

ЛЕКЦИЯ № 12

Группа веществ, изолируемых из биологического материала дистиляцией.

Химико-токсикологическая характеристика спиртов и фенолов, изолируемых дистиляцией.

Процессы метаболизма, механизмы токсичности, симптомы отравлений. Экспертиза алкогольного опьянения. Экспертная оценка содержания этанола при химико-токсикологическом исследовании внутренних органов и биожидкостей. Методы анализа, применяемые в диагностике алкогольного опьянения и судебно-химической экспертизе.

Токсикологическое значение спиртов

Метиловый спирт:

- растворитель,
- исходное сырье для синтеза лекарственных веществ, красителей,
- для производства формальдегида, применяемого при изготовлении пластмасс,
- в качестве антифриза и стеклоочистителя
- для денатурирования этанола.

Амиловый (изоамиловый) спирт:

- растворитель,
- для синтеза сложных органических веществ,
- главная составная часть сивушного масла - побочного продукта спиртового брожения.

Этиловый спирт:

- растворитель,
- для синтеза органических веществ, в пищевой, фармацевтической, парфюмерной промышленности
- добавка к моторным топливам для повышения октанового числа и снижения концентрации вредных веществ в выхлопных газах,
- чаще выступает не как яд, а какотягчающее обстоятельство, являясь косвенной причиной большого числа смертельных исходов,
- сопутствует различным ядовитым и сильнодействующим веществам в случае отравления с целью самоубийства, либо преступного отравления

Токсичность спиртов

Токсичность возрастает с увеличением числа атомов углерода, примерно 3:1 (правило Ричардсона). Исключением является поведение первых членов гомологических рядов, которые отличаются очень высокой токсичностью.

Токсикокинетика спиртов

Всасывание (резорбция).

Через желудочно-кишечный тракт 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.

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 неизмененном виде, из них 7% - через легкие, 2-2,5% - почками.

Метаболизм (биотрансформация)

Окисление первичных спиртов происходит по схеме: спирт→альдегид→кислота,
вторичных: спирт→кетон→кислота

Первая стадия окисления спиртов (принимают участие 4 ферментные системы):

- Алькогольдегидрогеназа (АДГ)
$$\text{R-CH}_2\text{-OH} + \text{НАД}^+ \rightarrow \text{R-CH=O} + \text{НАДН} + \text{H}^+$$
- 2. Микросомальная этанолюкисляющая система (МЭОС)
$$\text{R-CH}_2\text{-OH} + \text{НАДФН} + \text{H}^+ + \text{O}_2 \rightarrow \text{R-CH=O} + \text{НАДФ}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$$
- 3. Каталаза
$$\text{R-CH}_2\text{-OH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{R-CH=O} + 2\text{H}_2\text{O}$$
- Ксантиноксидаза

Второй этап биотрансформации (метаболизм альдегидов осуществляется тремя группами ферментов):

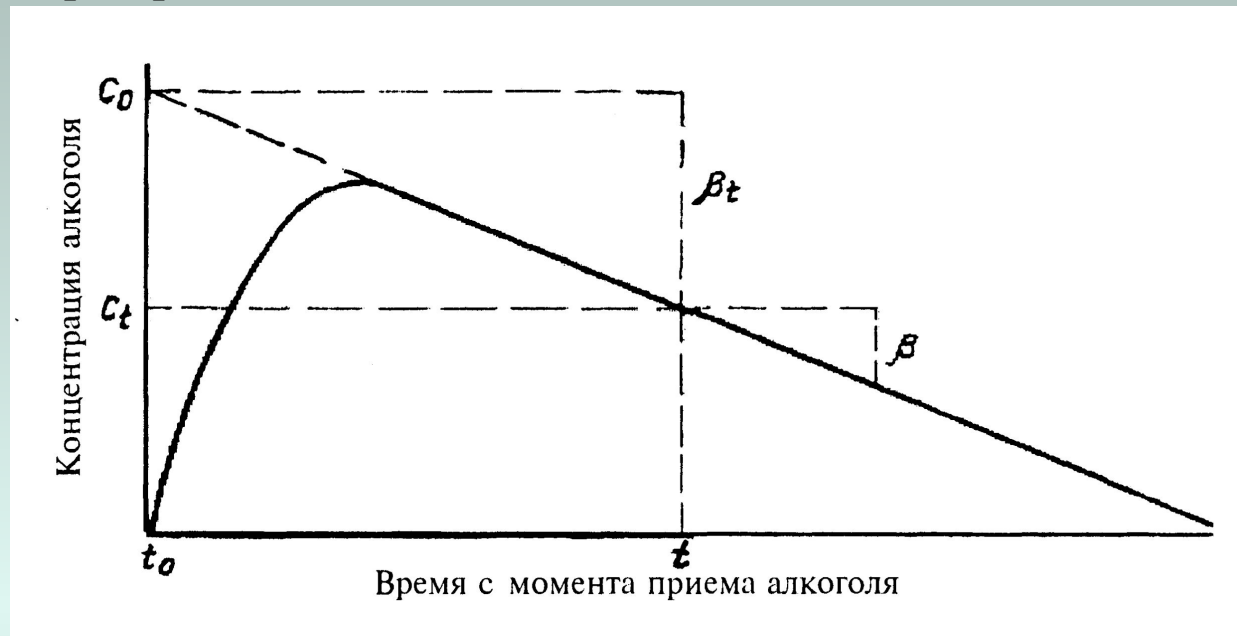
1. Альдегиддегидрогеназами
$$\text{R-CH=O} + \text{НАД}^+ (\text{НАДФ}^+) + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{R-CH}_2\text{-COOH} + \text{НАДН} (\text{НАДФН}) + 2\text{H}^+$$
2. Альдегидоксидазами
3. Альдегидлиазами

Третий и последующие этапы.

Образующиеся кислоты могут подвергаться дальнейшей ферментной биотрансформации, вступать в реакции конъюгации, включаться в обменные процессы, и выводиться из организма, главным образом с мочой

Токсическое действие спиртов

2 фазы: резорбции и элиминации



Содержание алкоголя в крови в фазе резорбции

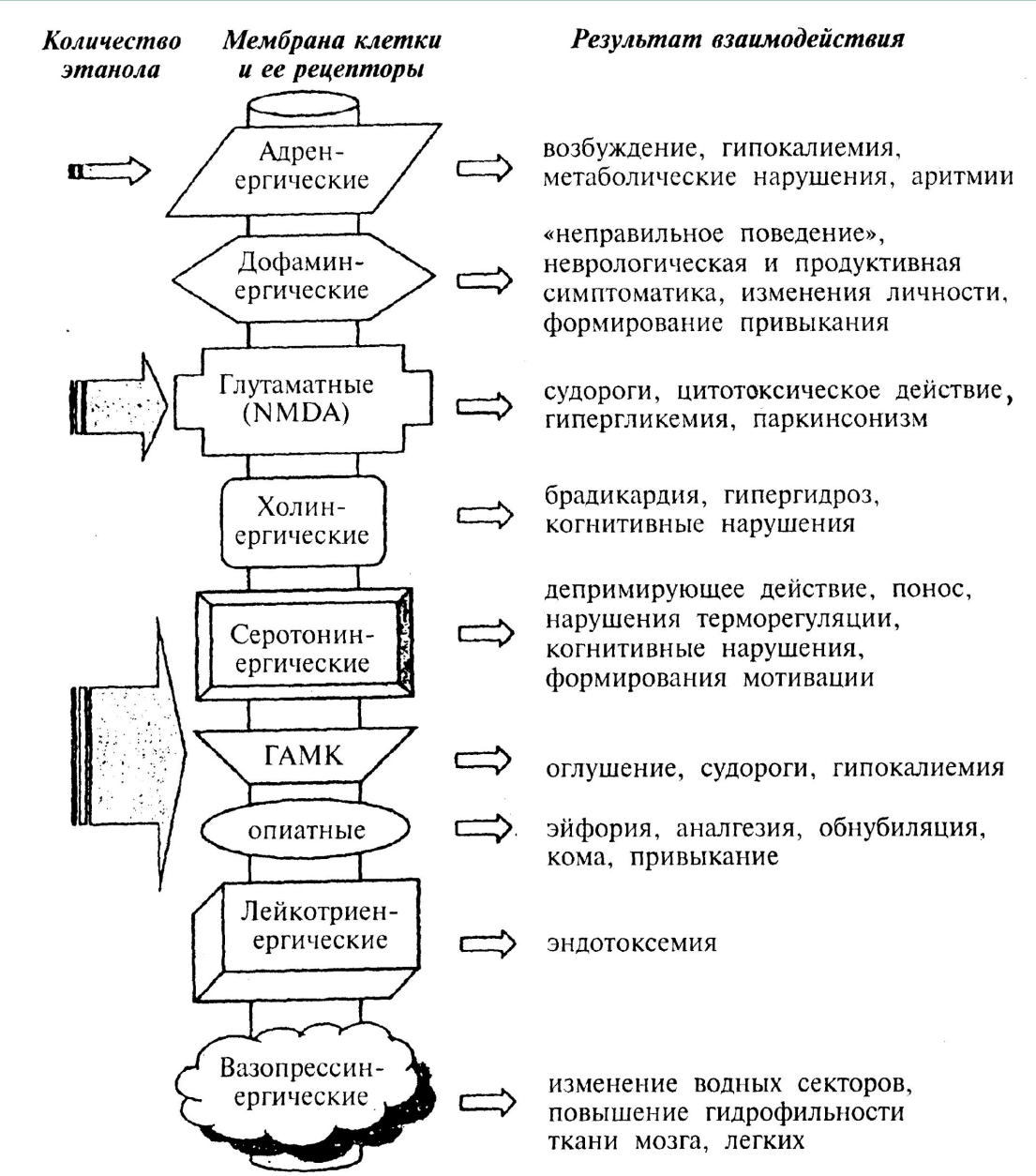
Количество содержания этанола в организме в момент окончания приема спиртных напитков

$$A = P \cdot r \cdot (C_t + \beta_{60} \cdot T)$$

Где P – масса тела, кг, C_t – концентрация алкоголя в крови в момент исследования, T – время, ч, прошедшее после приема спиртных напитков до исследования, r – фактор редукции этанола, β_{60} – фактор элиминации

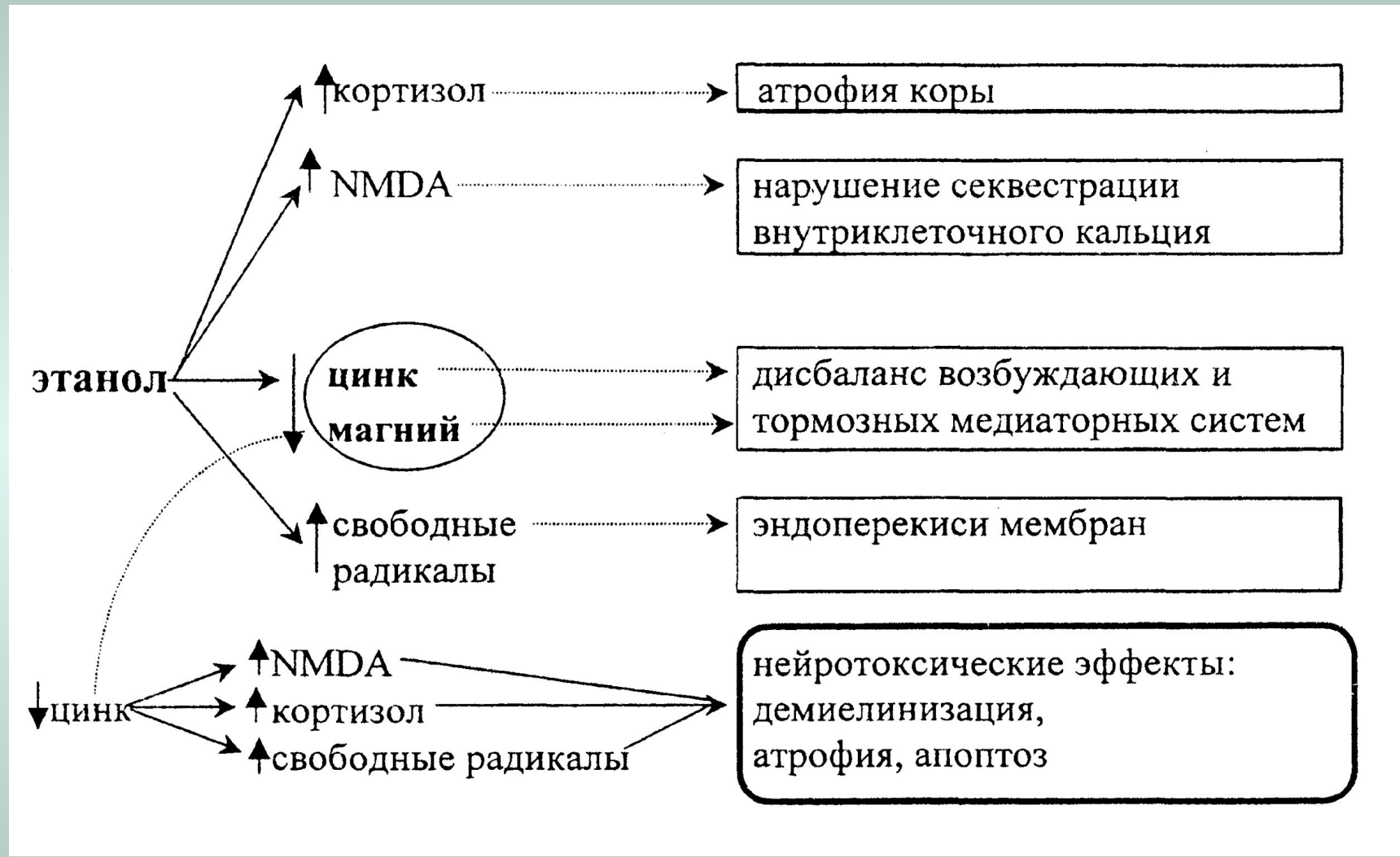
Механизм токсического действия и патогенез интоксикации этанолом

Взаимодействие этанола с некоторыми рецепторами и его клинические последствия



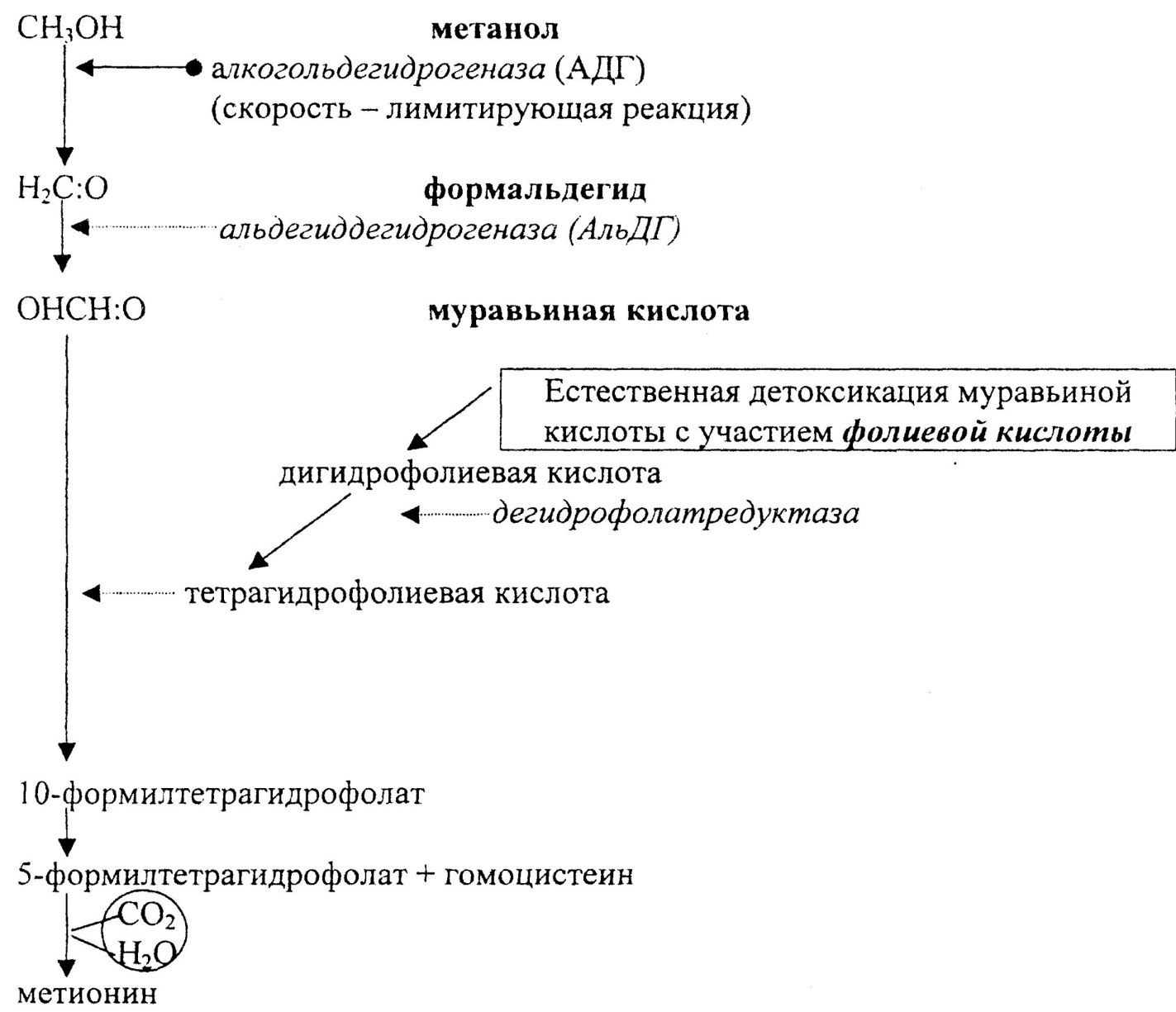
Механизм токсического действия и патогенез интоксикации этанолом

Участие цинка в этанол-зависимых нейротоксических процессах



Метиловый спирт

Основные пути биотрансформации метилового спирта



Метиловый спирт

Механизмы окулотоксического действия метанола



Объекты исследования и пробоподготовка

При смертельном отравлении - кровь и моча, реже ткани мозга, легких, печени, почек, редко - глубокие мышцы бедра

При диагностике состояния алкогольного опьянения в наркологической практике - выдыхаемый воздух, слюна, кровь, моча.

Правила отбора проб для исследования

Моча отбирается в сухой стерильный флакон «под пробку». Флакон тотчас же закрывают пробкой. Отбор пробы мочи должен производиться в условиях, исключающих подмену или замену ее другими жидкостями.

Слюна отбирается в стерильный сухой флакон из-под пенициллина в количестве 5 мл и тут же закрывается пробкой.

Перед отбором пробы крови в сухой стерильный флакон из-под пенициллина закапывают 1-2 капли гепарина или 0,8 мл 3,8%-го раствора цитрата натрия и встряхиванием флакона смачивают его стенки.

Кровь В количестве 5 мл отбирается пункцией кубитальной вены при строгом соблюдении асептических условий самотеком во флакон, обработанный гепарином или цитратом. Флакон тотчас же закрывают стандартной резиновой пробкой, фиксируют пробку и содержимое флакона перемешивают. Кожа в месте пункции предварительно обрабатывается раствором сулемы 1:1000 или риванолом 1:500. **Дезинфекция кожи спиртом, эфиром, настойкой йода не допускается.**

В случае если обследуемый не согласен с правильностью произведенного отбора пробы персоналом “кабинета”, он может:

- оставить запись в рабочем журнале;
- потребовать повторного взятия пробы (безотлагательно);
- сделать заявление в вышестоящие органы.

Сопроводительная документация:

“Направление на химико-токсикологическое исследование”

“Справка о доставке проб на химико-токсикологическое исследование”
заполняются по установленным формам и передаются в химико-токсикологическую лабораторию (ХТЛ) вместе с пробами.

Клиническая диагностика.

Проводится на основании оценки психической сферы и поведения, выявления неврологических и сердечно-сосудистых нарушений. Как правило, при алкогольном опьянении отмечаются три симптомокомплекса:

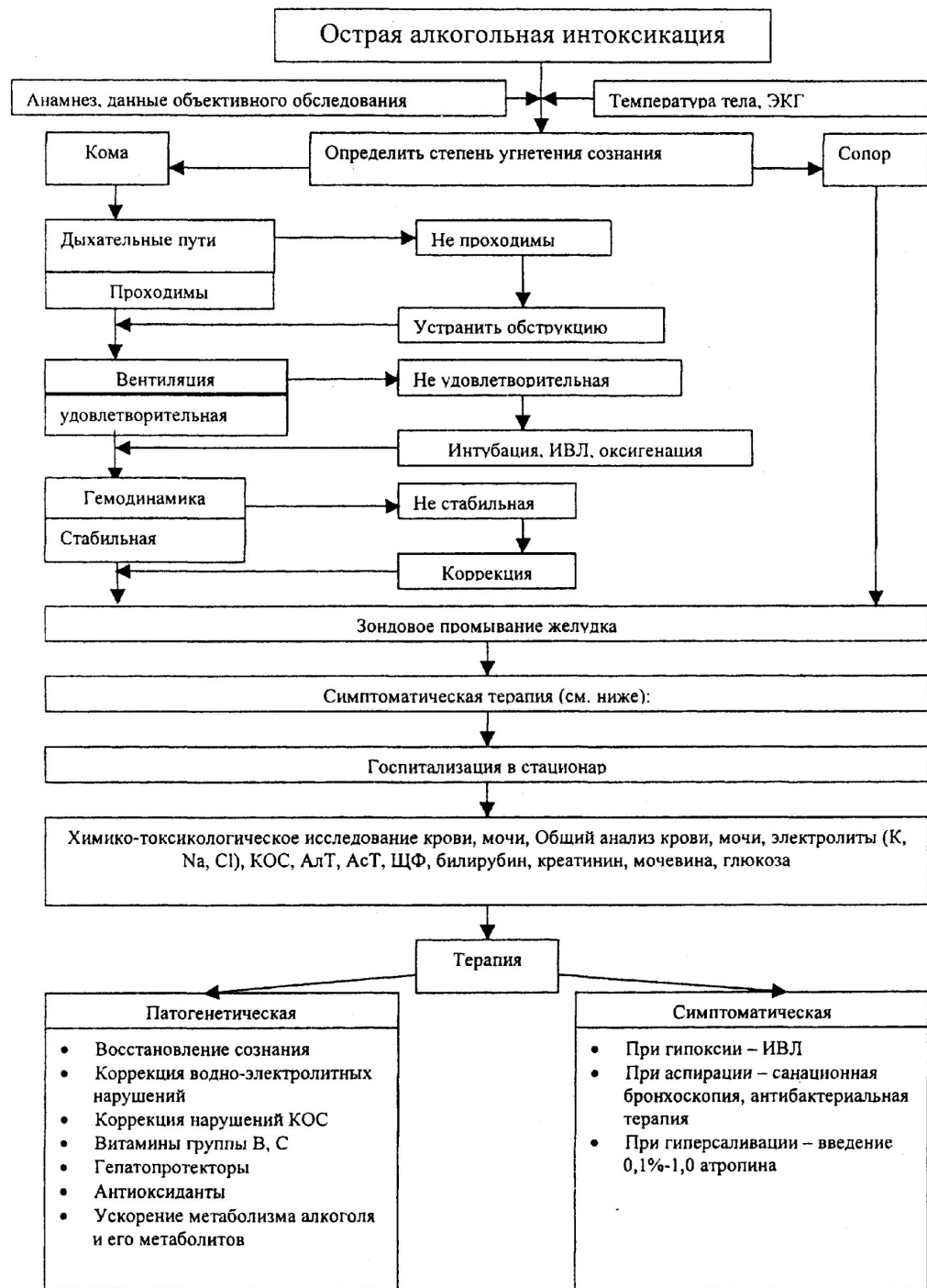
Простые типы опьянения.

1. Алкогольная эйфория. Она возникает после приема сравнительно небольших доз алкоголя и непродолжительна - длится 1-3 часа. Основные признаки - повышенная речевая и моторная активность, расторможенность поведения.
2. Дисфорическое состояние - раздражительность, недовольство. Больные угрюмы, озлоблены, возможно агрессивное поведение
3. Состояние психомоторной заторможенности: вялость, медлительность, сонливость, нарушение мышления и памяти. Такие расстройства часто возникают после употребления больших доз алкоголя.

В зависимости от характера и выраженности клинических проявлений выделяются следующие **степени опьянения:**

1. Легкая степень
2. Средняя степени
3. Тяжелая степень
4. Алкогольная кома

Алгоритм действий при острой алкогольной интоксикации



МЕТОДЫ АНАЛИЗА В СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ ОТРАВЛЕНИЙ И ЭКСПЕРТИЗЕ АЛКОГОЛЬНОГО ОПЬЯНЕНИЯ

1. Реакция этерификации

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).

Предварительные пробы

К 1 мл мочи добавляют 10% раствор дихромата калия в 50% растворе серной кислоты - раствор окрашивается в зеленый цвет.

Дополнительные пробы: кровь (5 мл) или мочу (10 мл) подвергают перегонке с водяным паром, а затем проводят реакцию образования йодоформа на этанол и реакцию окисления метанола до формальдегида.

Методы определения алкоголя в выдыхаемом воздухе

- Проба Рапопорта А.М.
- Индикаторные трубки Мохова-Шинкаренко и «Контроль трезвости».
- Термокatalитический метод.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПИРТОВ

Метод биохимический (энзимный, ферментативный, метод АДГ)

Судебно-химическая оценка метода.

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \xrightarrow{\text{АДГ}} \text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{OH}$

Метод чувствителен (0,1-0,2%) на уровне содержания этанола в организме, специфичен, позволяет проводить серийные анализы, однако требует специального оборудования и особо чистых ферментов (АДГ и ДПН), в связи с чем в нашей стране не нашел применения.

Метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ)

основан на переводе этанола в более летучее соединение - этиловый эфир азотистой кислоты (этилнитрит).

Достоинства метода ГЖХ.

- Высокая разделяющая способность
- Универсальность метода.
- Возможность качественного и количественного определения в одной пробе.
- Высокая чувствительность ($10^{-5} - 10^{-9}$ г).
- Возможность выполнения анализа в малом объеме образца (0,5-2 мл биожидкости).
- Точность метода (ошибка не превышает 1-2%).
- Экспрессность (время определения 3-5 минут)
- Простота и легкость выполнения.
- Доказательность и объективность.

Оценка результатов количественного определения этанола в крови человека

Содержание этанола в крови, промилле	Степень опьянения	Признаки
Менее 0,3	Отсутствие влияния алкоголя	
0,3-0,5	Незначительное влияние алкоголя	Вождение автотранспорта запрещено
0,5-1,5	Легкая степень опьянения	Легкое нарушение координации движения
1,5-2,5	Опьянение средней степени	Возбуждение, иногда опасное для окружающих, шатающаяся походка, неясная речь, нарушение психики и ориентировки, иногда резкая сонливость
2,5-3,0	Сильное опьянение	Ступор (оглушение), снижение болевой чувствительности до полной анестезии. Начальные признаки острого отравления. Возможен смертельный исход.
3,0-5,0	Тяжелое отравление алкоголем, возможно наступление смерти	Кома, опасное для жизни состояние.
Свыше 5,0	Смертельное отравление	

Одноатомные фенолы

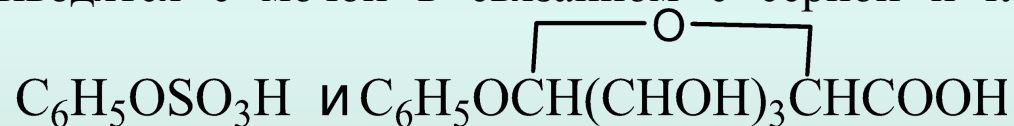
Токсикологическое значение

- для изготовления искусственных смол конденсацией с формальдегидом
- являются исходным продуктом для синтеза некоторых органических красителей, салициловой кислоты, пикриновой кислоты
- применяются для дезинфекции и дезинсекции
- используются в качестве инсектицидов
- используются в качестве антиоксидантов,
- используются в качестве химических реактивов и т. д.

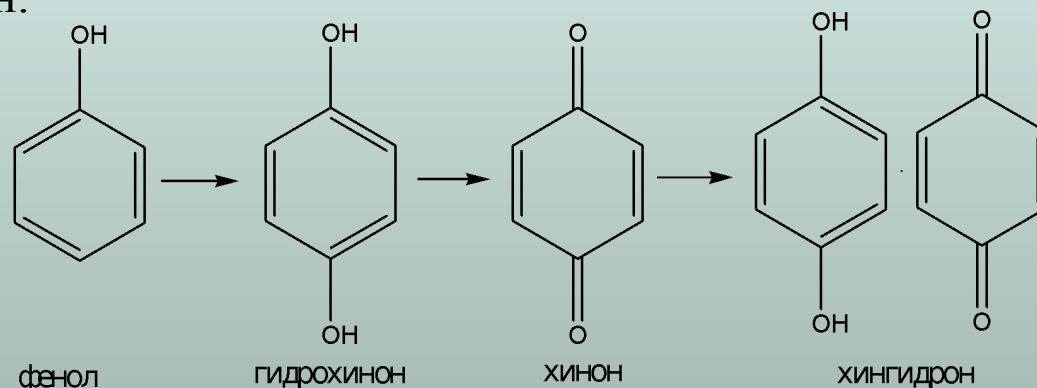
Токсикокинетика

Быстро всасывается.

Из организма выводятся с мочой в связанном с серной и глюкуроновой кислотами состоянии:



В виде сложных эфиров выводится до 80% от введенной дозы. Небольшая часть фенола (~10%) окисляется до двухатомных фенолов (орто- и пара-соединений). Темно-зеленая окраска мочи отравленных фенолом объясняется биотрансформацией фенола в гидрохинон, а затем в хингидрон:



Одноатомные фенолы

Симптомы отравления

Жжение и боль в желудке и кишечнике, рвота беловатыми хлопьевидными массами, понос, иногда с примесью крови, ощущается запах фенола изо рта и от рвотных масс. Моча больного, отравленного фенолом, имеет оливковый или черно-оливковый цвет.

При вскрытии трупов ощущается запах фенола, слизистая оболочка рта, пищевода и желудка покрыта молочно-мутного цвета пятнами, жесткими на ощупь. Отмечаются белковое, а затем жировое перерождение паренхиматозных органов, мелкие кровоизлияния во внутренних органах и в тканях мозга.

Смертельная доза фенола при приемах внутрь 8-15 г.

Качественное обнаружение

1. Образование трибромфенола. Реакция имеет отрицательное судебно-химическое значение.

В организме: некоторое количество фенола (гомолога - пара-крезола ($\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$)) образуется в кишечнике из белка под влиянием бактерий и при гниении трупа.

Например, из тирозина $\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CHNH}_2-\text{CO}-\text{OH}$

В бензольном кольце боковая цепь $-\text{CH}_2-\text{CHNH}_2-\text{COOH}$ окисляется, превращаясь в карбоксил, последнее соединение под влиянием фермента карбоксилазы разлагается и дает фенол: $\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{COOH} \longrightarrow \text{C}_6\text{H}_5\text{OH} + \text{CO}_2$

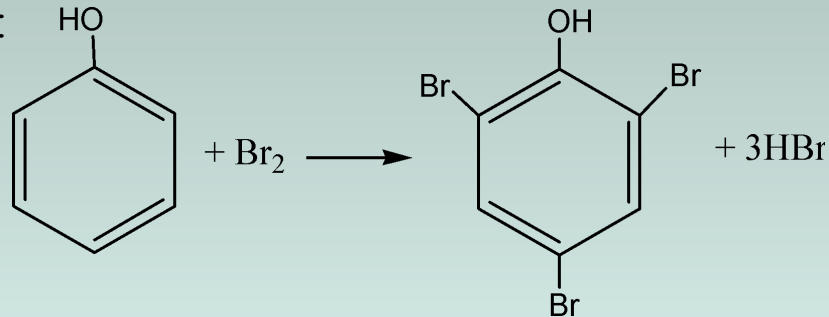
2. Реакция с хлоридом железа (III). Имеет положительное судебно-химическое значение.

Одноатомные фенолы

Количественное определение

1. При достаточном количестве фенола – гравиметрическое определение в виде трибромфенола:
- HO
 $|$

OH
 $|$



2. При малых количествах - объемное броматометрическое определение:

