

Kriminalistický ústav

XXIII. Konference o separační chemii a analýze toxických látek – Lázně
Bohdaneč



Otravy tiseň

pplk. RNDr. Ivo Beroun, CSc.



Pomáhat a chránit

4. listopadu 2021

TIS ČERVENÝ (*Taxus baccata* L.) z čeledi tisovité (*Taxaceae*)

- chráněná prudce jedovatá jehličnatá dřevina, vhodná pro parkové úpravy a živé ploty
- keř nebo strom nižšího vzrůstu (stárí přes 1000 let)
- tmavé zbarvení oproti jiným jehličnanům (jehlice 1-4 cm)



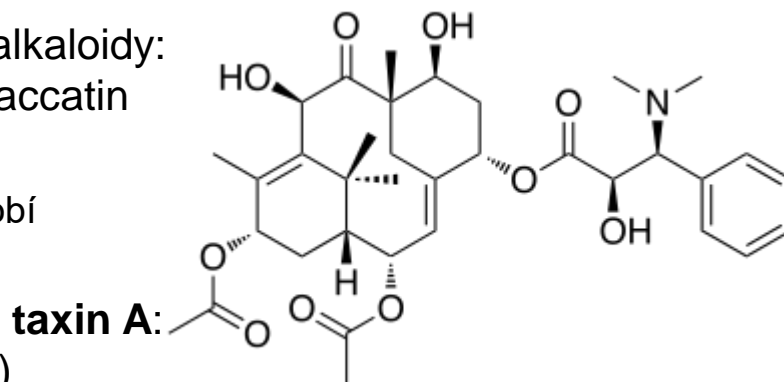
toxická tisová vyjma červeného dužnatého nepravého míšku (epimatium), tvořícího se kolem semen v podzimním období

jedovaté obsahové substance - taxinové pseudoalkaloidy:
taxin B, **isotaxin B**, **taxin A**, milosin, lykopen, baccatin

..

pozn.: jejich konc. se může v průběhu vegetačního období botanického jedince významně měnit

rychlé vstřebání trávicím systémem (30 – 60 min)
zástava srdeční činnosti (výrazný vliv na kardiovaskulární systém)



zdroj obrázků: internet

Intoxikace rostlinným materiálem (jehličí)

letální dávka pro člověka 50 – 100 g



rostlinné fragmenty na žaludeční sliznici



žaludeční obsah (trávenina)

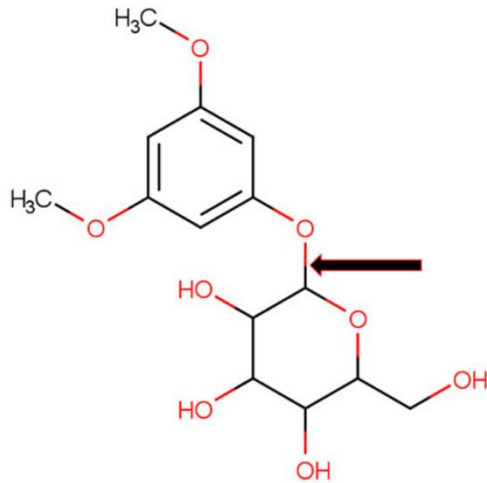
zdroj obrázků:

Ďatko M., Brzobohatá A.: Smrtelná otrava tiselem červeným, FN u Sv. Anny v Brně, LF MU, poster Praha 2014

Intoxikace tisem (především v případě, kdy chybí rostlinné fragmenty, tj. po požití výluhu)

cílená analýza na přítomnost **3,5-dimethoxyfenolu**¹ (významný marker)

(vzniká v průběhu trávení štěpením taxikatinu - enzymaticky hydrolyzou za přítomnosti β -glukuronidasy)



šipkou označeno místo štěpení taxikatinu

Soudní lékařství

- tělní orgány/tekutiny
- sice rozštěpený taxikatin (3,5-dimethoxyfenol), ale v relativně nízké koncentraci v tělních orgánech

KU, OKTE

- jehličí, semena, výluhy apod.
- vyšší koncentrace taxikatinu k dispozici, ale minimum 3,5-dimethoxyfenolu
- nutnost rozštěpit taxikatin před vlastní analýzou

¹Froldi R., Croci P., Dell'Acqua L., Farè F., Tassoni G., Gambaro V.: Preliminary gas chromatography with mass spectrometry determination of 3,5-dimethoxyphenol in biological specimens as evidence of taxus poisoning, J. Anal. Toxicol. 2010 Jan-Feb; 34(1): p. 53-6

Příprava vzorku rostlinného materiálu, odvaru, resp. zbytků k analýze štěpení taxikatinu k navýšení koncentrace 3,5-dimethoxyfenolu

1) okyselení vzorku 7% HCl

*pozn.: žaludek - přirozeně produkováno 140 až 160 mmol/l (0,5 – 0,6 % HCl)
+ přítomnost enzymů*

2) zahřátí okyseleného vzorku na 80°C k podpoření hydrolýzy

3) extrakce EtAc po ochlazení vzorku na lab. teplotu

4) supernatant možné dávkovat do GC-MS

vlastní chromatografická analýza:

sestava plynového chromatografu Agilent 7890B opatřené kolonou HP-5MS (30 m x 250 μ m x 0,25 μ m) a hmotnostním detektorem Agilent 5977B HES GC/MSD, podmínky analýzy byly následující: inlet: 250 °C, Split, průtok (He): 1 ml/min, teplotní program: 60 °C (1 min) → 30 °C/min → 180 °C (0 min) → 10 °C /min → 280 °C (15 min), tj. celkem 30 minut na analýzu, MS Source: 230 °C, MS Quad: 150 °C, Acquisition type: Scan.



Rostlinný materiál (jehličí, semena, fragmenty větviček apod.)

- fragmentace (např. jehlice nastříhat na cca 2-3 mm kousky, netřeba roztírat)
- možno vysušit při lab. teplotě
- nadrtit
- odvážení cca 0,5 g materiálu
- přidavek 3 ml cca 7% HCl
- zvýšená teplota 80 °C po dobu 15 minut
- ochlazení na lab. teplotu (bod varu EtAc 77 °C)
- přidavek 3 ml EtAc
- třepat na orbitální třepačce / vložit do ultrazvuku na dobu 10 minut
- odstředit
- 1 ml org. fáze k analýze na GC-MS

Výluh

- objem výluhu 4 ml
- přídavek 1 ml konc. HCl (~36 %)
- zvýšená teplota po dobu 15 minut při 80 °C
- ochlazení přibližně na laboratorní teplotu
- přídavek 1,5 ml EtAc
- třepat na orbitální třepačce / vložit do ultrazvuku na dobu 10 minut
- odstředit
- 1 ml org. fáze k analýze na GC-MS



Znečistění předmětů, nádob (kuchyňské nádoby, sklenice, hrnky apod.)

- opakovaný oplach MeOH
- odpařit (za laboratorní teploty / urychleně stripováním plynným dusíkem)
- přidavek 0,5 ml 7% HCl
- zvýšená teplota po dobu 15 minut při 80 °C
- ochlazení přibližně na laboratorní teplotu
- přidavek 0,5 ml EtAc
- třepat na orbitální třepačce / vložit do ultrazvuku na dobu 10 minut
- odstředit
- supernatant do vialky s inzertem k analýze (stopová analýza)



Důležité poznámky k uvedeným postupům

- materiály s nízkým obsahem účinných taxinových pseudoalkaloidů a tedy i taxikatinu:

Ize zvýšit např. navážku rostlinného materiálu / objem výluhu /
zakoncentrování ethylacetátových extraktů stripováním dusíkem

- nestabilita tisových výluhů v případě neutrálního nebo alkalického prostředí:
pokles toxicity s časem

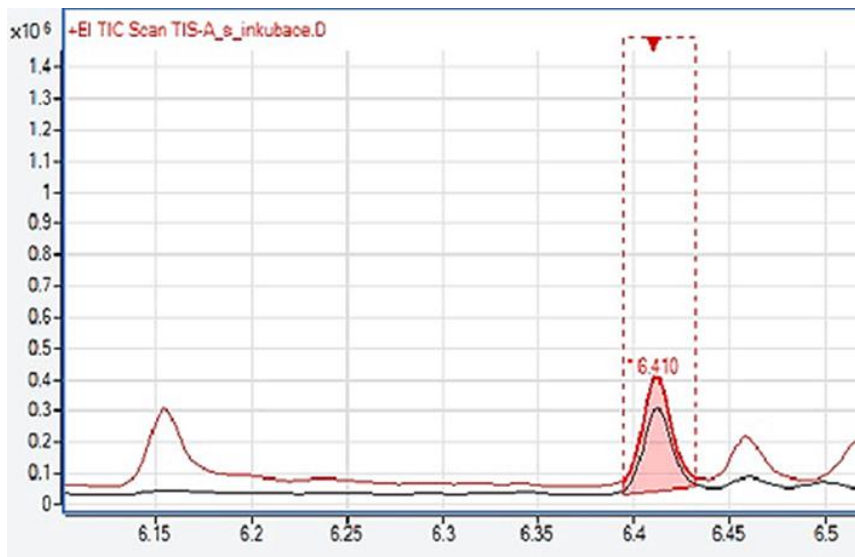
marker 3,5-dimethoxyfenol nemusí být časem prokazatelný

možné detekovat další doprovodné látky jednodušší struktury:

např. **myrtenol** a **1-okten-3-ol** (Varlet V., Augsburg M.:Monitoring of aglycons of yew glycosides (3,5-dimethoxyphenol, myrtenol and 1-octen-ol) as first indicator of yew presence. Drug Test Anal., 2013 Jun; 5 (6); p. 474-9.



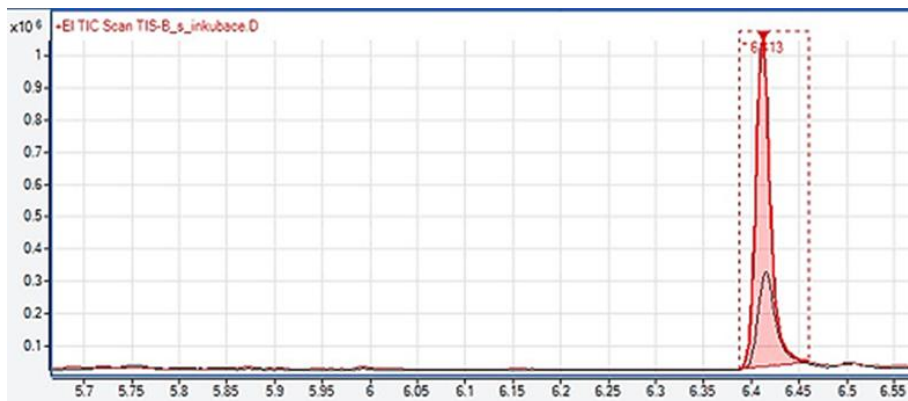
staré vzorky



porovnání shodných vzorků tisu (jehličí) po hydrolyze za zvýšené teploty (červeně) a bez hydrolyzy za zvýšené teploty (černě) 1 rok po sklizni

pozn.: koncentrace po hydrolyze se zvýšenou teplotou dle ploch píků 3,5-dimethoxyfenolu je 1,35 x větší

čerstvé vzorky



porovnání shodných vzorků tisu (jehličí) po hydrolyze za zvýšené teploty (červeně) a bez hydrolyzy za zvýšené teploty (černě) 2 dny po sklizni

pozn.: koncentrace po hydrolyze se zvýšenou teplotou dle ploch píků 3,5-dimethoxyfenolu je 2,75 x větší

● Kazuistika



Případ 1. (březen 2018): muž 28 let, 26 videosekvencí zachycujících jednání poškozeného v IPodu zajištěného na místě, důvodem suicidálního aktu bylo zklamání s vývojem dosavadního života a totální beznaděj



Případ 2. (červenec 2018): žena 24 let, znala se s poškozeným a věděla o způsobu jeho skonu, důvodem sebepoškozujícího jednání byla závažná diagnóza: paranoidní schizofrenie



Děkuji za pozornost..



zdroj obrázku: internet

pplk. RNDr. Ivo Beroun, CSc.
+420 974 824 456
ivo.beroun@pcr.cz