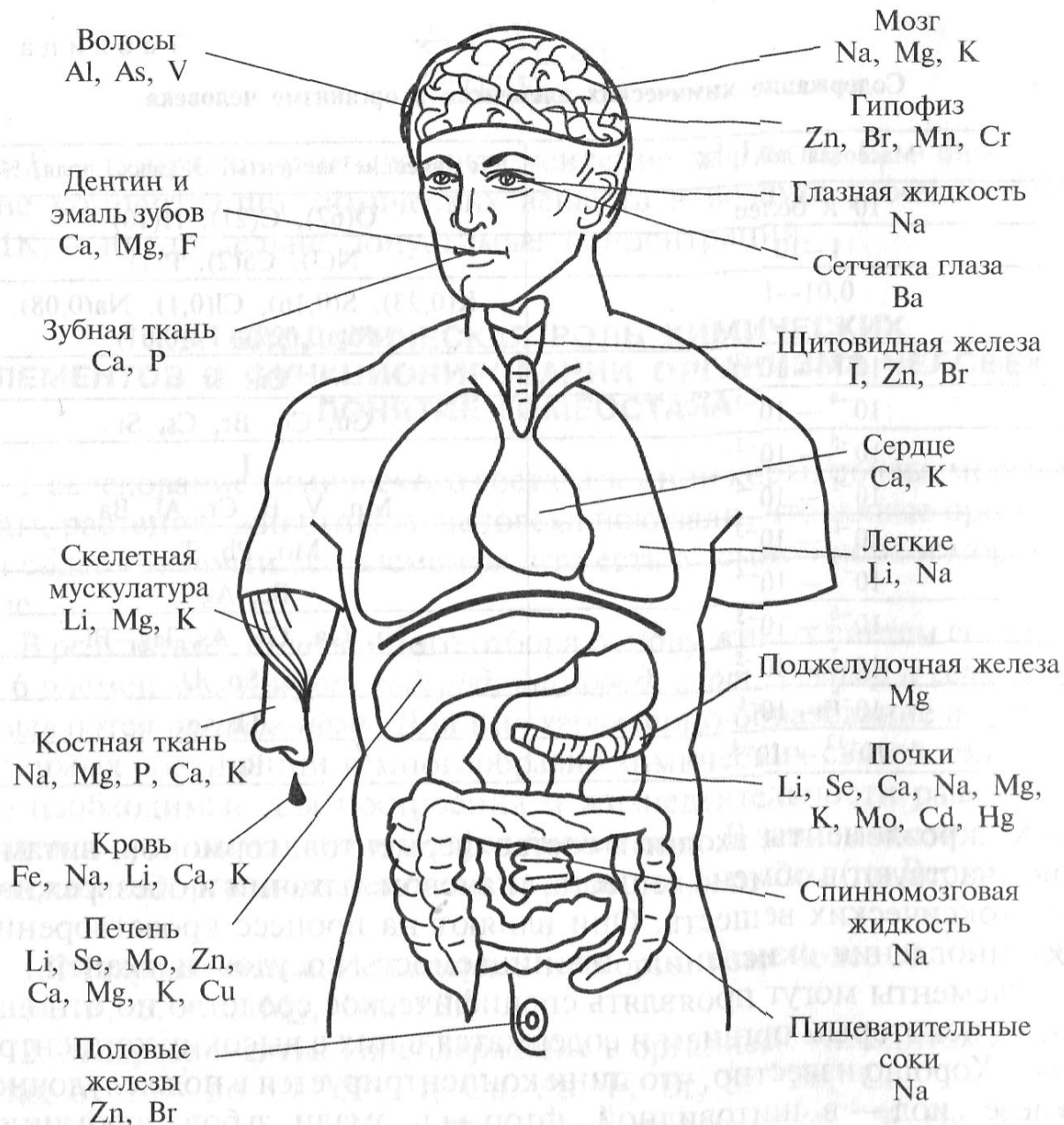
Стимуляторы. Могут быть как необходимые так и не необходимые ионы металлов.

Инертные. Эти вещества или ионы при определенных концентрациях являются безвредными и не оказывают никакого действия на организм. (Ta, Pt, Ag, Au).

Терапевтические. (Соединения ртути против паразитов, карбоксилатов цинка против бактерий, лития при маниакальной депрессии).

Токсичные. При высоких концентрациях большинство металлов становятся токсичными, причиняют вред организму, иногда необратимый, что ведет к функциональным нарушениям, деформациям, смерти.

Концентрирование некоторых химических элементов в органах, тканях и биожидкостях



Пути поступления металлов в организм:

Основной путь поступления - пероральный. (всасываются в ионизированном виде из-за хлоридов в желудочном соке и щелочной реакции кишечного сока).

Резорбтивный - характерен для ртути, таллия, хрома и некоторых других.

Ингаляционный - возможен в обычных условиях для паров ртути, либо для паров других металлов при плавлении.

Метаболизм, распределение:

Кровь, печень, почки, др. органы.

Восстановление: $\text{As}^{+5} \rightarrow \text{As}^{+3}$; $\text{Cr}^{+6} \rightarrow \text{Cr}^{+3}$

Окисление: $\text{Hg}^0 \rightarrow \text{Hg}^+$

Основные пути выведения:

Пот, волосы, моча, экскременты.

Механизм токсичности металлов

Физико-химические свойства обуславливающие токсичность:

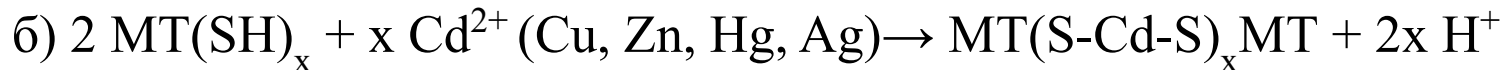
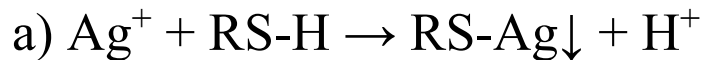
- степенью окисления элемента в соединении;
- электроотрицательностью;
- возможностью образования хелатных и комплексных соединений;
- размером частиц (особенно при отравлениях через органы дыхания);
- растворимостью и устойчивостью соединений в жидких биосредах,
- степенью гидратации образующихся ионов;
- способностью соединений к гидролизу,
- растворимостью и реакционной способностью продуктов гидролиза;
- способностью существовать в коллоидном и твердом состоянии в тканях.

Высокие степени окисления элемента соответствуют более токсичным ионам. (Исключение составляют соединения мышьяка. Арсенаты $As(V)$ менее токсичны, чем арсениты $As(III)$)

Механизм токсичности металлов

1. Проникновение элемента в липидорастворимой форме

2. Проникновение элементов в комплексе с белком



металлотионин

в) Транспорт ионов в виде комплексов с эндогенными лигандами по транспортным (структуроподобным системам)

г) Перенос ионов в свободной форме

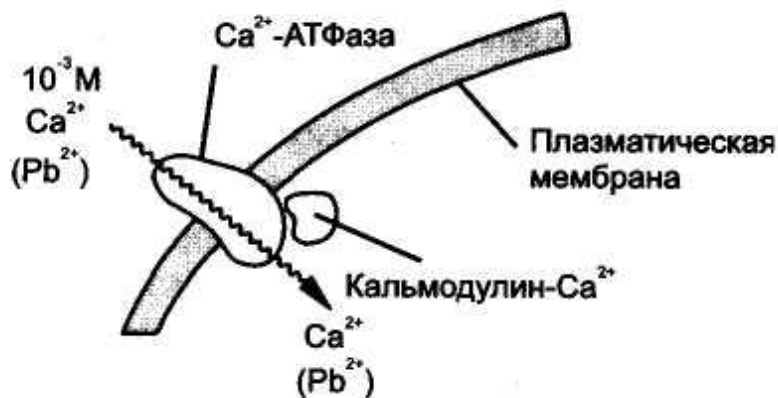


Рис. Использование кальциевых каналов для транспорта ионов Pb²⁺ (гипотетическая модель)

3. Комплексообразование с биолигандами, белками, в том числе ферментами и конкурентное замещение ионов металлов – кофакторов ферментов

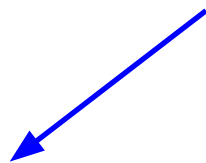
Важнейшими в токсикологическом отношении «металлическими ядами» являются соединения **Va, Bi, Cd, Mn, Cu, Hg, Pb, Ag, Tl, Cr, Zn, As, Sb** и др.

При проведении СХА (ненаправленного) предусмотрено обязательное исследование на указанные элементы.

Объекты исследования при отравлении «металлическими» ядами :

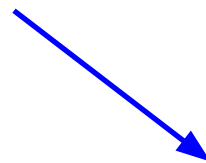
1. Печень,
2. Почки (ртуть, кадмий и таллий),
3. Моча (особенно при хронических отравлениях),
4. Кровь,
5. Слюна,
6. Волосы, ногти
6. Промывные воды желудка и др.

Минерализация - это окисление (сжигание) органического вещества (объекта) для освобождения металлов из комплексов с белками и другими соединениями.



«Мокрая минерализация»

- минерализация серной и азотной кислотами;
- минерализация серной, азотной и хлорной кислотами;
- минерализация для обнаружения ртути в объекте (частный метод)



«сухое» озоление

- **сплавления с карбонатом и нитратом натрия** (обнаружение мышьяка, сурьмы или для разделения свинца, бария, серебра)
- **метод простого сжигания** (обнаружение меди, марганца, висмута, цинка)

«сухое» озоление

Метод простого сжигания основан на нагревании органического вещества (объекта) при высокой температуре при доступе воздуха.

Посуда: фарфоровые, платиновые или кварцевые тигли.

Навеска: 1 - 3 г

Температура: 300-400 ° С.

Недостатки:

1. При нагревании возможно улетучивание металлов в виде солей или в индивидуальном виде (соединения ртути и таллия, хлориды кадмия, свинца, серебра, цинка, марганца, мышьяка).
2. Возможно взаимодействие некоторых металлов с материалом тигля (цинк, свинец, серебро могут реагировать с кварцем и фарфором, а кобальт может сплавляться с платиной).

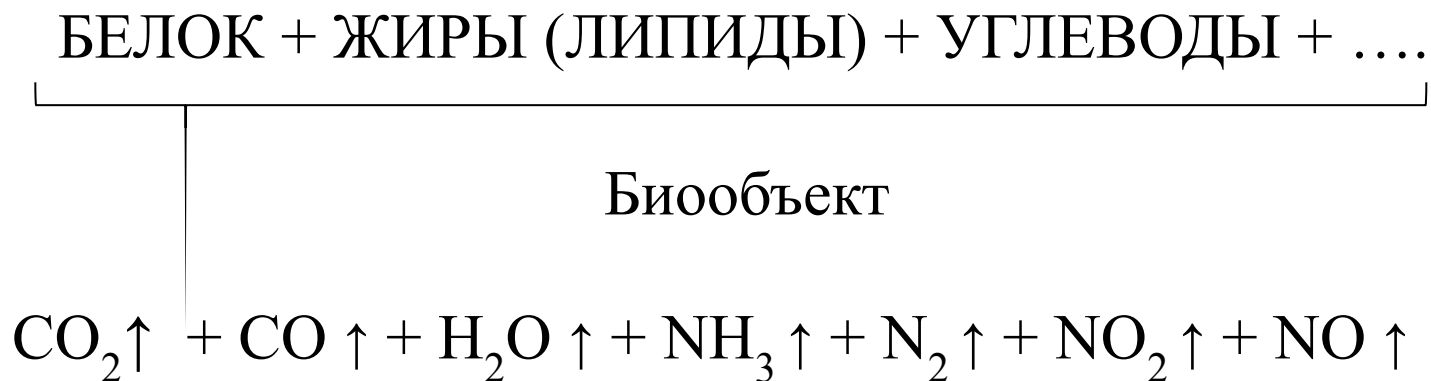
Сплавление с нитратами щелочных металлов основано на нагреве биологического материала с расплавленными нитратами щелочных металлов. (для предотвращения бурного протекания реакции применяют смесь нитратов с карбонатами щелочных металлов).

«Мокрая минерализация»

Применяется при общем (ненаправленном) исследовании на группу металлических ядов (исключение – ртуть)

Используют смеси кислот HNO_3 , HClO_4 , H_2SO_4 и др. кислотами в присутствии других окислителей (например H_2O_2 , KClO) или Kt

Основные процессы:

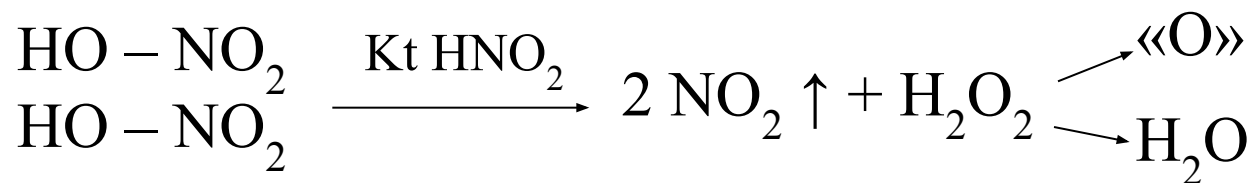


Минерализация серной и азотной кислотами

Потери: As, Se, Hg и др. Э

В колбу Кьельдаля помещают 100 г измельченного объекта и 75 мл смеси равных объемов азотной, серной кислот и воды. Над колбой закрепляют делительную воронку с азотной кислотой, разбавленной водой очищенной 1:1

I стадия (деструкция) - медленное нагревание не допуская обугливания объекта (разрушение всех органических соединений, кроме жиров). Время: 15-40 минут. Температура не должна превышать 110°C.



Kt HNO₂ появляется при част. разложении

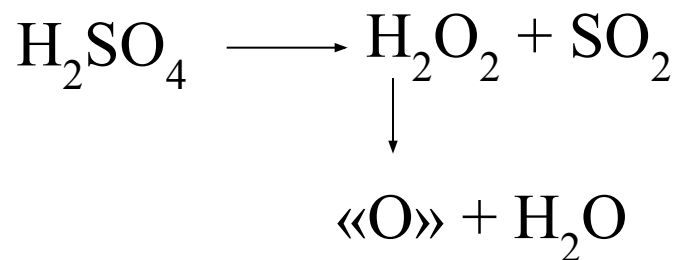
Концом первой стадии минерализации является момент получения прозрачной жидкости желтоватого или буроватого цвета.

H₂SO₄ – водоотнимающий агент; **HNO₃** - окислитель

Минерализация серной и азотной кислотами

II стадия - усиление нагрева и добавка по каплям азотной кислоты из делительной воронки (полное разрушение, в т.ч. жиров).

Время: 3-4 часа



Окислитель - H_2SO_4 конц. (её концентрация повышается в смеси до 60-70%, температура превышает 110 °С).

Концом второй стадии минерализации является момент, когда

- начинает выделяться белый туман (пары SO_2);
- жидкость остается бесцветной;
- минерализат не темнеет в течение 30 минут без добавления кислоты азотной.

Минерализат бесцветный или желтоватый - за счет железа (III), меди или хрома – голубоватый или зеленоватый.

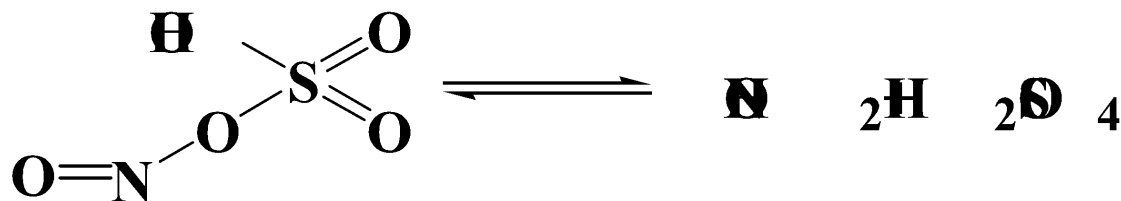
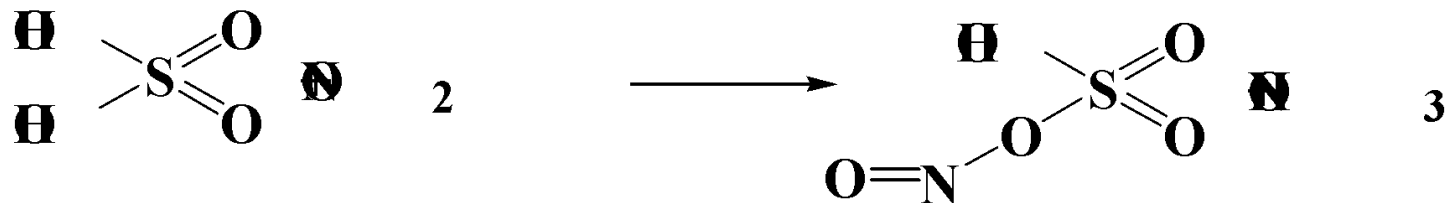
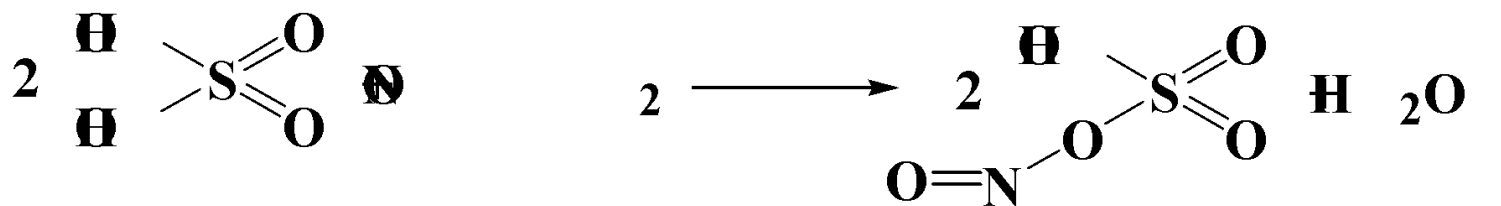
Минерализация серной и азотной кислотами

Побочные реакции

1. Сульфирование и нитрование с образованием очень прочных продуктов деструкции (сульфо- и нитросоединений) - неполное разрушение биообъекта.

При разбавлении H_2SO_4 и HNO_3 водой степень нитрования - сульфирования значительно снижается.

2. Образование нитрозилсерной кислоты при взаимодействии оксидов азота с H_2SO_4 конц.



Минерализация серной и азотной кислотами

Достоинства метода:

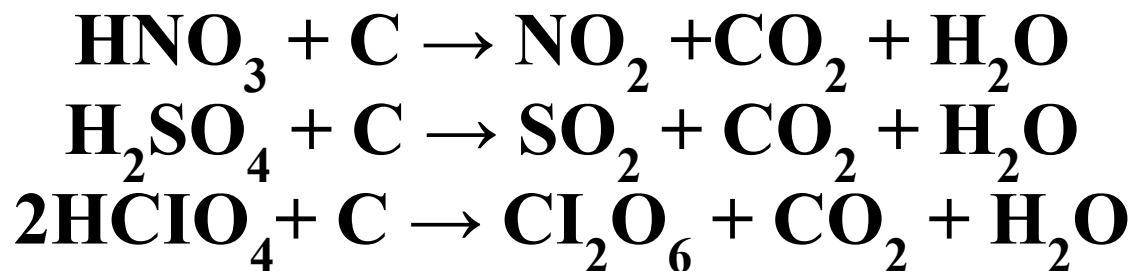
1. Сравнительно быстрое достижение полноты разрушения органических веществ.
2. Полнота разрушения объекта обуславливает большую чувствительность методов анализа катионов металлов.
3. Малый объем получаемого минерализата, что также повышает чувствительность методов анализа.

Основным недостатком метода являются большие потери Hg (до 90-98%) за счет её летучести. Поэтому изолирование ртути в виде ионов проводят в отдельной навеске биообъекта частным методом изолирования, который исключает использование высоких температур, процесс ведется в присутствии катализатора (этанола).

Минерализация серной, азотной и хлорной кислотами

Потери As, Sb, Hg, Au, Fe

Окислитель: H_2SO_4 , HNO_3 , 37% или 42% HClO_4 . (1:1:1)



В колбе Кьельдаля к измельченному объекту добавляют по 25 мл концентрированных серной и азотной кислот и 35 мл 37-42 % хлорной кислоты.

Готовый прозрачный минерализат разбавляют водой очищенной (1:1) и прибавляют 25% раствор аммиака.

Отсутствие оранжевого окрашивания (реакция на триптофан, тирозин, фенилаланин) = минерализация окончена.

Минерализация серной, азотной и хлорной кислотами

Достоинства:

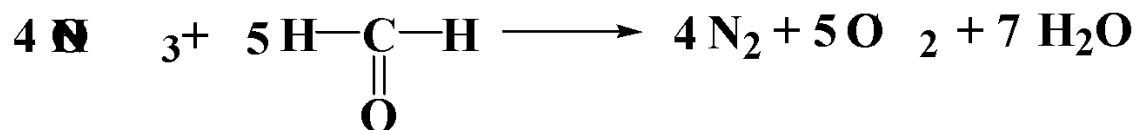
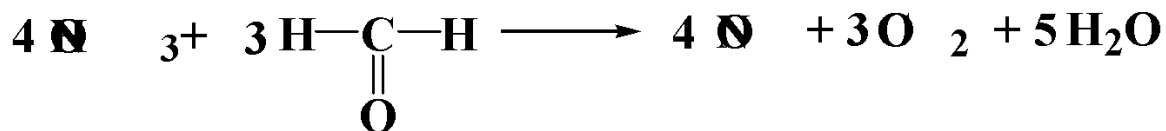
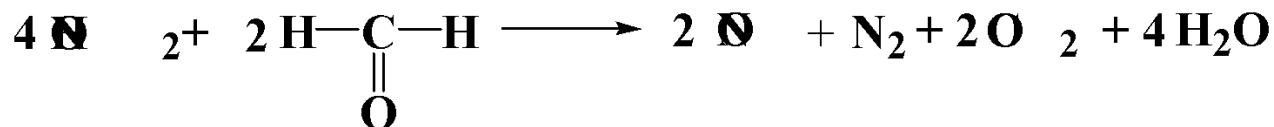
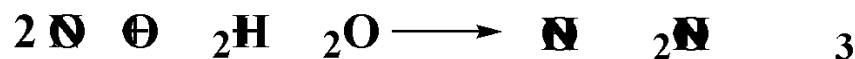
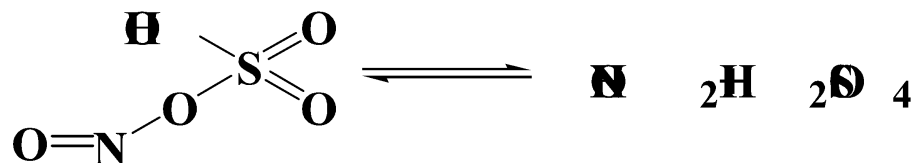
1. Высокая скорость минерализации, сокращение в 2-3 раза затрат времени в сравнении с первым методом.
2. Очень высокая степень окисления органических веществ (до 99 %), что обусловлено способностью хлорной кислоты разрушать вещества стойкие или медленно разлагающиеся другими окислителями.
3. Окисление большинства поливалентных металлов до высших степеней окисления.
4. Небольшой расход окислителей.
5. Малый объем получаемого минерализата, что повышает чувствительность методов анализа.

Недостаток – практическая полная потеря ртути и взрывоопасность и токсичность хлорной кислоты.

Минерализация

Денитрация (удаление оксидов азота, азотной, азотистой кислот).

Минерализат нагревают до 110-130°C и по каплям вносят формалин. Время: 1-2 минуты



Отсутствие синего окрашивания при добавлении дифениламина в серной кислоте = окончание денитрации.

Готовый минерализат доводят водой очищенной до 180 мл.

При образовании осадка, жидкость нагревают до кипения для укрупнения осадка и охлаждают. Осадок отфильтровывают и промывают 1% раствором серной кислоты.

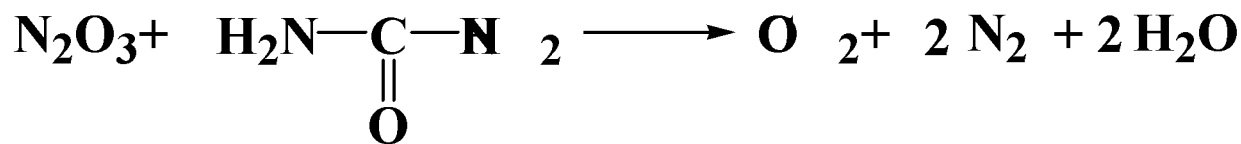
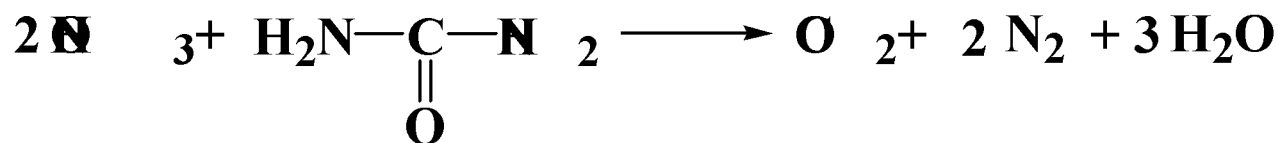
Метод минерализации для обнаружения ртути

МЕТОД А.Н.Крыловой.

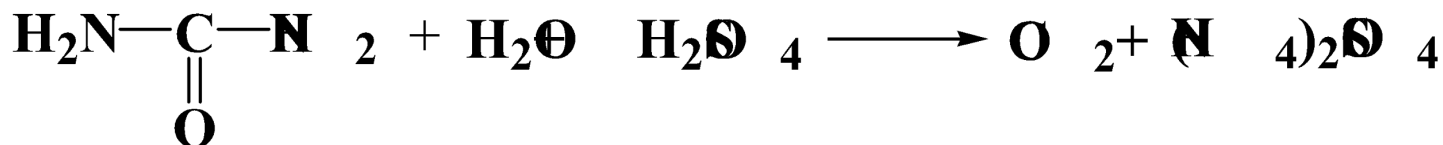
К объекту массой 20 г (печень или почки отдельно) добавляют 5 мл воды очищенной, 1 мл этилового спирта и 10 мл концентрированной азотной кислоты. Затем добавляют 10 мл концентрированной серной кислоты.

Колбу оставляют на 15 минут при комнатной температуре до прекращения выделения оксидов азота, а затем нагревают на водяной бане 10-20 минут.

Горячий деструктат фильтруют в колбу с 20 мл насыщенного раствора мочевины (денитрация).



Избыток мочевины удаляют нагреванием в присутствии серной кислоты.



Связь ртути с белками разрушается, не окисленными остаются жиры и некоторые аминокислоты.

Метод минерализации

1. Реагент: $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{O}_2$ Биопроба – Раст.

Возможные потери Pb, Se

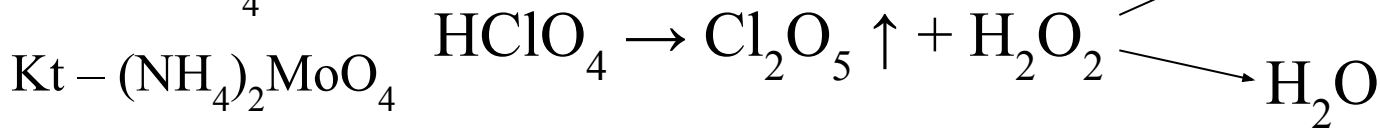
2. Реагент: HNO_3 Быстрое озоление в спец. контейнерах (бомбах, автоклавах), тефл. сосуды при 350°C в микроволновой печи.

Возможные потери Co, Zn, Mn

3. Реагент: $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ Биопроба – Раст. + Ж.

Быстрое озоление при низких t^0

4. Реагент: HClO_4



5. Реагент: $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4$

6. Реагент: $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ Биопроба - белки, не содержащие липидов

Возможна потеря Pb

7. Реагент: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$

Проба – мин. образцы, за исключением жиров, пластмассы

Анализ минерализата химическим (дробным) методом А.Н. Крыловой

Суть метода - определение одних ионов металлов в отдельных небольших порциях исследуемого раствора в присутствии других без их предварительного разделения на группы

Особенности метода:

- 1) Для каждого катиона не менее двух методов определения в широких пределах концентраций.
- 2) В виде диэтилдитиокарбаматов выделяется медь, висмут, цинк и кадмий Hg^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Bi^{3+} , Sb^{3+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} . Согласно этому ряду каждый предыдущий металл вытесняет последующий из его соли с диэтилдитиокарбаминовой кислотой.
- 3) С дитизоном обнаруживаются ионы свинца, серебра, таллия, цинка.
- 4) Для исключения влияния других ионов на результаты реакций используют прием маскировки.
- 5) Осадок после получения минерализата отфильтровывают через плотный фильтр, который промывают 15-20 мл 0,2 М раствором серной кислоты, а затем 10 мл воды. Промывные воды присоединяют к основному фильтрату и доводят его общий объем до 200 мл. Промытый осадок исследуют на соединения бария и свинца, фильтрат – на остальные катионы.

ОСАДОК НА ФИЛЬТРЕ повторно обрабатывают кипящим раствором ацетата аммония, подкисленным уксусной кислотой.

Сульфат бария остается на фильтре. Сульфат свинца переходит в раствор.



Последовательность анализа фильтрата:

- начинают с обнаружения— марганца и хрома (чувствительность метода снижается при избытке хлоридов до обнаружения серебра).
- обнаружение катиона серебра, с последующей фильтрацией минерализата и удалением хлорида серебра,
- обнаружение меди предшествует анализу на катион сурьмы;
- обнаружение катиона сурьмы, - исследование на мышьяк (III)

Маскировка - процесс устранения влияния мешающих ионов находящихся в сложной смеси, для обнаружение искомым ионов.

Основной способ маскировки в ХТА - комплексообразование

$[\text{Cu}(\text{CN})_4]_2$ - Реакция меди с сероводородом не пойдет.

Демаскировка ионов - это процесс освобождения ранее замаскированных ионов от маскирующих реагентов.

1. Цианиды (CN^-) образуют комплексы с Co, Cu, Zn, Fe, Cd, Hg, Ag.
2. Фосфаты (PO_4^{3-}) - применяются для связывания ионов Fe (III) при исследовании на Mn, Cr, Cu.
3. Тиосульфаты ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) - применяются для маскировки ионов Cd (II) при анализе на Zn, а также Ag, Pb, Fe (III), Cu и др. ионы.
4. Тиомочевина ($(\text{NH}_2)\text{CS}$) - применяется для маскировки ионов Bi, Fe (III), Sb, Hg, Ag и др.
5. Используются также фториды, трилон Б, кислота лимонная и её соли цитраты, кислота винная и её соли тартраты и др.
6. Гидроксиламин и кислота аскорбиновая используются для маскировки как восстановители

Исследование минерализата

"Металлический яд"	Реакции	
	Предварительные (Основные)	Подтверждающие
<i>Марганец</i>	С калия периодатом (розовый или красно-фиолетовый цвет)	С аммония персульфатом (розовый или красно-фиолетовый цвет)
<i>Хром</i>	С дифенилкарбазидом (розовый или красно-фиолетовый цвет)	Образование надхромовых кислот (голубой или синий цвет)
<i>Серебро</i>	С дитизоном (золотисто-желтый цвет)	Образование AgCl (осадок или муть белого цвета)
<i>Висмут</i>	С 8-оксихинолином (розово-оранжевый цвет) или тиомочевинной (лимонно-желтый цвет)	С калия бромидом и бруцином (красные кристаллы)
<i>Цинк</i>	С дитизоном (розовый или красно-фиолетовый цвет)	Образование ZnS (осадок или муть белого цвета)
<i>Мышьяк</i>	Проба Зангер-Блека	Реакция Марша
<i>Сурьма</i>	С бриллиантовым или малахитовым зеленым (голубой или синий цвет)	Образование SbS (осадок оранжевого цвета)

Исследование минерализата

"Металлический яд"	Реакции	
	Предварительные (Основные)	Подтверждающие
<i>Медь</i>	С диэтилдитиокарбаматом свинца (желтый или коричневый цвет)	С пиридинродановым реактивом (изумрудный цвет)
<i>Таллий</i>	С бриллиантовым или малахитовым зеленым (голубой или синий цвет)	Образование таллия дитизоната (красный цвет)
<i>Кадмий</i>	Резкстракция из комплекса с диэтилдитиокарбаматом и образование CdS (осадок желтого цвета)	С калия бромидом и бруцином (бесцветные кристаллы)
<i>Барий</i>	Перекристаллизация с концентрированной серной кислотой	Растворение $BaSO_4$
<i>Свинец</i>	С дитизоном (пурпурно-красный цвет)	Резкстракция из комплекса (зеленый цвет)
<i>Ртуть</i>	С дитизоном (желто-оранжевый цвет)	Образование $Cu_2[HgI_4]$ (розовый, красный или оранжевый осадок)

Количественное определение

1. Гравиметрический (весовой метод)	барий (в виде BaSO_4)
2. Титриметрический: -комплексонометрия <i>прямая</i> <i>обратная</i> - йодометрический - роданометрический -аргентометрический	барий (в виде BaSO_4) висмут, медь, кадмий, цинк свинец, барий свинец серебро мышьяк
3. Фотоэлектроколориметрия - с калия перйодатом - с дитизоном -с малахитовым или бриллиантовым зеленым - с дифенилкарбазидом - с диэтилдитиокарбаматом свинца - с тиомочевинной	марганец ртуть, свинец, серебро, таллий сурьма, таллий хром медь висмут
4. Колориметрический (визуальный) - с суспензией меди иодида - проба Зангер-Блека	ртуть мышьяк

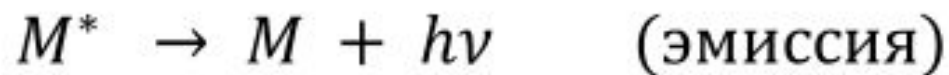
Количественное определение

5. Атомно-абсорбционная и атомно-эмиссионная спектрометрия

ААС – это метод количественного элементного анализа, основанный на измерении поглощения атомным паром монохроматического излучения, энергия кванта $h\nu$ которого соответствует резонансному переходу в атомах определяемого элемента.

В эмиссионной спектроскопии возникновение аналитического сигнала обусловлено переходом электрона с возбужденного энергетического уровня на нижележащий уровень с испусканием кванта электромагнитного излучения;

В абсорбционных методах измеряется ослабление светового потока, связанного с поглощением кванта и переходом атома на возбужденный уровень:



**Группа веществ, изолируемых из
биологического материала дистилляцией
(«Летучие яды»).**

Общая характеристика группы

1. **Синильная кислота** HCN
2. **Алкилгалогениды.** CHCl_3 , $\text{C}_1_3\text{C-CH(OH)}_2$, CCl_4 , $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$, C_2Cl_6
3. **Альдегиды и кетоны алифатического ряда.** CH_2O , $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$
4. **Алканолаы.** CH_3OH , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$, $\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$, $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$.
Диолы. $\text{CH}_2\text{OH-CH}_2\text{OH}$
5. **Сложные эфиры алифатического ряда.** Амилнитрит, амилацетат.
6. **Карбоновые кислоты алифатического ряда.** CH_3COOH , $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-COOH}$.
7. **Сероуглерод** CS_2
8. **Элементоорганические соединения жирного ряда.** $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$
(тетраэтилсвинец)

Общая характеристика группы

9. **Ароматические углеводороды.** C_6H_6 (бензол), $H_3C-C_6H_5$ (толуол), ксилолы
10. **Нитро- и аминопроизводные ароматического ряда.** $C_6H_5NO_2$ (нитробензол), $C_6H_5NH_2$ (анилин)
11. **Оксипроизводные ароматического ряда.** C_6H_5OH (фенол), **крезолы**, кислота салициловая
12. **Фосфор и первые продукты его окисления и восстановления.** H_3PO_2 (кислота фосфорноватистая), H_3PO_3 (кислота фосфористая), PH_3 (фосфин), ФОСы (эфиры фосфорных кислот)
13. **Жидкие алкалоиды.** Кониин, никотин, анабазин

Токсикодинамика и токсикокинетика «летучих ядов»

$$СД = K \frac{A(C_1 - C_2)}{d} \quad \text{Закон Фика}$$

Механизм транспорта – простая диффузия

Абсорбция происходит в альвеолах, в верхних отделах дыхательных путей

Коэффициент распределения

$$K = \frac{C_{\text{крови}}}{C_{\text{альвеолы}}}$$

Распределение. Растворители, всасывающиеся из желудочно-кишечного тракта в систему портальной вены, попадают в печень и выделяются с желчью. Они могут также элиминироваться органами дыхания.

Константа скорости печеночной элиминации зависит от количества токсиканта.

Константа скорости элиминация через легкие не зависит от концентрации растворителя в крови.

Скорость переноса летучих ядов зависит от скорости артериального кровотока и коэффициента распределения растворителя в системе ткань – кровь.

Механизм токсичности летучих ядов

Поражение происходит в первую очередь в легких.

Основной орган-мишень – ЦНС.

ИЗОЛИРОВАНИЕ ЛЕТУЧИХ ЯДОВ ИЗ БИОМАТЕРИАЛА МЕТОД ДИСТИЛЛЯЦИИ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ

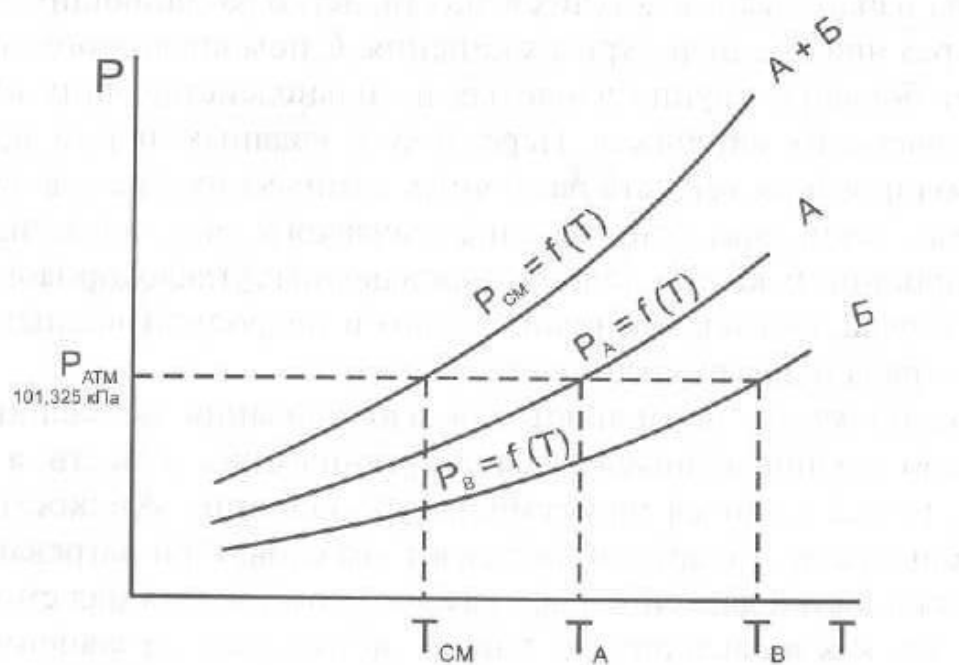
1. Жидкости взаимно не растворимы
2. Жидкости ограниченно растворимы друг в друге (толуол, нитробензол, дихлорэтан, тетраэтилсвинец и др.)
3. Компоненты смешиваются в любых соотношениях (метанол, ацетон, формальдегид, этиленгликоль, уксусная кислота)

Двухфазная система : при нагревании смеси давление пара каждой жидкости будет таким же, как и давление ее пара в чистом виде, независимо от наличия другой жидкости. Каждая жидкость в смеси будет вести себя так, как будто отсутствует другая жидкость.

ИЗОЛИРОВАНИЕ ЛЕТУЧИХ ЯДОВ ИЗ БИОМАТЕРИАЛА МЕТОД ДИСТИЛЛЯЦИИ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ

Закон Дальтона

Общее давление паров смеси (упругость) равно сумме парциальных давлений (упругостей) ее компонентов при данной температуре.



$$P_{\text{общее}} = P_{\text{воды}} + P_{\text{вещества}}$$

Рис. Диаграмма состояния (P-T) для двух несмешивающихся жидкостей (A и B) и их смеси.

ИЗОЛИРОВАНИЕ ЛЕТУЧИХ ЯДОВ ИЗ БИОМАТЕРИАЛА МЕТОД ДИСТИЛЛЯЦИИ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ

$$\begin{cases} W_0 \\ W_W \end{cases} = \frac{M_0 P_0}{M_W P_W}$$

где W_0 и W_W – масса органического вещества и воды в дистилляте;

M_0 и M_W – соответствующие молекулярные массы;
 P_0 и P_W – упругости паров.

Азеотропными называются смеси, у которых пар, находящийся в равновесии с жидкостью, обладает теми же свойствами, что и сама жидкая смесь (алкилгалогениды (хлороформ, CCl_4), этиловый и изоамиловый спирты, фенол, анилин и др.)

Однофазная система: Если индивидуальная температура кипения вещества низкая (ацетон, метиловый спирт), то оно перегоняется быстро и полностью. При высокой $T_{кип}$ обычно полноты отгонки не достигается.

ИЗОЛИРОВАНИЕ ЛЕТУЧИХ ЯДОВ ИЗ БИОМАТЕРИАЛА МЕТОД ДИСТИЛЛЯЦИИ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ

Достоинства метода:

1. Происходит изолирование и одновременная очистка анализируемых веществ
2. Изолируются вещества, которые разлагаются при температуре кипения, имеют высокую температуру кипения и вещества нерастворимые в воде
3. Извлекаются вещества разных классов химических соединений.

Недостатки метода:

1. Длительность
2. Трудоемкость
3. Требуется специальная аппаратура
4. Необходимость знания физико-химических параметров изолируемых веществ

Объекты судебно-химического исследования. Пробоподготовка

Объекты судебно-химического исследования с целью обнаружения «летучих ядов» : внутренние органы трупа, кровь, моча.

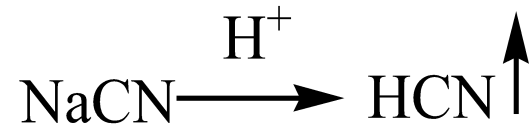
При подозрении на отравление хлорорганическими веществами дополнительно направляется сальник и 1/3 головного мозга, метанолом - 1/3 головного мозга, этанолом - кровь из крупных вен, моча, мышечная ткань.

Стадии изолирование «летучих ядов»

- Измельчение объекта.
- Смешивание с водой до густой кашицы.
- Подкисление до рН 2-3.
- Перегонка.

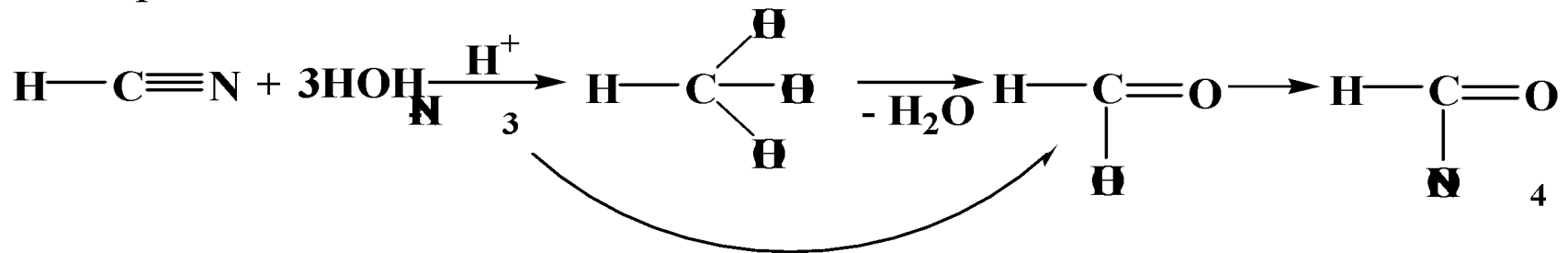
Подкисление

Цель - превратить нелетучие соли синильной кислоты (цианиды калия, натрия), в виде которых она находится в биологическом объекте, в свободную HCN, являющуюся легко летучим соединением

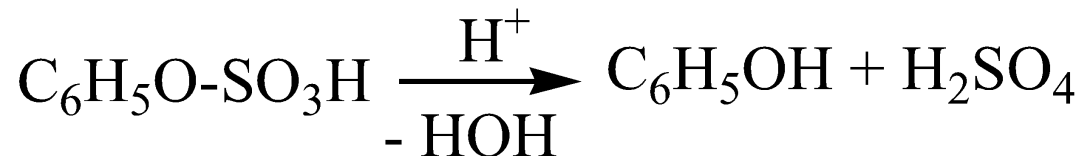


Нельзя использовать сильные минеральные кислоты, т.к. это приводит к:

1) разрушению молекулы HCN (гидролиз), что приведет к ее потере и недооткрытию:



2) переоткрытию фенола в результате гидролиза его сернокислых эфиров, являющихся нормальной частью биологического материала:



Аппаратура и техника перегонки

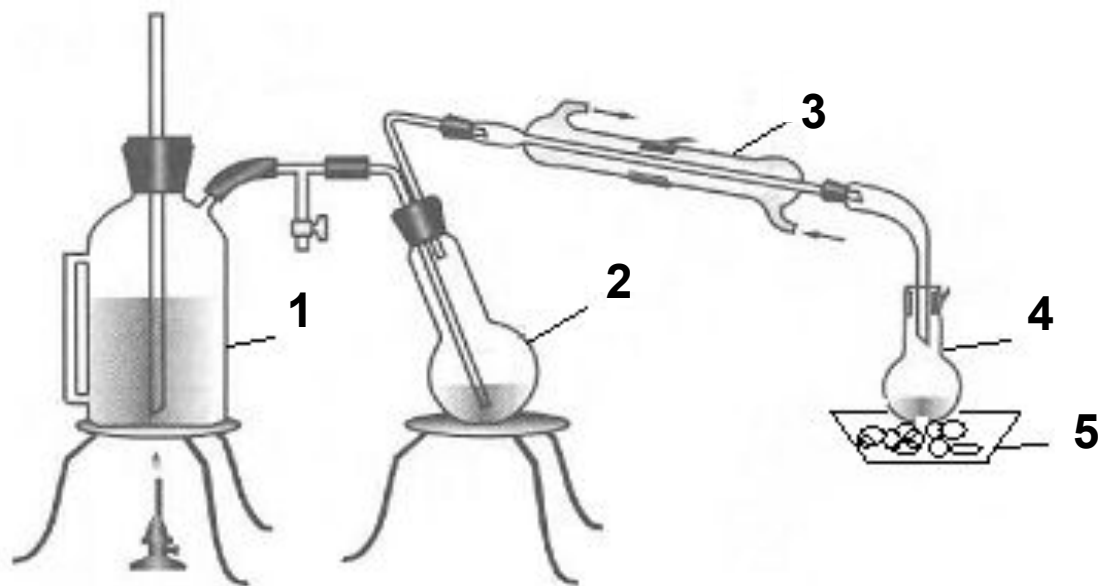


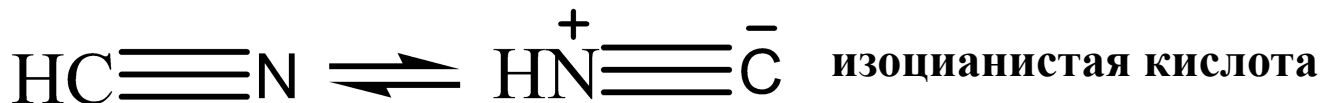
Рис. Установка для изолирования летучих ядов перегонкой с водяным паром.

1 - парообразователь; 2 – колба с объектом исследования; 3 - холодильник; 4 – приемник дистиллята, 5 – охлаждающий кристаллизатор.

При проведении исследования на группу «летучих» ядов, необходимо обращать внимание на следующее:

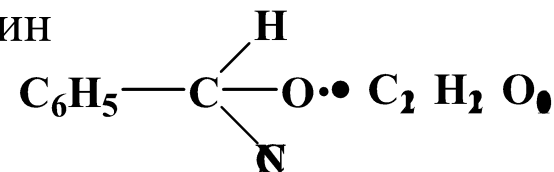
1. Запах объекта
2. Запах и внешний вид дистиллята.

СИНИЛЬНАЯ КИСЛОТА

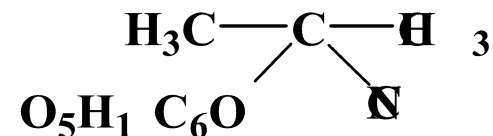


Источники отравления:

1. ядра горького миндаля, абрикоса, вишни, лавровишни и др. растений семейства Rosaceae, содержащие гликозид амигдалин



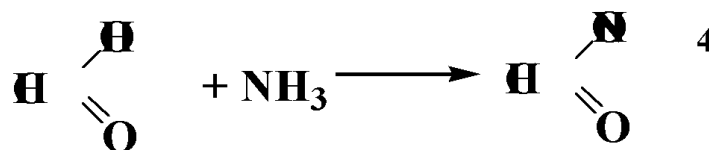
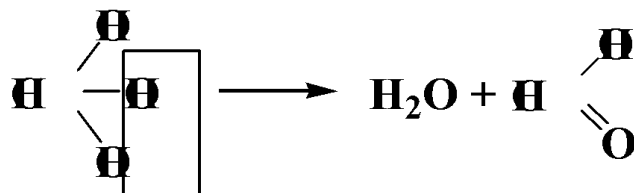
2. фасеолюнатын – гликозид индийских бобов (Phaseolus lunatus)



3. линамарин – гликозид семян льна
4. манник водяной, содержащим гликозид, отщепляющий HCN
5. дициан [(CN)₂], хлор- и бромцианы (ClCN, BrCN)
6. горение целлулоида
7. Следы HCN содержатся также в табачном дыме!

Смертельная доза чистой синильной кислоты - 0,05 — 0,1 г; цианида калия 0,15—0,25 г, ядер горького миндаля - 40—60 штук, а у детей —10—12 шт, Горькоминдальной воды (Aqua Amygdalarum amararum) - 60—100 мл

Биотрансформация синильной кислоты

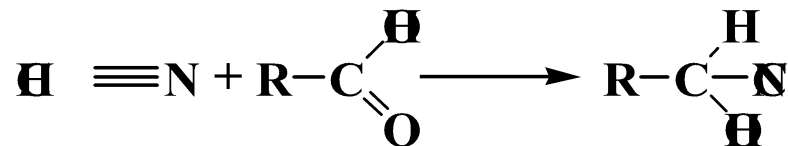


2. Превращение в роданиды (тиоцианаты) под влиянием фермента роданазы:
 $\text{KCN} \rightarrow \text{KSCN}$ (составная часть организма).

3. Соединение с гемоглобином крови.

4. Связывание с цистеином.

5. Присоединение к веществам, содержащим альдегидную группу, например к сахарам:



При хранении: $\text{KCN} + \text{CO}_2 + \text{HOH} = \text{KHCO}_3 + \text{HCN}$

Качественное обнаружение синильной кислоты

1. Реакция образования берлинской лазури (синее окрашивание). **Предел обнаружения (П.О.) 20 мкг/мл**
2. Реакция образования полиметинового красителя с помощью пиридин-бензидинового реактива (красное окрашивание). **П.О. 0,2 мкг в пробе.**
3. Микрокристаллическая реакция образования цианида серебра. **П.О. 0,1 мкг в пробе.**

Количественное обнаружение синильной кислоты

1. **Фотоколориметрический метод. Основан на реакция образования полиметинового красителя с помощью пиридин-бензидинового реактива.**
2. **Аргентометрический метод (метод Фольгарда) используется при содержании синильной кислоты >1 мг в 100 г объекта.**

При исследовании *свежего* трупного материала - объемное определение: взаимодействие HCN с 0,1н (или 0,01н при малых количествах HCN) раствором AgNO₃. Непрореагировавший нитрат серебра оттитровывают 0,1н (или 0,01н) раствором роданида аммония или калия при индикаторе железоммонийные квасцы.

При *не вполне свежем* трупном материале такой способ количественного определения неприменим, так как сероводород, содержащийся в объекте исследования, будет реагировать с нитратом серебра, образуя сульфид серебра. В таких случаях обычно применяют весовой метод определения CN.

Алкилгалогениды

Токсикант	Описание	$T_{\text{кип,}}^{\circ\text{C}}$	Растворимость	Продукты разложения
<p>Хлороформ (трихлорметан)</p> <p>CHCl_3</p> <p>Смертельная доза – 50-70 г</p>	Бесцветная, прозрачная, подвижная и легколетучая жидкость, обладающая характерным запахом и жгучим вкусом. Удельный вес 1,498 г/см ³	59,5-62	Р в H ₂ O 1:200. Со спиртом, эфиром, бензином смешивается во всех отношениях.	COCl ₂ (фосген), HCOOH, HCl
<p>Четыреххлористый углерод (тетрахлорметан, фреон-10)</p> <p>CCl_4</p> <p>Смертельная доза – 15-50 мл</p>	Прозрачная, подвижная, негорючая, тяжелая жидкость с запахом, напоминающим запах хлороформа. Удельный вес 1,594—1,600 г/см ³	75,5—77,5	ПНР в H ₂ O (0,077 г/мл при 25°), хорошо смешивается с б/в спиртом, эфиром, бензолом, бензином	COCl ₂ (фосген)
<p>Хлористый этилен (1,2-дихлорэтан)</p> <p>$\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_2$</p> <p>Смертельная доза – 20 мл</p>	Тяжелая, бесцветная, подвижная жидкость с запахом, напоминающим запах хлороформа. Удельный вес 1,25 г/см ³	83,5-84,0	Р в H ₂ O (0,922 г в 100 мл при 0°, 0,855 г (10°), 0,869 г (20°), 0,894 г (30°). ХР в спирте и других органических растворителях.	COCl ₂ (фосген)

Алкилгалогениды

Токсикант	Описание	$T_{кип,}^{\circ C}$	Растворимость	Продукты разложения
<p style="text-align: center;">1,1,2-трихлорэтилен</p> <p style="text-align: center;">Cl_2HC-CH_2Cl</p> <p style="text-align: center;">Смертельная доза – 100 мл</p>	<p>Бесцветная, прозрачная, подвижная, летучая жидкость со своеобразным запахом, напоминающим запах хлороформа, и сладким, жгучим вкусом.</p> <p>Удельный вес 1,462—1,466 г/см³</p>	86,0 – 88,0	<p>ПНР в H_2O; смешивается с органическими растворителями, не воспламеняется и не взрывается.</p>	<p>$COCl_2$ (фосген) и галогенсодержащие кислоты</p>
<p style="text-align: center;">Хлоралгидрат (1,1-диокси-2,2,2-трихлорэтан)</p> <p style="text-align: center;">$CCl_3-CH(OH)_2$</p> <p style="text-align: center;">Смертельная доза – свыше 5 г (10 г)</p>	<p>Бесцветные кристаллы с острым запахом, слегка горьковатого царапающего вкуса</p>	<p>$T_{пл}$ 49-53 $T_{разл}$ 98</p>	<p>ХР в H_2O, ацетоне, этаноле и диэтиловом эфире, МР в бензоле, пиридине и сероуглероде</p>	<p>Продукты гидролиза</p>

Алкилгалогениды

Объекты анализа:

- сальник, головной мозг, желудок с содержимым;
- печень, почки;
- легкие, кровь, моча

Особенности перегонки

Хлороформ и хлоралгидрат перегоняются в первые порции дистиллята. При количестве более 1 г в дистилляте - наличие капель и характерный запах. Из 100 г биологического материала животного происхождения выделяется не менее 0,2 г хлороформа и 0,05 г хлоралгидрата.

Четыреххлористый углерод перегоняется с водяным паром в первые порции дистиллята (5 мл). При количестве большем, чем 1 - 1,2 г дистиллят обладает своеобразным запахом, иногда наблюдается наличие капель. Из 100 г биологического материала животного происхождения выделяется около 1 г.

Дихлорэтан перегоняется главным образом с первыми порциями дистиллята. При наличии в объекте исследования более 1 г в дистилляте наблюдаются капли вещества.

Алкилгалогениды

Качественный анализ

Реакции обнаружения хлорпроизводных, имеющих токсикологическое значение.

Реакции	Исследуемые вещества			
	Хлороформ	Хлоралгидрат	Четыреххлористый углерод	1,2-дихлорэтан
Отщепление хлора	+	+	+	+
Реакция <u>Фудживара</u>	+	+	+	+
Образование изонитрила	+	+	+	-
С резорцином	+	+	+	-
С реактивом <u>Фелинга</u>	+	+	-	-
С реактивом <u>Несслера</u>	-	+	-	-
Образование этиленгликоля	-	-	-	+
Образование <u>ацетиленида меди</u>	-	-	-	+
С хинолином	-	-	-	+
С <u>гидроксиаренами</u>	+	-	+	-

Алкилгалогениды

Количественный анализ

1.Метод газожидкостной хроматографии с внутренним стандартом. В качестве внутреннего стандарта используют н-пропанол.

2.Метод обратной йодометрии (хлоралгидрат).

3.Объемный метод. С дистиллятом проводят реакцию отщепления органически связанного хлора. После проведения реакции проводят аргентометрическое определение галогенидов по Фольгарду.

Количественное определение 1,2-дихлорэтана возможно по отщепленному с помощью металлического натрия в присутствии этилового спирта хлору (метод Фольгарда). Определяется около 50% хлора от теоретически вычисленного.

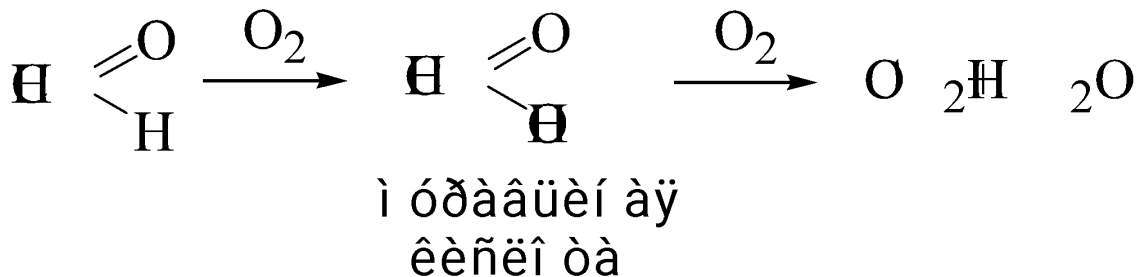
Альдегиды и кетоны. ФОРМАЛЬДЕГИД

Формальдегид — газообразное вещество, ХР в воде.

Формалин — 40% раствор формальдегида в воде, бесцветная прозрачная жидкость с резким удушливым запахом.

Параформальдегид (параформ, параоксиметилен) – белый, крист. порошок с легким запахом формальдегида

Метаболизм



Смертельная доза – 10 – 30 г.

Объекты анализа: формалин, жидкости, содержащие его (чай, молоко), и биологический материал: протравленное зерно, внутренние органы трупов (желудок, двенадцатиперстная кишка, и часть тощей кишки с содержимым, головной мозг, печень, почки, моча) и др.

Альдегиды и кетоны. ФОРМАЛЬДЕГИД

Качественный анализ

1. Метод Газожидкостной хроматографии (основной).
2. Химические реакции (подтверждающие)

Реакция	Эффект реакции	Предел обнаружения	Специфичность
С резорцином	Малиновое или розовое окрашивание	0,03 мкг в пробе	Неспецифична (уксусный альдегид, алкилгалогениды, акролеин, фурфурол)
С фуксинсернистой кислотой (реактив Шиффа)	Синее или сине-фиолетовое окрашивание	0,03 мкг в пробе	Неспецифична при pH > 2,7 (уксусный альдегид, нитробензальдегид, фурфурол, ацетон)
С кодеином (морфином)	Пурпурное окрашивание переходящее в сине-фиолетовое	0,02 мкг в пробе	специфична
С хромотроповой кислотой	Фиолетовое окрашивание	1 мкг в пробе	специфична

Альдегиды и кетоны. ФОРМАЛЬДЕГИД**Качественный анализ**

Реакция	Эффект реакции	Предел обнаружения	Специфичность
С салициловой кислотой	Красное окрашивание	1 мкг в пробе	специфична
С реактивом Фелинга	Красный осадок	-	Неспецифична (альдегиды алифатического ряда, некоторые алкилгалогениды, сахара и др.)
Восстановления серебра	Налет металлического серебра или бурый осадок	0,02 - 0,04 мкг/мл	Неспецифична (вещества, обладающие восстановительными свойствами)

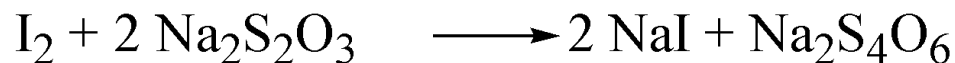
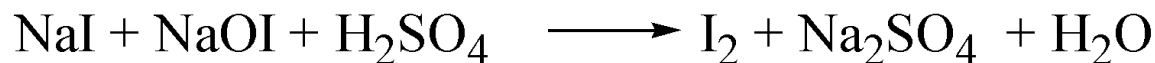
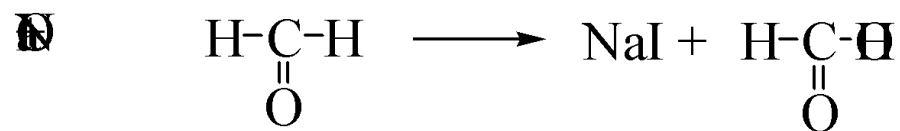
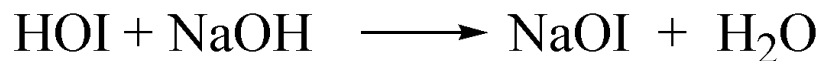
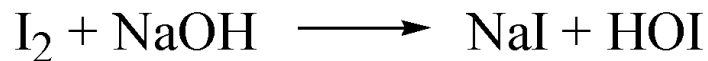
Альдегиды и кетоны. ФОРМАЛЬДЕГИД

Количественный анализ

1. Метод газожидкостной хроматографии. В качестве внутреннего стандарта используют н-пропиловый спирт. Расчет проводят по высоте или площади пика на хроматограмме.

2. Фотоколориметрический метод. Метод основан на образовании окрашенных продуктов реакции формальдегида с фуксинсернистой, хромотроповой или салициловой кислотой.

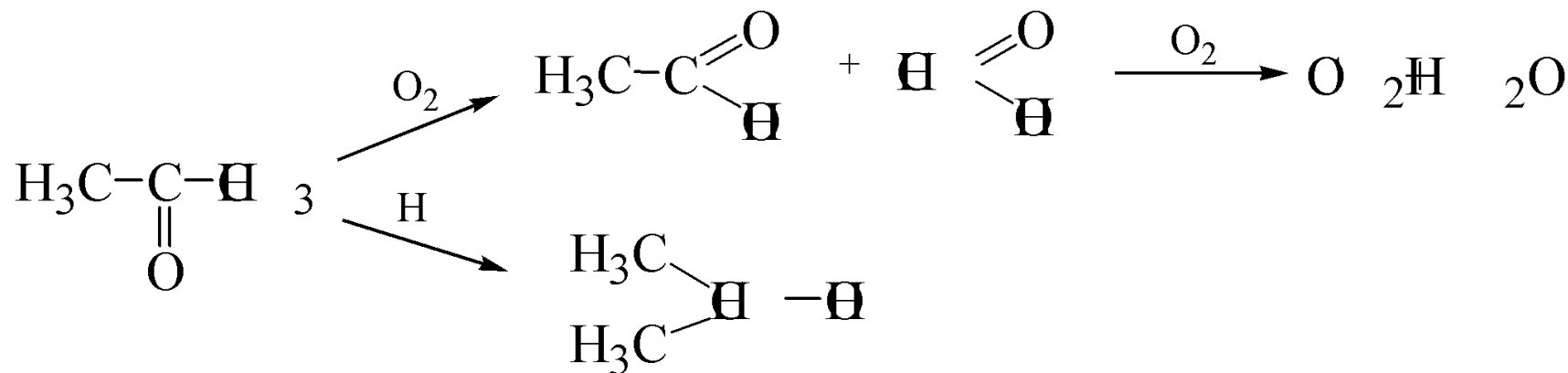
3. Йодометрический метод.



Альдегиды и кетоны. АЦЕТОН (2- пропанон, диметилкетон)

$\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{H}$
 $\quad 3$
 $\quad T_{\text{кип.}} \quad 56,1 \text{ }^\circ\text{C}$. Летучая бесцветная жидкость, с характерным запахом; смешивается с водой и органическими растворителями (эфиром, метанолом, этанолом, сложными эфирами).

Метаболизм



Смертельная доза – 60 - 75 мл.

Объекты анализа: остатки жидкости в различных емкостях (стаканы, бутылки и тд.) найденные на месте происшествия; кровь, моча; желудок с его содержимым; головной мозг, легкие; печень, селезенка.

Альдегиды и кетоны. АЦЕТОН (2- пропанон, диметилкетон)

Качественный анализ

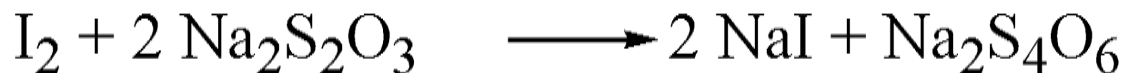
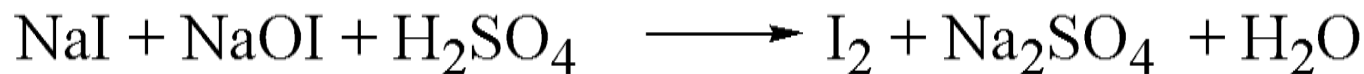
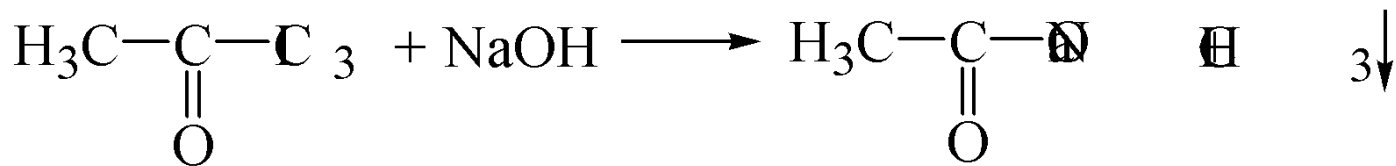
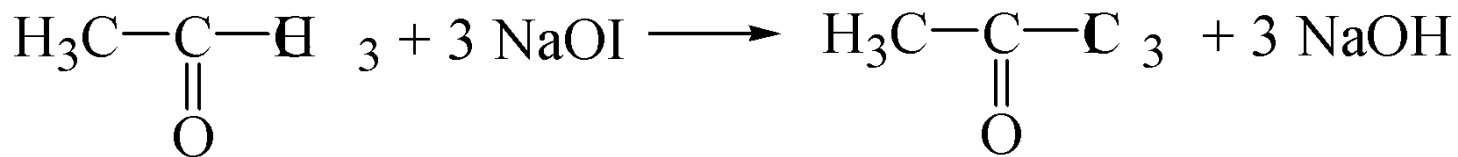
1. Метод Газожидкостной хроматографии (основной).
2. Химические реакции (подтверждающие)

Реакция	Эффект реакции	Предел обнаружения	Специфичность
С натрия нитропруссидом (проба Легалья)	Красно-фиолетовое окрашивание переходящее в вишнево-красное	-	Неспецифична (метилэтилкетон)
Образование йодоформа (проба Либена)	Желтый осадок, характерный запах	0,1 мг /мл	Неспецифична (этанол, уксусный альдегид)
С фурфуролом	Красное окрашивание	-	Неспецифична (альдегиды, кетоны)
С о-нитробензальдегидом	Синее окрашивание хлороформного слоя	0,1 мг /мл	Неспецифична (ацетоуксусный эфир, ацетальдегид и др.)

Альдегиды и кетоны. АЦЕТОН (2- пропанон, диметилкетон)

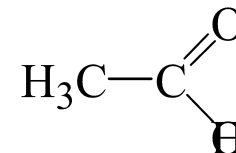
Количественный анализ

1. Метод Газожидкостной хроматографии (внутренний стандарт н-пропанол).
2. Метод обратной йодометрии (основан на реакции образования йодоформа)



Карбоновые кислоты. УКСУСНАЯ КИСЛОТА

(этановая кислота)

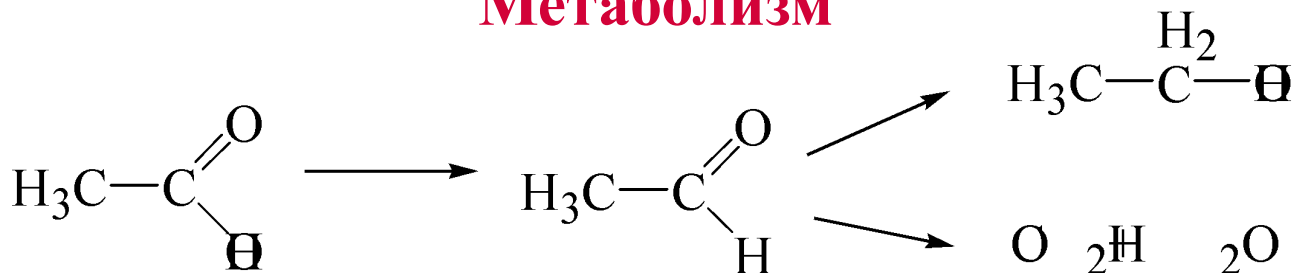


Бесцветная жидкость с резким характерным запахом. Гигроскопична.

Смешивается с водой во всех соотношениях, растворима в этаноле, эфире, глицерине, органических растворителях. Плотность – 1,049 г/см³

Ледяная УК – 96 – 98% ; Уксусная эссенция – 70 – 80% ; Разведенная УК – 30% ; Столовый уксус – 3 - 15% ; Древесный уксус – 6% ; Винный уксус – 3 – 4%

Метаболизм



Смертельная доза – 12 – 15 г. (ледяной УК); **20 – 40 мл (10 – 20 г)** (эссенции УК); **около 200 мл** (столовый уксус).

Объектами являются: легкие, печень; почки, желудок с содержимым.

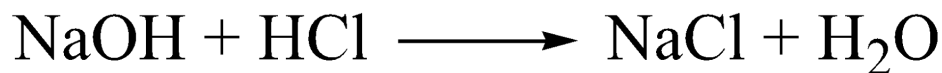
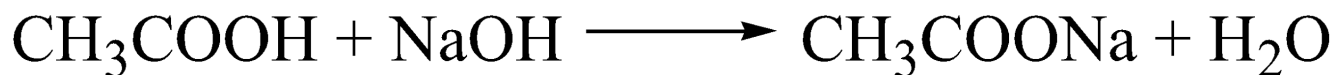
Карбоновые кислоты. УКСУСНАЯ КИСЛОТА

Качественный анализ

Реакция	Эффект реакции	Предел обнаружения
С хлоридом железа (III)	Красное окрашивание	1,25 мг/мл
Образование кокадила (реакция с As_2O_3)	Неприятный запах	5 - 10 мг /мл
Образование этилацетата	Характерный запах	-
С о-нитробензаль-дегидом	Синее окрашивание хлороформного слоя	-

Количественный анализ

Ацидиметрия (обратное титрование)



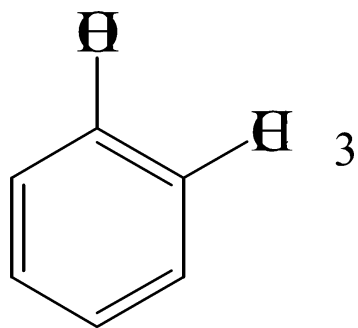
Фенолы и крезолы.

Фенол (гидроксibenзол, карболовая кислота) - твердое кристаллическое вещество с характерным запахом, ПР в воде. ХР в хлороформе, этиловом эфире и маслах. На воздухе краснеет вследствие окисления. Присоединяя воду, образует карболовую кислоту, содержащую 90% фенола и 10% воды.

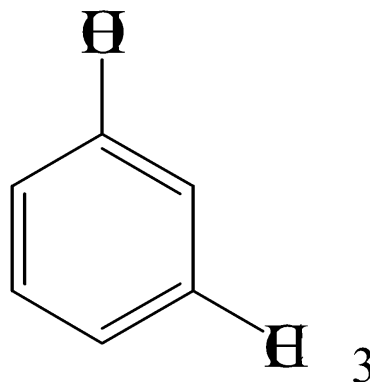
Смертельная доза – 1 – 3 г.

Крезол (метилфенол, гидрокситолуол) – бесцветные кристаллы или жидкости. Хорошо растворимы в этаноле, диэтиловом эфире, бензоле, хлороформе, ацетоне, в растворах щелочей (образуют феноляты).

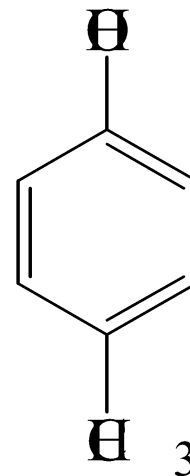
1 - едәсі е



1 - едәсі е



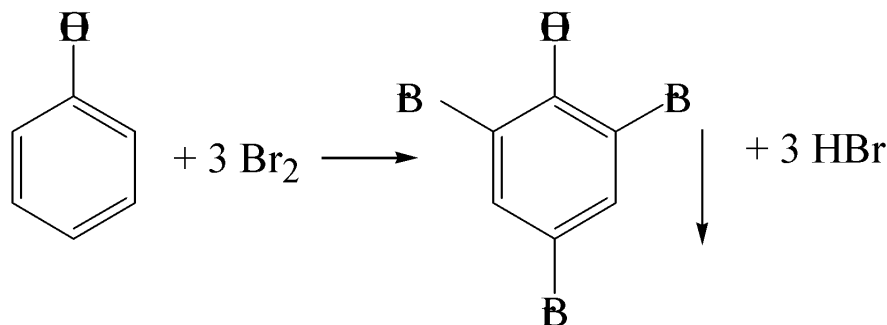
1 - едәсі е



Фенол.

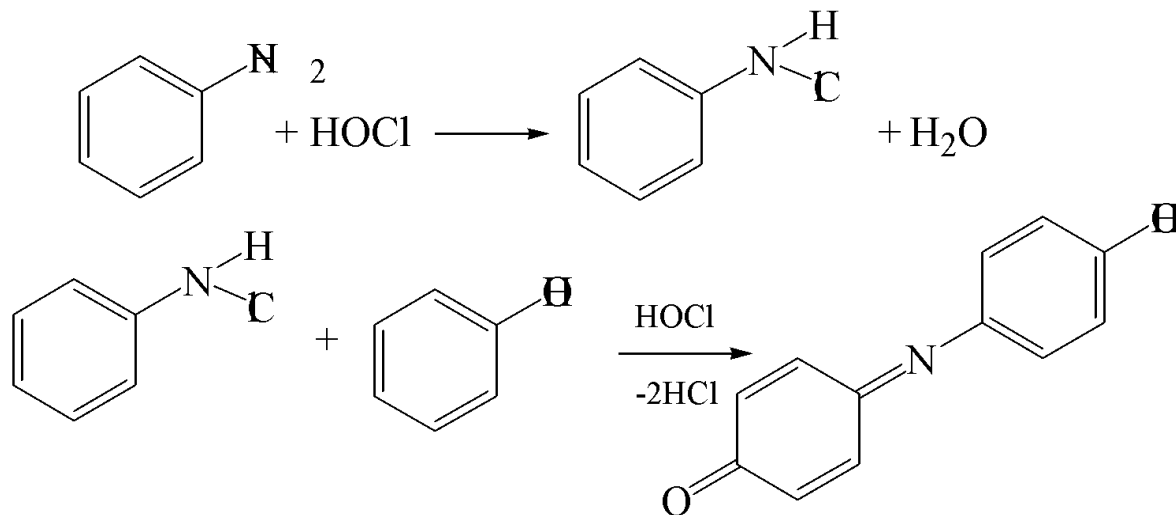
Качественный анализ

1. Реакция образования трибромфенола (чувствительность 1:50 000).



2. Реакция с хлоридом железа (III) (чувствительность 1:1000)

3. Реакция образования индофенола.



Крезол.

Качественный анализ

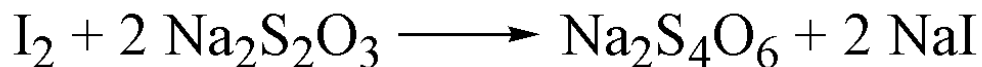
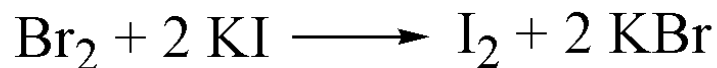
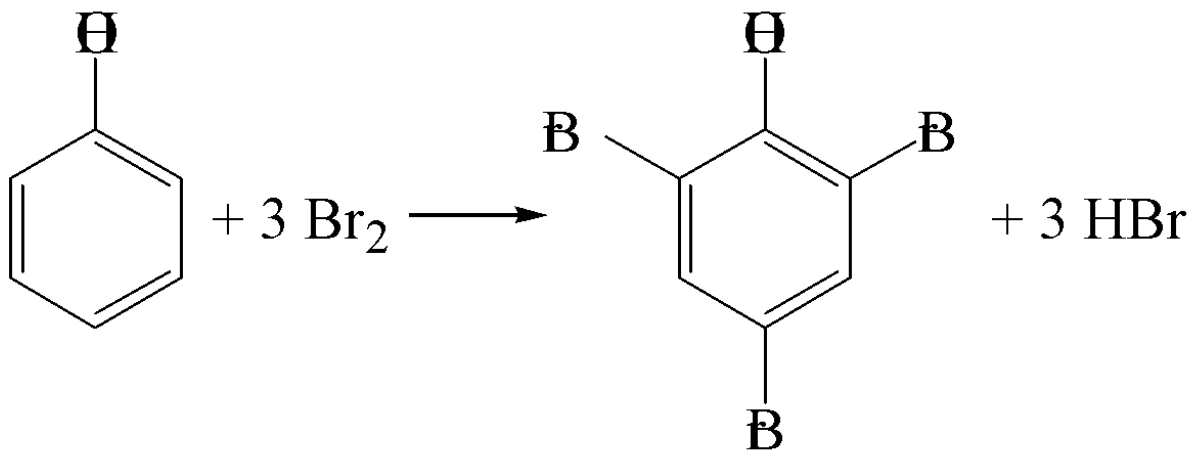
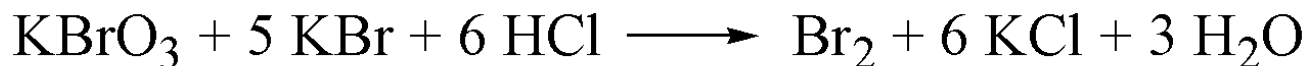
Реакция	о-крезол	м-крезол	п-крезол	Фенол
Либермана	Синее окрашивание→ красное→зелен ое	Синее окрашивание→к расное→зеленое	-	Синее окрашивание →красное→зе леное
С хлоридом железа (III)	Синее окрашивание	Красно- фиолетовое	Синее окрашивание	Фиолетовое
С реактивом Миллона	Красное окрашивание	Красное окрашивание	Красное окрашивание	Красное окрашивание
С бензальдегидом	Сине- фиолетовое окрашивание	-	-	Сине- фиолетовое окрашивание
Индофенольная проба	Грязно- фиолетовое окрашивание переходящее в синее	Грязно- фиолетовое окрашивание переходящее в синее	-	Грязно- фиолетовое окрашивание переходящее в синее

Фенол и Крезол.

Количественный анализ

1. Весовой метод (основан на образовании трибромфенола). Используют при большом количестве.

2. Броматометрическое титрование



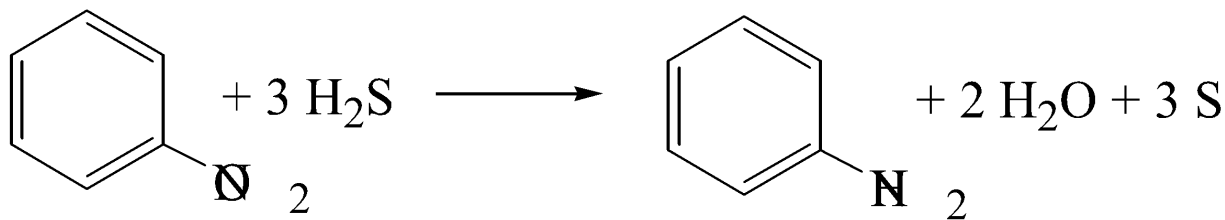
Ароматические нитропроизводные. Нитробензол

Ярко-желтые кристаллы (при температуре ниже 5°C) или бесцветная (зеленовато-жёлтая) маслянистая жидкость с запахом горького миндаля, НР в воде, смешивается во всех отношениях с диэтиловым эфиром, бензолом; хорошо растворима в др. органических растворителях. $T_{\text{кип}} = 211^{\circ}\text{C}$.

Основными пути попадания: ингаляционный, перкутанный, редко пероральный. Быстрое всасывание.

Выведение с мочой (п-анилин) и через легкие.

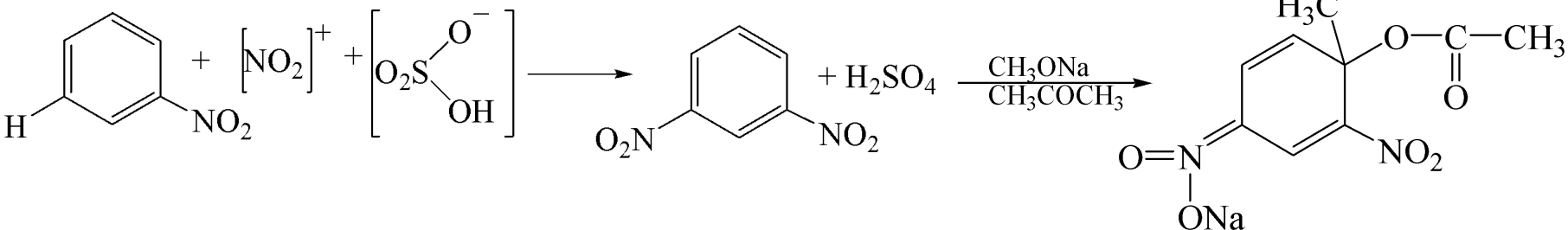
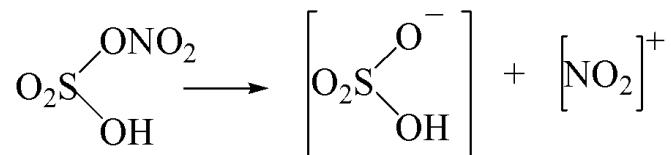
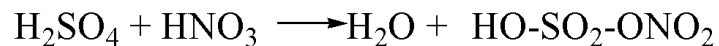
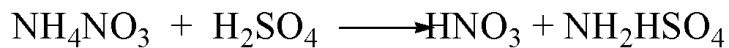
Из органов трупа нитробензол исчезает довольно быстро, восстанавливаясь сероводородом, образующимся при гниении:



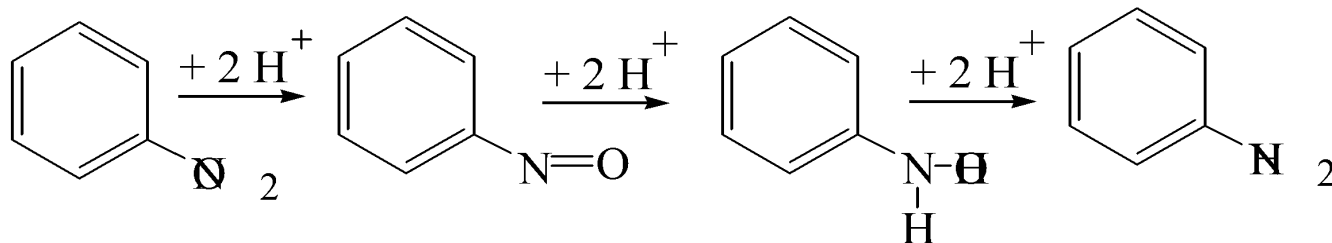
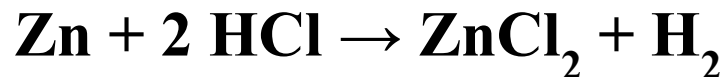
Ароматические нитропроизводные. Нитробензол

Качественный анализ

1. Перевод в динитробензол (чувствительность 0,5 мг в дистилляте).



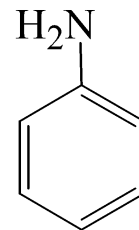
2. Восстановление до анилина (П.О. 0,4 мг в объеме дистилляте).



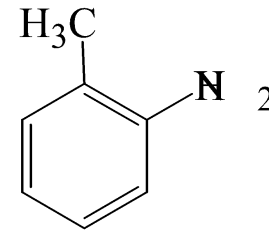
Ароматические нитропроизводные.

АНИЛИН (фениламин, аминобензол)

Бесцветная маслянистая жидкость с характерным запахом, немного тяжелее воды и ПР в воде, ХР в органических растворителях. На воздухе быстро окисляется и приобретает красно-бурую окраску.



Анилин



О-толуидин

Качественный анализ

1. Реакция с бихроматом калия.
2. Образование триброманилина.
3. Образование азокрасителя.
4. Образование индофенола

Количественное определение

1. Весовое или объемное (триброманилин)
2. Спектрофотометрия (азокраситель)

Одноатомные спирты.

Токсикант	Структурная формула	Растворимость в воде, г/100 г	$T_{\text{кип}}, ^\circ\text{C}$	Смертельная доза (<i>per os</i> , мл)
Метанол	CH_3OH	Хорошо	64,7	30 – 100
Этанол	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	Хорошо	78,4	~300
Пропанол	$\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$	Хорошо	97,4	100 – 400
Изопропанол	$\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$	Хорошо	82,4	100 – 400
1-бутанол	$\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$	7,6	117,4	200 – 250
1-пентанол (амиловый)	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$	2,21	138	30 – 50
1-гексанол	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{OH}$	0,6	157,2	-

Амиловые спирты: 1-пентанол (нормальный амиловый спирт), 2-пентанол, 3-пентанол, 2-метил-1-бутанол, 2-метил-2-бутанол, 2-метил-3-бутанол, 3-метил-1-бутанол (изоамиловый спирт), 4-метил-карбинол

Токсичность спиртов

Возрастает с увеличением числа атомов углерода (правило Ричардсона). Исключением является поведение первых членов гомологических рядов.

Одноатомные спирты. Токсикокинетика

Пути поступления: пероральные (основная часть), ингаляционные и перкутанные (редко).

Всасывание (резорбция). Через ЖКТ и легкие. Всасывание начинается быстро, уже во рту и пищеводе, но основная масса спирта всасывается в желудке или кишечнике.

Механизм всасывания спирта - простая диффузия.

При приеме натощак максимальная концентрация этанола в крови наблюдается через 40-80 мин (в среднем около 1 часа), при полном желудке - через 1,5-2,5 часа.

Спирты с числом углеродных атомов 6 и более куммулируют в тканях богатых липидами.

Транспорт (распределение). Через кровь этанол распространяется по органам и тканям, концентрируется в тканях пропорционально содержанию в них воды.

Наибольшее количество спирта содержится в биологических жидкостях (кровь, моча, спинномозговая жидкость) и головном мозге. Несколько меньше его в тканях, мышцах, и минимальное количество - в жировой ткани. Небольшие количества этилового спирта могут присутствовать в биоматериале вследствие естественных процессов при гниении крови и других органов трупа.

Выделение (элиминация). Протекает по механизму простой диффузии и происходит через легкие, кожу, почки, кишечник, слюнные железы в виде метаболитов. Только 10% этанола выделяется в неизменном виде, из них 7% - через легкие, 2-2,5% - почками, 1% - с потом. $t_{1/2}$ у этанола - 1 - 2 ч., у метанола - 12 - 16 ч.

Одноатомные спирты. Качественный анализ

1. Реакция этерификации

Образование метилсалицилата (CH_3OH), этилацетата и этилбензоата ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), амилацетата ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$).

2. Реакция окисления

Реакции отличия:

1) для CH_3OH - окисление до H_2CO с последующим его обнаружением цветными реакциями.

2) для $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ - реакция образования кристаллического осадка йодоформа.

3) для $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$ - реакция отличия высших спиртов (C_3 - C_5) от низших (CH_3OH и $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) - взаимодействие с ароматическими альдегидами - салициловым, п-диметиламинобензальдегидом и другими (реакция Комаровского).

Двухатомные спирты. Этиленгликоль.

Этиленгликоль (гликоль; 1,2-диоксиэтан; этандиол-1,2) – двухатомный спирт жирного ряда. Представляет собой бесцветную или слегка желтоватую жидкость без запаха, сладковатого вкуса. Удельный вес – 1,11 г/см³.

Смертельная доза - 100 – 150 мл

Исследование на этиленгликоль проводится по специальным запросам судебно-следственных органов и судебно-медицинских экспертов.

Методы изолирования:

1. Лапкиной Н.Б. и Назаренко В.А. (с использованием бутанола). Применим для внутренних органов.
2. Гуляевой Т.Н. Применим для биологических жидкостей и внутренних органов.

Реакции идентификации:

1. Окисления этиленгликоля до формальдегида;
2. Окисление ЭГ до щавелевой кислоты;
3. Образование гликолята меди (применим для технических жидкостей);
4. С перманганатом калия (для технических жидкостей).

Количественный анализ.

1. Газовожидкостная хроматография;
2. Спектрофотометрия (окисление до формальдегида и его взаимодействие с фуксинсернистой кислотой).

**Группа веществ, изолируемых из биологического
материала экстракцией и сорбцией.
«Лекарственные средства»**

Классификация

Вещества кислотного характера:

1. **Органические кислоты:** бензойная, салициловая, ацетилсалициловая, пикриновая.
2. **Барбитураты:** барбитал, фенобарбитал, барбамил, этаминал-На, бутобарбитал, гексенал, бензонал, бензобамил, циклобарбитал и др.

Вещества нейтрального характера:

1. **Небарбитуровые снотворные:** ноксирон, тетридин.
2. **Сердечные гликозиды.**
3. **Многоатомные фенолы:** гидрохинон, пирогаллол.
4. **Полинитропроизводные:** м-динитробензол, динитротолуолы, тринитротолуол.
5. **Производные анилина и п-аминофенола:** фенацетин, п-фенилендиамин.

Классификация

Вещества основного характера:

1. Алкалоиды: производные пиридина и пиперидина (жидкие алкалоиды), тропана (атропин, кокаин и др.), хинолина (хинин), изохинолина (опийные), индола (стрихнин, бруцин, резерпин), пурина (кофеин, теобромин, теофиллин), пирролизидина (платифиллин, саррацин), ациклические (эфедрин), стероидоподобные (вератрин) и неустановленного строения (аконитин).

2. Синтетические вещества основного характера: антипирин, амидопирин - производные пиразола, промедол - производное пиперидина, новокаин и дикаин - производные аминокислот ароматического ряда, изониазид, производные фенотиазина - аминазин и др., производные бензодиазепина и т.д.

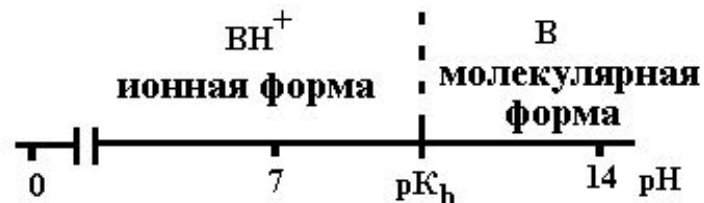
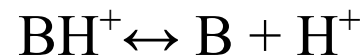
Обязательному исследованию в лабораториях БСМЭ подлежат, согласно Приказа МЗ СССР № 1021 от 25.12.73, следующие вещества: производные барбитуровой кислоты; алкалоиды: производные пиридина и пиперидина (никотин, пахикарпин), тропана, изохинолина (опийные алкалоиды), индола (стрихнин), производные фенотиазина, промедол.

Теоретические основы метода экстракции

Уравнения степени ионизации (уравнение Хендерсона-Хассельбаха)



$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$



$$pH = pK_a + \log \frac{[B]}{[BH^+]}$$

Изолирование «нелетучих» ядов из биологического материала основано на различной растворимости их ионизированной и молекулярной форм в воде и органических растворителях и на коэффициенте распределения молекулярной формы между водной и органической фазами.

$$K_{распр} = \frac{C_{орг}}{C_{H_2O}}$$

, где $K_{распр}$ - коэффициент распределения молекулярной формы;
C - концентрации вещества в водной и органической фазах.

Чем больше $K_{распр}$, тем эффективнее идет экстракция.

Стадии экстракции и факторы, влияющие на эффективность изолирования «нелетучих» ядов из биоматериала

I стадия экстракции

1) *Растворимость яда в используемом экстрагенте*

$pH = pK_a + 2(3)$ для кислот

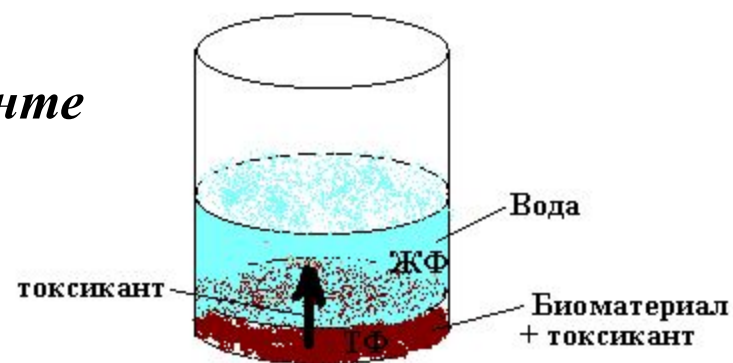
$pH = pK_a - 2(3)$ для оснований

2) *Экстрагент*

- -Способность легко проникать в клетки тканей.
- -Высокая растворяющая способность (по отношению к яду).
- -Селективность (по отношению к анализируемым соединениям).

3) *Степень измельченности объекта*

- *Время настаивания*



Очистка изолируемых веществ от сопутствующих компонентов биоматериала

Созкстрактивные вещества мешают проведению анализа:

- 1. Маскируют окраску при проведении реакций окрашивания (обугливание созкстрактивных веществ под действием концентрированной серной кислоты).**
- 2. Снижают чувствительность микрокристаллических реакции и приводят к образованию кристаллов неправильной формы, либо к их полиморфизму (многообразию форм).**
- 3. Искажают спектры веществ при исследовании в УФ - и ИК-областях.**
- 4. Дают завышенные результаты количественного определения веществ.**
- 5. Многие продукты гнилостного разложения биоматериала дают такие же реакции, как и некоторые ядовитые вещества.**

Очистка биологических вытяжек на I этапе экстракции.

Водная вытяжка

- Белки
- Низкомолекулярные пептиды
- Аминокислоты

Спиртовая вытяжка

- Примеси липопротеидов
- Липиды
- Птомаины
- Аминокислоты

Методы очистки

1. Осаждение примесей

- Добавление реагентов : электролиты (высаливание); кислоты (трихлоруксусная, вольфрамовая, фосфорно-вольфрамовая, фосфорномолибденовая); спирты
- Нагревание

2. Фильтрование и центрифугирование

3. Гель хроматография

4. Экстракция

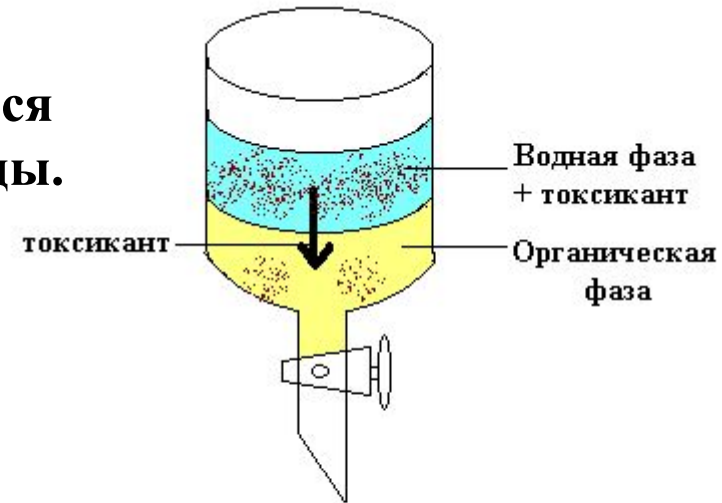
Стадии экстракции и факторы, влияющие на эффективность изолирования «нелетучих» ядов из биоматериала

II стадия экстракции

1. *Растворимость яда*, которая определяется степенью ионизации α и регулируется рН среды.

$$\text{pH} = \text{pK}\alpha - 2(3) \text{ для кислот}$$

$$\text{pH} = \text{pK}\alpha + 2(3) \text{ для оснований}$$



2. *Природа экстрагента*, его объем, время и кратность экстракции.

- Не смешиваются с водой и по удельному весу (d) значительно отличаются от нее.
- Имеют низкую температуру кипения.
- Хорошо растворяют изолируемое вещество и обеспечивают высокий коэффициент распределения его между водной и органической фазами

Очистка биологических вытяжек на II этапе экстракции.

Органическая вытяжка

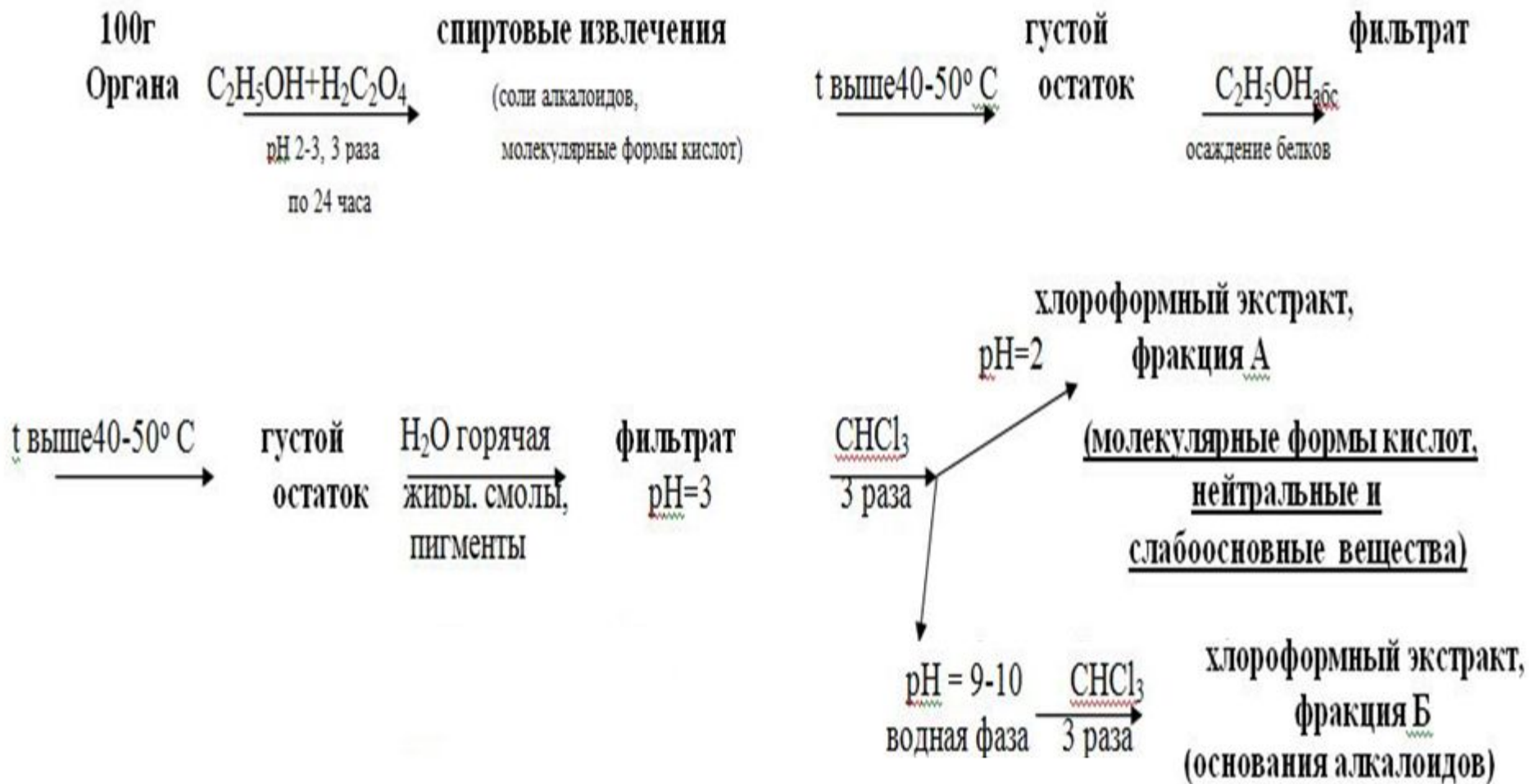
- Жиры, белки и продукты их распада
- Птомаины – продукты распада аминокислот
- Красящие, дубильные и др. вещества

Методы очистки

1. **Возгонка (барбитураты, салициловая и бензойная кислоты, некоторые алкалоиды)**
2. **Реэкстракция (барбитураты и алкалоиды)**
3. **Электрофорез**
4. **Хроматография в тонком слое**

ОБЩИЕ МЕТОДЫ

Изолирование подкисленным спиртом (Метод Стаса-Отто)



Выход 20 – 30

ОБЩИЕ МЕТОДЫ

Изолирование подкисленным спиртом (Метод Стаса-Отто)

Достоинства метода:

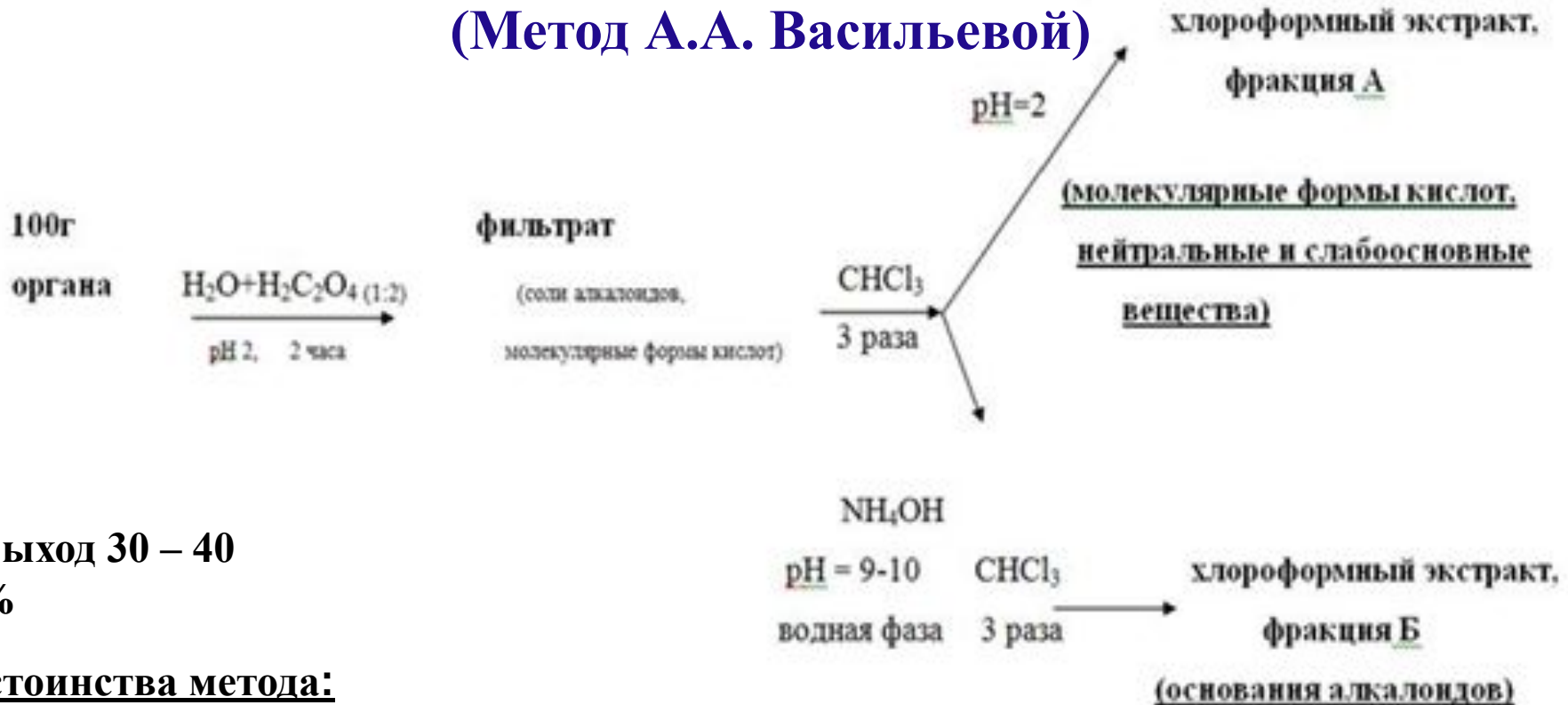
- 1. Метод универсален, т.к. этанол является хорошим растворителем для многих веществ этой группы (как ионизированных, так и молекулярных форм).**
- 2. Метод предусматривает очистку извлечения от балластных веществ.**

Недостатки метода:

- 1. Длительность(8-10 рабочих дней) и многостадийность.**
- 2. Потери искомых веществ.**
- 3. Сравнительная дороговизна метода.**

ОБЩИЕ МЕТОДЫ

Изолирование водой, подкисленной щавелевой кислотой (Метод А.А. Васильевой)



**Выход 30 – 40
%**

Достоинства метода:

1. Быстрота (анализ можно провести в течение одного рабочего дня).
2. Меньшее количество операций, меньшие потери искомым веществ.
3. Экономичность и дешевизна.

Недостаток метода:

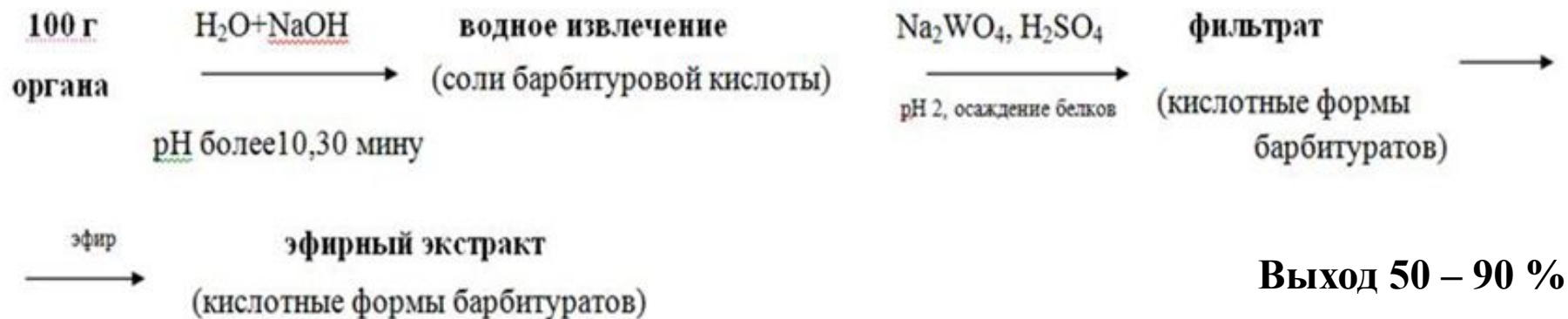
Образование стойких эмульсий при экстрагировании веществ из водной фазы хлороформом.

ЧАСТНЫЕ МЕТОДЫ

Метод А.В. Степанова – М.Д. Швайковой

Метод извлечения токсичных веществ водой подкисленной щавелевой кислотой из растительного материала.

Метод П.Валова Изолирование барбитуратов подщелоченной водой



Достоинство метода:

Метод дает достаточно чистые извлечения, т.к. включает стадию очистки (осаждение белков вольфраматом натрия), что повышает качество последующего анализа.

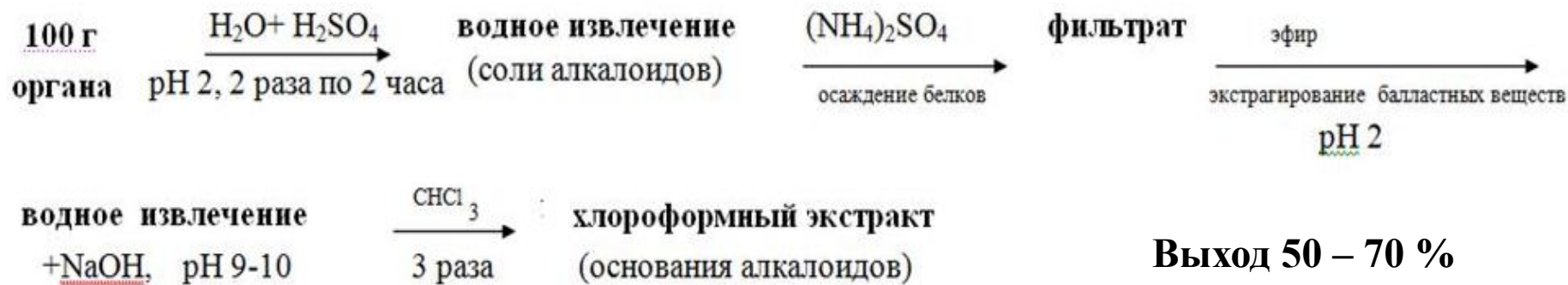
Недостаток метода:

Соосаждение барбитуратов с белками при обработке вольфраматом натрия.

ЧАСТНЫЕ МЕТОДЫ

Метод В.Ф. Крамаренко

Метод изолирования алкалоидов водой, подкисленной серной кислотой



Достоинства метода:

1. Быстрота
2. Хорошая очистка извлечений от соэкстрактивных веществ
3. Применим для изолирования азотсодержащих веществ основного характера (синтетические ЛС)

Недостаток метода:

Дороговизна метода из-за использования эфира

ЧАСТНЫЕ МЕТОДЫ

Метод В.И.Поповой

Метод изолирования алкалоидов водой, подкисленной серной кислотой и последующей очисткой центрифугированием и гель-хроматографией (барбитураты)

Достоинства метода:

- 1. Хорошая очистка извлечений от соэкстрактивных веществ**
- 2. Применим для объектов подвергнутых гнилостному изменению.**

Недостаток метода:

Применим для ограниченного числа веществ

Метод В.А. Карташова

Метод изолирования ацетоном.

Достоинство метода:

- 1.Высокий выход веществ (до 60-70%).**
- 2.Уменьшение массы объекта**
- 3.Низкий расход реактивов и времени пробоподготовки.**

Недостатки метода:

- 1.Извлечение большого количества примесей,.**
- 2.Многостадийность.**

Исследование биологических жидкостей (кровь, моча, плазма, слюна, сыворотка, промывные воды желудка)

1. Жидкость-жидкостная экстракция (ЖЖЭ)

Соответствует 2 стадии изолирования

Недостаток:

При прямой ЖЖЭ совместно с ядами из биожидкостей могут экстрагироваться сопутствующие вещества, что заставляет в дальнейшем прибегать к различным методам очистки

2. Сорбция на синтетических смолах, модифицированных силикагелях и активированном угле

Достоинства:

1. Метод позволяет не проводить дополнительную обработку пробы и изолирование.

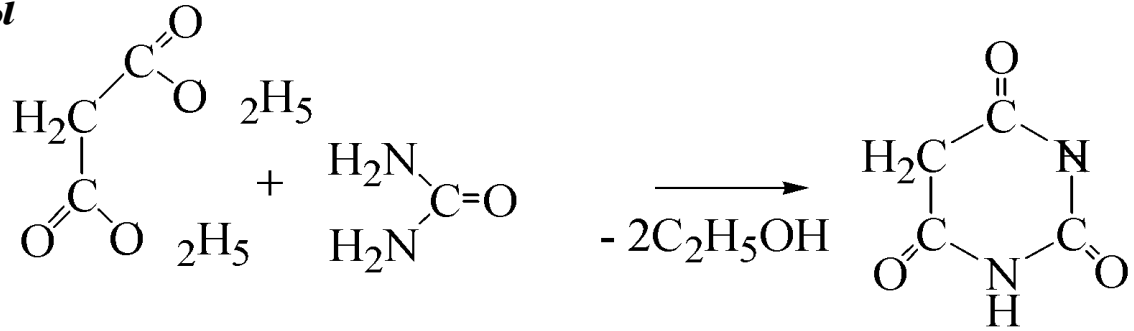
2. Дает возможность одновременно сконцентрировать вещество и провести очистку.

Недостаток:

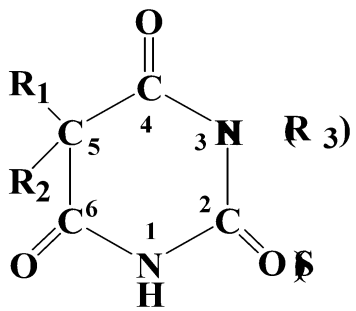
При неизвестном яде - опасность его потери из-за недостаточной сорбции и проскакивания через колонку сорбента.

БАРБИТУРАТЫ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ОТНОШЕНИИ

Получение барбитуровой кислоты



Общая формула барбитуратов



где R₁, R₂, R₃ - радикалы, содержащие от 1 до 7 атомов углерода.

(2, 4, 6-òðèî êñèî èðèî èàèî)

Идентификация барбитуратов

Химические методы:

1. **С солями кобальта в щелочной среде** (образуется комплекс состава $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{OHVarb}_2$ красно-фиолетового цвета)
2. **С солями меди в присутствии пиридина** (образуется комплекс состава $\text{CuPyr}_2\text{Varb}_2$ красно-фиолетового цвета (тиобарбитураты – зеленого цвета)
3. **С солями ртути в присутствии дифенилкарбазона (ДФК)** (образуют комплексные соединения, окрашенные в сине-фиолетовый цвет)
4. **Мурексидная проба** (образуется розовое или красное окрашивание)

Микрокристаллоскопический анализ

1. **С хлорцинкйодом**
2. **С железойодидным комплексом**
3. **С меднойодидным комплексом**
4. **Меднопиридиновым реактивом**
5. **Выделение кислотной формы барбитурата**

Физико-химические методы анализа

1. **ТСХ и ВЭТСХ.** Хроматографирование ведут на закрепленном слое силикагеля в системах растворителей:

1) *хлороформ-ацетон (9:1)* - для разделения N - замещенных и 5,5-замещенных производных, система является общей в скрининге лекарственных веществ кислого и нейтрального характера.

2) *толуол - ацетон — этанол - 25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5)*
(применяется в экспресс- анализе интоксикаций)

3) *хлороформ - n-бутанол - 25% раствор аммиака (70:40:5)* – в качестве частной системы для разделения 5,5 -замещенных барбитуратов.

Детектирование: дифенилкарбазоном (ДФК) и HgSO_4 . В местах расположения барбитуратов возникают красно- или сине-фиолетовые пятна. Идентификация проводится по величине R_f (отношение длины пробега вещества к длине пробега растворителя по сравнению с метчиками).

2. **Спектроскопическое исследование**

Количественное определение барбитуратов

5,5-замещенные производных:

1.Имидная форма (рН=2) не абсорбирует в УФ области

2.Имидольная форма (рН=10) обладает характерным

поглощением $\lambda_{\max} = 240$ нм

3.Диимидольная форма обладает характерным

поглощением $\lambda_{\max} = 255-260$ нм.

Трехзамещенные производные:

Имеют лишь одну ионизированную форму (имидольную), поэтому их поглощение не меняется с переходом от рН 10 к рН 13, и они обладают одним максимумом в щелочной среде при длине волны 245 нм.

Тиобарбитураты:

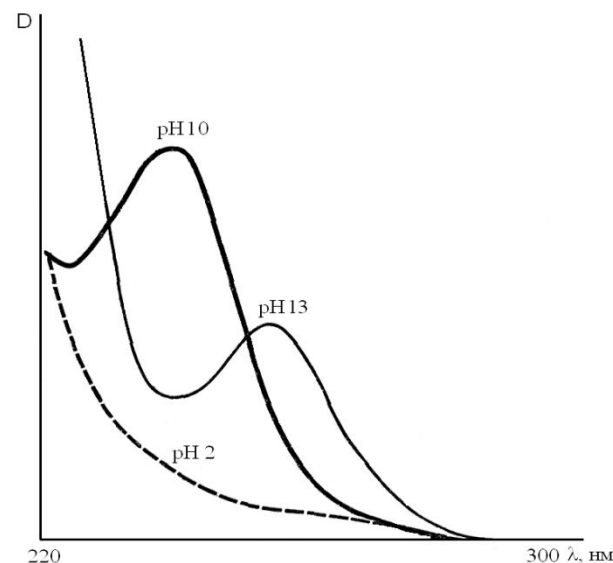
Имеют два максимума в кислом растворе (239 и 290 нм), в щелочном при рН=10 также два максимума (255 и 310 нм) и при рН 13 - один (310нм).

Таким образом, УФ-спектроскопия дает возможность дифференцировать барбитураты в зависимости от типа замещения в пиримидиновом кольце на:

1.Двузамещенные (рН 2 - нет max, рН 10 - 240 нм, рН 13 -255-260 нм)

2.Трехзамещенные (рН 2 - нет max, рН 10 и рН 13 -245 нм)

3.Тиобарбитураты (рН 2 - 239 нм и 290 нм, рН 10 - 255 и 310 нм, рН 13 -310нм).



АЛКАЛОИДЫ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ОТНОШЕНИИ

Алкалоиды - органические азотистые основания сложного состава, встречающиеся в растениях (реже в животных организмах) и обладающие сильным фармакологическим действием.

Классификация алкалоидов:

1. Производные пиридина, пиперидина и хинолизидина (жидкие алкалоиды):

а) моноциклические (кониин, ареколин)

б) бициклические (анабазин, никотин)

в) полициклические (пахикарпин)

2. Производные тропана (пиперидил-пирролидина): атропин, гиосциамин, скополамин, кокаин

3. Производные хинолина (α,β -бензопиридина): хинин

4. Производные изохинолина (β,γ -бензопиридина): (группа опийных алкалоидов):

а) производные фенантренизохинолина (морфин, кодеин, дионин, апоморфин, героин)

б) производные бензилизохинолина (папаверин, наркотин)

5. Производные индола (бензопиррола): стрихнин, бруцин, резерпин

6. Производные пурина: кофеин, теобромин, теофиллин

7. Производные 1-метилпирролизидина: саррацин, платифиллин

8. Ациклические алкалоиды: эфедрин

9. Алкалоиды стероидоподобного строения: вератрин

10. Алкалоиды неустановленного строения: аконитин

Общеалкалоидные осадительные реактивы:

1. Реактивы, дающие с алкалоидами простые соли:

- раствор таннина, пикриновая, пикролоновая и некоторые другие органические кислоты.

2. Реактивы, дающие с алкалоидами комплексные соединения.

а) реактивы, содержащие в своем составе металлоиды:

1) I_2/KI - реактив Бушарда-Вагнера

2) $H_3PO_4 \cdot 12MoO_3$ - фосфорномолибденовая кислота (реактив Зонненшейна)

3) $H_3PO_4 \cdot 12WO_3 \cdot 2H_2O$ - фосфорновольфрамовая кислота (реактив Шейблера)

б) реактивы, содержащие в своем составе металлы:

1) BiI_3/KI - реактив Драгендорфа ($K[BiI_4]$)

2) CdI_2/KI - реактив Марме ($K_2[CdI_4]$)

3) HgI_2/KI - реактив Майера ($K_2[HgI_4]$)

4) $H_2[PtCl_6]$ - платинохлористоводородная кислота

5) $H[AuCl_4]$ - золотохлористоводородная кислота

Реакции окрашивания основаны на следующих процессах:

- а) **отнятие воды** (дегидратация) под действием концентрированной серной кислоты (вератрин, бруцин и др.)
- б) **окисление алкалоидов** (кофеин - мурексидная проба, хинин - таллейохинная проба)
- в) **одновременное окисление и отнятие воды** (реакция с дихроматом калия в присутствии концентрированной серной кислоты на стрихнин)
- г) **конденсация с альдегидами** (реактив Марки с опийными алкалоидами)

Чаще всего для реакций окрашивания используются:

1. Конц. серная кислота
2. Конц. азотная кислота
3. Конц. серная кислота + конц. азотная кислота (реактив Эрдмана)
4. Конц. серная кислота + формальдегид (реактив Марки)
5. Конц. серная кислота + молибденовая кислота (реактив Фреде)
6. Конц. серная кислота + ванадиевая кислота (реактив Манделина)

Реакции окрашивания выполняются с основаниями алкалоидов.

УФ – спектроскопия

Производные пиридина имеют максимум при длине волны 260 нм, хинолина (изохинолина) - при 250, 290, 310 нм, индола - 260 (255) и 300 нм, пурина - 220, 260 и 270 нм.

Фармакологические пробы

1. При доказательстве атропина капают водный раствор испытуемого вещества в глаз кошки. При наличии атропина наблюдается характерное стойкое расширение зрачка.
2. Стрихнин и никотин, нанесенные на спинку лягушки, вызывают ее гибель в характерной позе («молящаяся лягушка» - стрихнин, «сидящая» - никотин).

Количественное определение алкалоидов

1. Определение в УФ-области (200-400 нм) проводится по специфическому поглощению (абсорбции) самого алкалоида при наличии у него хромофорной системы.
2. Определение в видимой области (400-800 нм) основано на измерении абсорбции окрашенных комплексов алкалоидов с кислотными реагентами (пикриновой кислотой, тропеолином-00, метиловым оранжевым, бромфеноловым синим и т.п.).

Окрашенные ионные ассоциаты могут быть экстрагированы из водной фазы органическим растворителем (экстракционно-фотометрическое определение).

Окрашенные продукты могут быть получены также в реакциях окисления, восстановления, конденсации, азотосочетания и некоторых других.

КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ НЕКОТОРЫХ АЛКАЛОИДОВ

КОФЕИН, ТЕОБРОМИН

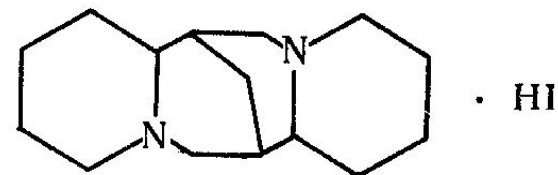
1. *Общая реакция: образование мурексида:* (пурпурно-фиолетовое окрашивание)
2. *Реакция кофеина с хлоридом окисной ртути:* (длинные шелковистые, бесцветные иглообразные кристаллы)
3. *Реакция кофеина с раствором золотобромистоводородной кислоты* (оранжево-красный цвет осадка)
4. *Реакция теобромина с раствором йодвисмутата калия* (игольчатые кристаллы темно-красного цвета, собранные в пучки)

ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИДИНА И ПИПЕРИДИНА КОНИИН, АРЕКОЛИН, НИКОТИН И АНАБАЗИН

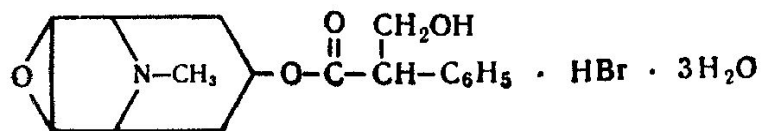
1. *Реакция образования йодвисмутатов алкалоидов*
2. *Реакция получения сублимата хлоргидрата конина*
3. *Реакция образования пикрата ареколина и никотина*
4. *Реакция образования рейнеката никотина и анабазина*

ПАХИКАРПИН

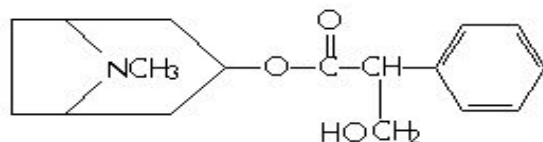
1. *Реакция с раствором йода в йодиде калия*
2. *Реакция с роданидным комплексом кобальта*
3. *Реакция с пикриновой кислотой*
4. *Реакция с золотобромистоводородной кислотой*
5. *Реакция окисления бромом (реакция Коча)*
6. *Реакция на йодистоводородную кислоту*



ПРОИЗВОДНЫЕ ТРОПАНА СКОПОЛАМИН



1. *Реакция Витали — Морена*
2. *Реакция с солью Рейнеке*
3. *Реакция образования бромоаурата*

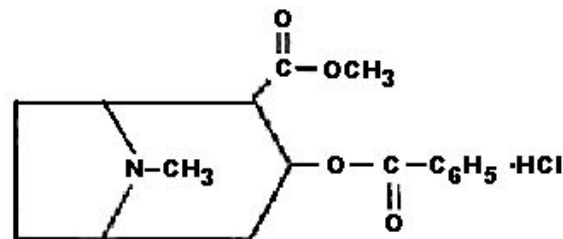


АТРОПИН

1. *Реакция перевода атропина в полинитропроизводное и доказательство последнего (реакция Витали — Морена)*
2. *Реакция с солью Рейнеке*
3. *Реакция с бромной водой*
4. *Реакция с пикриновой кислотой*

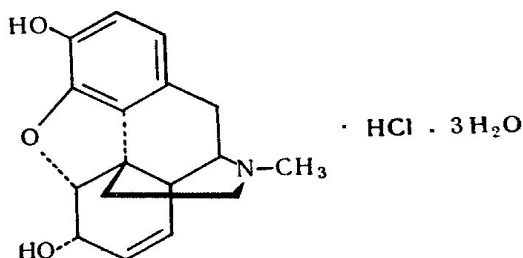
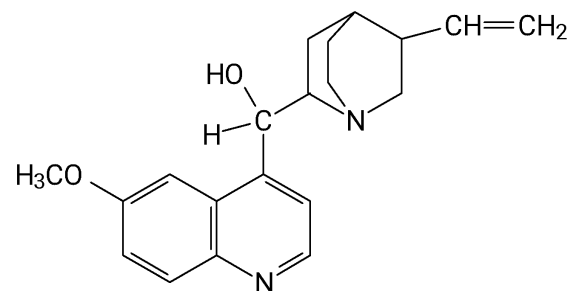
КОКАИН

1. *Реакция образования перманганата кокаина*
2. *Реакция образования хлороплатината кокаина*



ПРОИЗВОДНЫЕ ХИНОЛИНА ХИНИН

1. Реакция флюоресценции
2. Реакция образования таллейохина
3. Реакция получения эритрохинина
4. Реакция с раствором роданида аммония

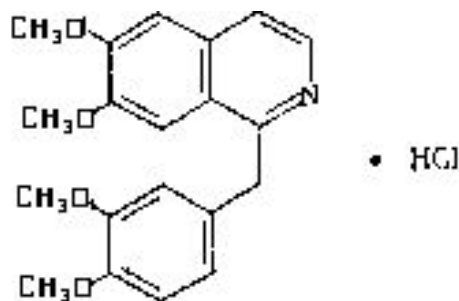


ПРОИЗВОДНЫЕ ИЗОХИНОЛИНА МОРФИН

1. Реакция с раствором формальдегида в концентрированной серной кислоте (реактив Марки)
2. Реакция с раствором молибдата аммония в концентрированной серной кислоте (реактив Фреде) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_7$
3. Реакция с ванадатом натрия в концентрированной серной кислоте (реактив Манделина)
4. Реакция с хлоридом окисного железа
5. Реакция, с раствором йодида кадмия.
6. Реакция с солью Рейнеке
7. Раствором хлорида окисной ртути

КОДЕИН, ЭТИЛМОРФИН, АПОМОРФИН

1. Реакция кодеина с раствором йодида кадмия
2. Реакция этилморфина с раствором хлорида окисной ртути
3. Реакция Пеллагри на апоморфин

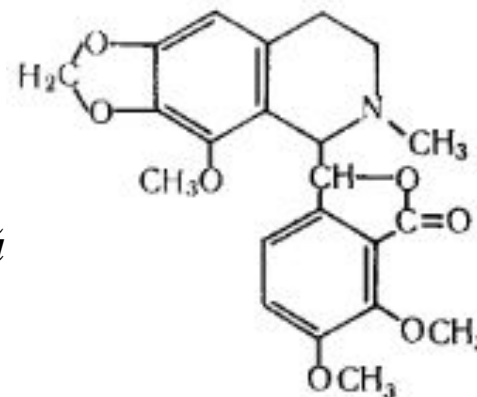


ПРОИЗВОДНЫЕ БЕНЗИЛИЗОХИНОЛИНА ПАПАВЕРИН И НАРКОТИН ПАПАВЕРИН

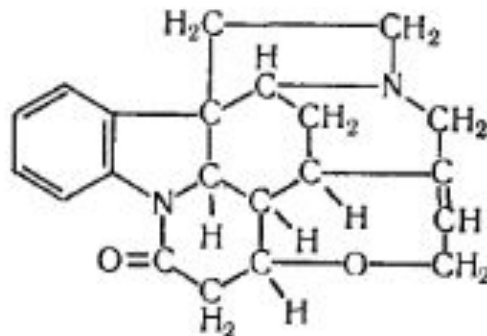
1. Реакция с цианидом натрия
2. Реакция с раствором хлорида кадмия

НАРКОТИН

1. Реакция с концентрированной серной кислотой
2. Реакция с реактивом Эрмана



ПРОИЗВОДНЫЕ ИНДОЛА *СТРИХНИН*



1. *Реакция окисления бихроматом калия в концентрированной серной кислоте*
2. *Реакция с ванадатом натрия в концентрированной серной кислоте*
3. *Реакция с платино-хлористоводородной кислотой*
4. *Реакция с раствором пикриновой кислоты*