

УДК 615.9:543

## ТОКСИКОЛОГИЯ И АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

*Антонович В.П. \*, Большой Д.В. \*\**

\* Физико – химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины

\*\* Украинский НИИ медицины транспорта

*Ключевые слова: аналитическая химия, токсикология*

*Мы с тобой одной крови, ты и я.*

*Р. Киплинг*

Среди различных химических дисциплин науками медицинского профиля (токсикологией, фармацией, лабораторной диагностикой и др.) наиболее широко востребована аналитическая химия. К медицинскому ведомству (Министерству здравоохранения) относятся лаборатории СЭС, токсикологические центры, лаборатории контроля качества лекарственных препаратов (как фармпредприятий, так и специализированных инспекций) и исследования их фармакокинетики, биодоступности и биоэквивалентности, лаборатории анализа крови, мочи при любой больнице или поликлинике. По сути своей деятельности все названные лаборатории химико-аналитические, т.к. в конечном счете, заняты установлением химического состава различных объектов, включая биологические.

Токсикологи обосновывают и устанавливают значения предельно допустимых концентраций разнообразных токсикантов в разных объектах (биомедицины, окружающей среды, продуктах питания), на основании чего медицинские ведомства формулируют соответствующие перечни нормируемых компонентов (в частности, санитарные правила и нормы), методическое обеспечение которых разрабатывают химики – аналитики.

Общность задач и методов их решения в токсикологии и многообразных ее видах (общая токсикология, токсикологическая химия, клиническая, экологическая, судебная токсикология) и в аналитической химии следует из сопоставления дефиниций упомянутых наук.

Аналитической химией принято счи-

тать **науку о способах идентификации химических соединений, о принципах и методах определения химического состава веществ и их химической структуры** [1]. На международном уровне официально утверждено следующее определение: **“аналитическая химия – это научная дисциплина, которая развивает и применяет методы, средства и общую методологию получения информации о составе и природе вещества (в пространстве и времени)”** (1993 г., рабочая группа по аналитической химии Федерации европейских химических обществ).

Ниже приведены некоторые ключевые определения токсикологии и ее важнейших разделов, которые сформулированы в ряде учебников и монографий последних лет.

**Токсикологическая химия - наука, изучающая методы выделения токсических веществ из различных объектов, а также методы обнаружения и количественного определения этих веществ. Эта наука разрабатывает новые и совершенствует уже существующие методы определения ядовитых веществ в различных объектах, дает теоретическое обоснование этих методов.**

Химико-токсикологический анализ представляет собой совокупность научно обоснованных методов, применяемых на практике для выделения, обнаружения и количественного определения токсических веществ.

**Токсикологическая химия относится к фармацевтическим дисциплинам и тесно связана с фармакологией, токси-**

**кологией, судебной медициной, биохимией и аналитической химией [2].**

Токсикологию обычно определяют как **науку о законах (закономерностях) взаимодействия токсичных химических веществ (ядов) и живых организмов.**

Теоретическая (фундаментальная) токсикология выясняет механизмы биологической активности токсичных химических веществ; устанавливает связи между токсичностью вещества и его строением, физико-химическими свойствами; закономерности взаимодействия токсикантов и живых организмов.

Для определения количественных критериев токсичности используют химико-аналитические методы для идентификации и количественного определения токсикантов в объектах окружающей среды и в биологическом материале. Эти химико-аналитические методы широко используются в клинической и экологической токсикологии [3].

В этой фундаментальной и разноплановой книге сформулирована общая дефиниция токсикологии как **науки о токсичных химических факторах среды обитания живых организмов, о законах взаимодействия токсичных химических веществ и живых организмов, определяющих потенциальную опасность химических веществ для индивидуумов и их популяций, а также способы и средства минимизации химической опасности, профилактики, диагностики и терапии отравлений.**

Весьма показательно, что в этой детализированной формулировке не нашлось места для указания роли химико-аналитических методов, которые обеспечивают получение исходной количественной информации, что и позволяет делать медико-биологические заключения. Возможно, это упущение связано с тем, что среди 27 авторов книги (ведущих токсикологов СНГ) отсутствуют профессиональные химики – аналитики.

В обстоятельном учебнике для вузов “Токсикологическая химия” [4] рассмотре-

ны несколько иные формулировки:

Основу токсикологической химии составляют две естественно – научные дисциплины: токсикология и химия. **Токсикология** – наука, изучающая свойства ядов и физических факторов, механизмы их действия на организм человека и разрабатывающая методы диагностики, лечения и профилактики отравлений. **Токсикологическая химия** – наука о молекулярных и физиологических механизмах действия токсичных веществ и продуктов их метаболизма, химических методах их изолирования, идентификации и количественного определения в различных объектах (воде, воздухе, продуктах питания, лекарствах, биологических материалах).

Медицинская и химическая составляющие токсикологической химии тесно связаны между собой. Решение задач токсикологии возможно лишь на базе достижений химии, а необходимость определения токсикантов в биоматериалах стимулирует развитие аналитической, физической и органической химии.

**Основными задачами токсикологической химии** является разработка методов изолирования, идентификации и количественного определения ядов в “живом веществе” и других объектах окружающей среды, а также изучение молекулярных механизмов токсического воздействия ядов и процессов их дезактивации.

Токсикологическая химия включает два основных раздела: биохимический и аналитический. **Биохимическая токсикология** изучает токсикодинамику и токсикокинетику ксенобиотиков и их метаболитов; механизмы формирования токсического эффекта в системе токсикант-рецептор, скорости и механизмы поступления, распределения, биотрансформации, элиминации и экскреции токсикантов и их метаболитов.

**Аналитическая токсикология** разрабатывает методы определения токсикантов в разнообразных объектах. Большое внимание уделяется пробоподготовке (выделению и концентрированию ксенобиоти-

ка из пробы анализируемого объекта) методами экстракции (жидкостной или твердофазной), дистилляции, диализа, микродиффузии, минерализации.

Заключительная стадия - **химико-токсикологический анализ** – это обнаружение и количественное определение ядовитых и сильно действующих веществ и их метаболитов в биопробах живых лиц, трупном материале и в вещественных доказательствах отравления.

В наиболее современном и практически ориентированном учебном пособии [5] дефинициям уделено мало внимания, но зато достаточно предметно рассмотрены современные методы решения задач судебно-химического, клинико-токсикологического, криминалистического анализа, допинг – и нарконтроля; представлены различные способы пробоподготовки биобразцов и методы определения токсикантов (ГХ – МС, ВЭЖХ – МС – ЯМР, ВЭЖХ – ИСП – МС, ГХ – ИК – Фурье, КЭ – ИСП – МС и др.). Особое внимание уделено вопросам обеспечения качества получаемых результатам на основе надлежащей лабораторной практики, системы валидации и квалификации в химико-токсикологических лабораториях.

Сопоставление приведенных дефиниций и определений позволяет сделать несколько методологически существенных выводов, которые не должны вызвать принципиальные возражения как со стороны токсикологов, так и адептов аналитической химии.

**1.** Безусловно, в эффективных, информативных, селективных, высокочувствительных, экспрессных методах анализа заинтересованы и токсикологи, и аналитики. Но разработкой этих методов (их теоретическими основами, методическим, метрологическим, аппаратным сопровождением) должны в первую очередь заниматься (и занимаются!) специалисты в области аналитической химии. Здесь справедлива старинная сентенция: Богу – богово, кесарю – кесарево. Наиболее значительные успехи в развитии аналитической

химии всегда были сопряжены с ответами на социальные “вызовы”: поиска полезных ископаемых, контроля чистоты ядерных и полупроводниковых материалов, загрязнений объектов окружающей среды. В настоящее время во всем мире бурно развивается биоаналитическая химия, решая широкий круг задач медицины и биологии, в том числе и токсикологии. Необходимо исходить из того, что аналитики призваны разрабатывать методы анализа **широкого круга объектов, не только медико-биологических, но геохимических, металлургических, материаловедческих.** Токсикологи в своей экспериментально-практической работе применяют аналитические решения (методы пробоподготовки, концентрирования, методики выполнения измерений). Достаточно часто токсикологические лаборатории выполняют преимущественно рутинные анализы в соответствии с методиками, регламентированными нормативно-аналитической документацией разного уровня (Фармакопеями, АНД фармпредприятий, методическими указаниями и т.д.), утвержденной соответствующими подразделениями Минздрава. Это означает, что такие лаборатории функционируют в системе аналитического контроля, главная задача которого заключается в установлении соответствия (или не соответствия) содержания нормируемых компонентов регламентированным уровням (нормам). При этом научно-исследовательская сторона деятельности контрольно-аналитической лаборатории сведена к минимуму. Тем не менее, в тандеме токсикология – аналитическая химия первая ставит задачи, обобщает полученные экспериментальные результаты, делает медико-биологические выводы, а вторая – обеспечивает надлежащий уровень данных, необходимых для этих заключений.

В “утешение” токсиколагам можно лишь добавить, что обогащение аналитической химии новыми методами связано с именами не столько химиков – аналитиков, сколько физиков (Г. Кирхгоф, Д. Хевеши, С.И. Вавилов), ботаника М.С. Цвета, биохимиков А.Д.П. Мартина и Р.Л.М. Синга.

**2.** Подобие задач и тождественность

методов их решения (в большинстве случаев) в токсикологии и аналитической химии обусловлено междисциплинарным характером этих дисциплин. Поэтому и токсиколог, и аналитик даже в рамках своей лаборатории должен регулярно и конструктивно взаимодействовать со специалистами разного профиля, в том числе с администраторами (которые ставят перед аналитиком задачи, принимают их решения), прибористами (которые обеспечивают нормальное функционирование измерительной и вспомогательной аппаратуры), представителями метрологических служб (которые осуществляют аккредитацию лаборатории и надзор за соблюдением различных нормативных документов).

В связи с этим аналитик – токсиколог должен хорошо знать (и постоянно эти знания актуализировать!) не только аналитическую химию, но и смежные дисциплины (биохимию, фармацию, токсикокинетику и биотрансформацию ксенобиотиков, основы судебной медицины и т.д.), физические принципы и конструктивные особенности используемых приборов, нормативную документацию (на методы отбора проб и их анализа, санитарные правила и нормы – при исследовании объектов окружающей среды, продуктов питания), метрологию. **Аналитик обязан постоянно учиться, непрерывно поддерживать и повышать свой квалификационный уровень.**

К сожалению, современные реалии в Украине таковы, что систематическому повышению химико-аналитического профессионального уровня сотрудников токсикологических лабораторий препятствует ведомственный подход, в частности, требования к их обязательному базовому медицинскому образованию. Здесь уместен комментарий. Даже на химических факультетах классических университетов нашей страны недостаточен уровень специализированной подготовки биоаналитиков, особенно в части современных инструментальных методов исследования. В программах медицинских университетов Украины такая специализация не предусмотрена. Поэтому, в соответствии с известным лозунгом “спасе-

ние утопающих – дело рук самих утопающих” аналитики – токсикологи новую аппаратуру осваивают в лучшем случае с помощью наладчиков приборов, что явно не достаточно для их правильной эксплуатации и разнопланового применения.

**3.** Общность аналитической и токсикологической химии четко проявляется в постоянной и характерной для этих дисциплин смене приоритетов, как в части задач, так и методов их решений.

Давно известна разная токсичность соединений Cr (III) и Cr (VI), As (III) и As (V), неорганических и органических соединений ртути, свинца, олова. Успехи аналитической химии в области определения химических форм компонентов (вещественный анализ, speciation) позволило токсикологам в настоящее время получать информацию не просто о валовом содержании, например, ртути, а о концентрациях элементной, ионной ртути, метилртути. Современное состояние этой проблемы, соответствующие способы анализа разных объектов, включая биомедицинские и экологические, систематизировано в ряде работ аналитиков [6-9].

Сложившееся в последние годы актуальное направление “Токсикологии малых доз” стимулировала химиков - аналитиков с новых позиций подойти к проблеме увеличения чувствительности определения (снижения пределов обнаружения) различных тяжелых металлов и органических токсикантов в биологических и экологических объектах. Новые эффективные решения достигнуты как с использованием принципиально новых методов (главным образом спектроскопических, электрохимических и хроматографических), так и при рациональном сочетании методов выделения, концентрирования аналитов и их детектирования различными, в том числе традиционными методами [10, 11].

В практических работах по токсикологии малых доз необходимо учитывать, что при использовании высокочувствительных методик необходимо тщательно контролировать чистоту используемых реактивов, максимально элиминировать возможные

загрязнения в ходе анализа, которые могут вносить вспомогательные материалы, посуду, оборудование. Можно выразить уверенность, что в этом будет полезна и востребована организация аналитического контроля полупроводниковых материалов и веществ особой чистоты.

**4.** Общность методологии аналитической и токсикологической химии предусматривает единообразный подход к контролю и подтверждению достоверности результатов соответствующих определений (измерений). Специфика химической токсикологии состоит в невозможности использования при доказательстве правильности полученных результатов стандартных образцов состава биообъектов (крови, мочи, тканей), аттестованных на содержание нормируемых компонентов. Поэтому здесь целесообразно применять обычный набор приемов и методов классического химического анализа: метод добавок, варьирование навесок анализируемых проб, альтернативные методы анализа, обязательную валидацию методик анализа, участие в раундах сличительных анализов или профессионального тестирования (межлабораторный эксперимент, как внешний контроль правильности). Необходимость и важность такого контроля в деятельности токсикологических лабораторий разного уровня и различных направлений продиктованы прежде всего **личной ответственностью исполнителя за достоверность и арбитражестойчивость выводов и заключений** соответствующих экспертиз, имеющих, как правило, серьезные экономические, юридические и медицинские последствия.

**5.** И в аналитической химии, и в химической токсикологии распространено убеждение (особенно на административном уровне) во всемогуществе современной аналитической техники, измерительной и вспомогательной аппаратуры. Действительно, во многих случаях без таких приборов обойтись невозможно. Эффективное и надежное определение многих суперэко-токсикантов (пестицидов, хлорированных бифенилов, полиаренов, дибензофуранов,

диоксинов, ртутьорганических соединений) стало возможным только с развитием хромато-масс-спектрометрии. Тем не менее и сегодня задачи определения диоксинов в объектах окружающей среды и биоматериалах нельзя отнести к рутинным. Опыт работы химико-аналитических лабораторий показывает, что ряд сложнейших задач токсикологии можно успешно решать традиционно используемыми методами при их надлежащей модификации. В частности, нет нужды покупать дорогостоящий масс-спектрометр с индуктивно-связанной плазмой для определения ультрамалых содержаний свинца, если для такой задачи можно применить инверсионную вольтамперметрию, не уступающую ИСП-МС по пределу обнаружения этого элемента – токсиканта [12].

Даже располагая материальными возможностями для приобретения безусловно полезного для токсикологических исследований “навороченного” хроматографа, необходимо предусмотреть его не только сиюминутную, но и перспективную комплектацию (колонок, детекторы и др.), обязательное использование высокочистых реактивов (воды, газов, растворителей и т.д.), регулярную профилактику. В наших условиях нужно заранее позаботиться о покупке специального мощного источника бесперебойного питания, кондиционирования воздуха в хроматографической комнате. Предусмотреть эти и сопутствующие условия, обеспечить нормальное функционирование прибора и получение достоверных результатов может только высококвалифицированный аналитик при разумно организованном взаимодействии с наладчиками, электронщиками, программистами, вспомогательным персоналом.

В современных изощренно-прецизионных токсикологических экспериментальных исследованиях успех могут обеспечить профессионалы, широко и глубоко образованные специалисты, получившие не только базовое медико-биологическое образование, но и знающие аналитическую химию, химическую метрологию, владеющие сложной компьютеризированной измерительной аппаратурой.

Завершая перечень областей пересечения интересов и продуктивного взаимодействия токсикологов и аналитиков, можно в сугубо информационном плане упомянуть лишь некоторые направления, представляющие взаимный интерес.

В уже упомянутых здесь монографиях по токсикологии (авторы и редакторы В.Ф. Крамаренко, Б.А. Курляндский и В.А. Филов, Т.В. Плетнева, Н.И. Калетина) представлен большой фактический материал о возможностях самых разных методов определения разнообразных неорганических и органических токсикантов в биообъектах. К этому можно добавить книгу [13], в которой рассмотрены теоретические основы и практические приложения новейших методов исследования биомедицинских объектов: жидкостной хроматографии (ионообменной, гель-проникающей, афинной), масс-спектрометрии (секторной, квадрупольной, времяпролетной, с электронной и химической ионизацией, преобразованием Фурье), включая ее сопряжение с разными видами хроматографии, рентгеноструктурного анализа, электронной (просвечивающей и растровой) и сканирующей зондовой микроскопии.

Хорошо систематизирован материал о всех процедурах анализа пищевых продуктов на содержания ртути, кадмия, свинца, мышьяка, селена, меди и других металлов – токсикантов в обзоре [14].

В обзорной статье [15] не только сопоставлены для различным вод ПДК нормируемых компонентов и пределы их обнаружения разными методами анализа, но и акцентировано внимание на ряде парадоксов нормирования, в результате которых, в частности, питьевую воду нельзя сбрасывать в рыбохозяйственные водоемы, системы очистки сточных вод.

В большой статье известных российских биоаналитиков [16] на высоком научном уровне обсуждена проблема определения антиоксидантов в биомедицинских объектах. Рассмотрены возможности ВЭЖХ, флуориметрии и хемилюминесценции, ферментативных и электрохимических методов при определении  $\pm$ -токоферола,

ретинола, флавонолов, о-дифенолов, глутатиона, аскорбиновой, липоевой и мочевой кислот, альбумина, i-глобулина, билирубина.

Практическим работникам токсикологических лабораторий безусловно будут полезны химико-аналитические статьи, в которых обстоятельно и высокопрофессионально рассмотрены достижения и проблемы определения пестицидов [17], соединений теллура, селена, сурьмы и их метаболитов [18], новые возможности использования жидкостной хроматографии в медицине [19], масс-спектрометрии в метаболизме (анализ метаболитов биологических объектов) [20].

Методическое, метрологическое и аппаратное обеспечение хромато-масс-спектрометрического определения диоксинов предметно и обстоятельно рассмотрено в статье Н.А. Ключева [21].

Известное выражение председателя Научного совета по аналитической химии РАН, академика Ю.А. Золотова [22]: “аналитики-медики и химики-аналитики существуют как параллельно развивающиеся сообщества, почти не контактирующие между собой, хотя разного уровня “пересечения” были бы весьма продуктивны для обоих сообществ”, к сожалению, и сегодня справедливо в Украине.

Можно лишь выразить надежду, что конкретизированные здесь “пересечения” интересов и возможностей аналитиков и токсикологов позволят найти области оптимального взаимодействия профессионалов из разных ведомств, но работающих на общей научной платформе.

#### Литература

1. Ю.А. Золотов. Очерки аналитической химии. М: Химия, 1977. 240 с.
2. В.Ф. Крамаренко “Токсикологическая химия”. Киев, Выща школа, 1989; 447 с.
3. Общая токсикология. Под ред. Б.А.Курляндского, В.А.Филова. М: Медицина, 2002, 608 с.
4. Токсикологическая химия. Под ред. проф. Т.В. Плетневой. М: “ГЭОТАР –

- Медиа”, 2005, 512 с.
5. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов. Под ред. проф. Н.И. Калетиной М., ГЭОТАР - Медиа, 2008, 1016 с.
  6. Т.Г. Лапердина. Определение ртути в природных водах. Новосибирск, Наука; 2000, 222 с.
  7. В.П. Антонович, И.В. Безлуцкая. Ж. аналит. химии. 1996. Т. 51. № 1. с. 116-123.
  8. M.Leermakers, W.Baeyens, P.Quevauviller, M. Horvat. Trend, Anal. Chem. 2005. V 24, № 5. P. 383-393.
  9. K. Leopold, M. Foulkes, P. Worsfold. Anal. chim. acta. 2010. V. 663. P. 127-138.
  10. Г.К. Будников, Г.А. Евтюгин. Ж. аналит. химии. 2001. Т. 56. № 6. С. 655-658.
  11. В.П. Антонович, Д.В. Большой. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2006. № 3 (5). С. 20-29.
  12. P. Mader, J. Szakova, E. Curdova. Talanta. 1996. V. 43. № 3. P. 521-524.
  13. Б. Нолтинг. Новейшие методы исследования биосистем. М.: Техносфера, 2005, 256 с.
  14. Кузубова Л.И., Шуваева О.В., Аношин Г.Н. Элементы-экоотоксиканты в пищевых продуктах. Гигиенические характеристики, нормативы содержания в пищевых продуктах, методы определения: Аналит. обзор/ ГПНТБ СО РАН, Ин-т неорг. химии, Объед. ин-т геологии, геофизики и минералогии СО РАН. – Новосибирск, 2000. – 67 с. – (Сер. Экология. Вып. 58).
  15. И.К. Куцева, А.В. Карташева, А.В. Чамаев. Ж. аналит. химии. 2005. Т. 60. № 8. С. 886-893.
  16. Г.К. Будников и Г.К. Зиятдинова. Ж. аналит. химии. 2005. Т. 60. № 7. С. 678-691.
  17. В.Д Чмиль, Сучасні проблеми токсикології. 2002. № 2.
  18. Y. Orga. Anal. Sci. 2009. V. 25, P. 1189-1196.
  19. А.А. Карцова. Соросовский образовательный журнал. 2000. т. 6. № 11, с. 35-40.

20. П.Г. Лохов, А.И. Арчаков. Биомедицинская химия. 2008. Т. 54. № 5.
21. Н.А. Ключев. Ж. аналит. химии. 2001. Т. 56. № 9. С. 987-991.
22. Ю.А. Золотова. Ж. аналит. химии. 2001. Т. 56. № 11. С. 1125.

### Резюме

#### ТОКСИКОЛОГІЯ І АНАЛІТИЧНА ХІМІЯ

*Антонович В.П., Большой Д.В.*

Не дивлячись на схожість завдань і спільність інтересів, токсикологія і аналітична хімія розвиваються значною мірою відособлено один від одного. Цей факт негативно відбивається на обох професійних співтовариствах як в методологічному, так і в методичному плані. Лікарі-токсикологи позбавлені можливості використовувати останні досягнення аналітичної хімії і не привчені до строгої кількісної оцінки результатів досліджень. Хіміки-аналітики стоять в стороні від цікавих практичних завдань, вирішення яких могло б стимулювати розвиток науки.

*Ключові слова: аналітична хімія, токсикологія*

### Summary

#### TOXICOLOGY AND ANALYTICAL CHEMISTRY

*Antonovich V.P., Bolshoy D.V.*

Despite similarity of problems and a generality of interests, the toxicology and analytical chemistry develop appreciably separately from each other.

This fact adversely affects on both professional communities both in methodological, and in the methodical plan.

Toxicologists are deprived possibility to use last achievements of analytical chemistry and not accustomed to a strict quantitative estimation of researches results.

Chemists-analysts stand away from the interesting practical problems which decision could stimulate science development.

*Keywords: analytical chemistry, toxicology*

*Впервые поступила в редакцию 22.08.2010 г.  
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*