# ХТА отдельных групп лекарственных веществ

## Барбитураты
## Бензадиазепины

2014

# Подходы к анализу производных барбитуровой кислоты

Приказ по МЗ СССР г.Москва

№ 1021 от 25 декабря 1973г

«О введении нового перечня токсикологических веществ, подлежащих судебно – химическому исследованию в лабораториях бюро судебно – медицинской экспертизы»

1. Группы веществ, на которые должны производиться исследования при общем анализе

1.3. Органические вещества, изолируемые подкисленной водой или подкисленным

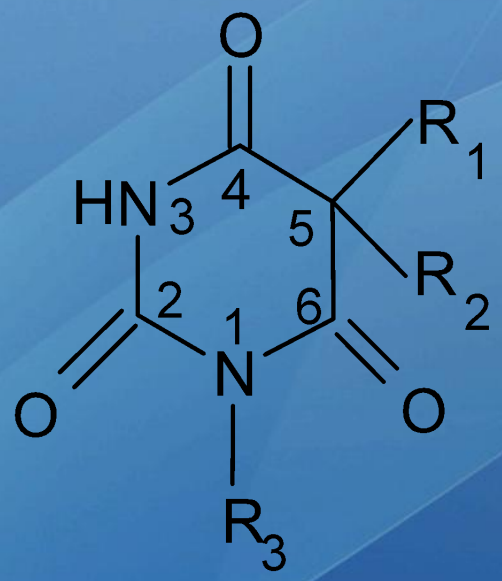
спиртом, другими органическими растворителями:

**Барбитал, фенобарбитал, барбамил, этаминал, циклобарбитал, гексобарбитал, бензонал.**

2. Вещества, на которые расширяют общий анализ в зависимости от клинической и секционной картины, результатов гистологического, гистохимического исследования, особенностей течения химических реакций и т. д.

производные барбитуровой и тиобарбитуровой кислот, не указанные в п. 1.3;

Барбитураты - 5,5'-дизамещенные производные барбитуровой кислоты. Атом азота в положении 1 может метилироваться, (метилфенобарбитала), а замещение кислорода серой в положении 2 приводит к образованию тиобарбитуратов, (тиопентала).




- Низкий терапевтический индекс
- Широкое применение
- Синергизм с алкоголем и др. психоактивными средствами.
- Быстро всасываются после орального введения (биодоступность 90—100 %)

# Свойства производных барбитуровой кислоты

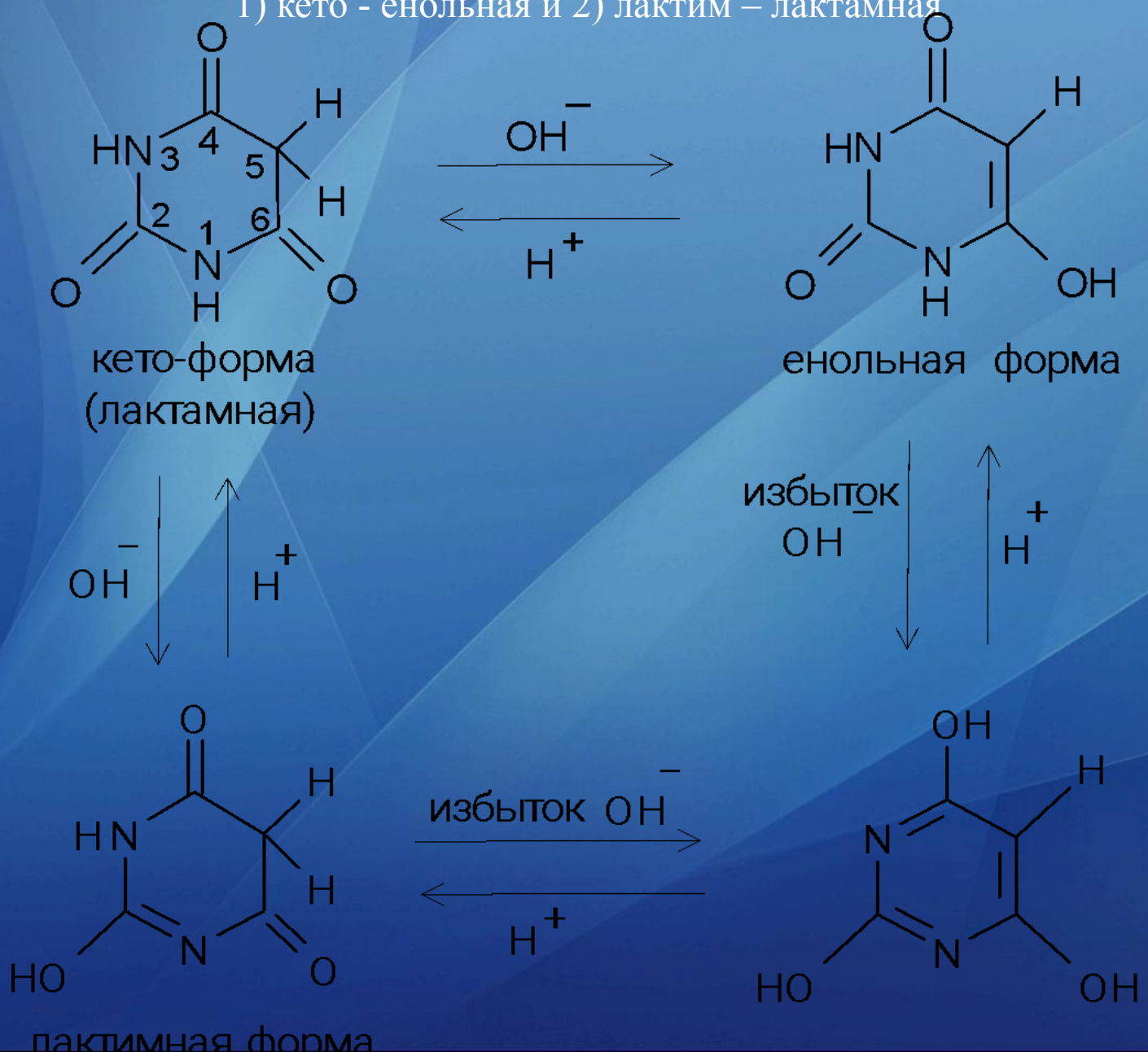
| Препарат | Доза Мг/сут | pKa | Vd л/кг | Бел, % | T ½ час | Cl мл/мин | AU % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Барбитал | 300-600 | 8,0 | 0,5 | 20 | 48 | | 40 |
| Фенобарбитал | 60-180 | 7,4 | 0,5-0,7 | 50 | 100 | 5 | 30 |
| Барбамил | 100-200 | 7,9 | 1,0 | 50 | 8-40 | 35 | 1 |
| Этаминал -натрий | 100-200 | 8,0 | | 50 | 35-50 | | 10 |
| Циклобарбитал | 100-400 | 7,6 | 0,5 | 70 | 8-17 | 35 | менее 10 |
| Гексобарбитал | 250-500 | 8,2 | 1,0 | 50 | 3-6 | | |

# Свойства.

Барбитураты плохо растворяются в воде, хорошо растворимы в этаноле, хлороформе, эфире, в водных растворах щелочей.

УФ-спектры большинства производных барбитуровой кислоты схожи, они не имеют заметного поглощения в области 200 — 330 нм при кислых инейтральных значениях pH, но имеют два максимума поглощения при щелочных значениях pH, которые характеризуют поглощение ионизированных форм первой (238 — 240 нм) и второй (254 — 256 нм) ступени диссоциации.

Барбитуровая кислота является циклическим уреидом, возможны два типа изомерии:
1) кето - енольная и 2) лактим – лактамная



Основные характеристические частоты ИК-спектров барбитуратов (см-1):

–NH– (деформационные) 1680–1693;

C=O (валентные) 1712–1725;

–CONH–(валентные) 1744–1770;

=C–N– (валентные) 1300–1320;

C=O(деформационные) 1210–1245;

=C–H (деформационные) 830–875.

# Биотрансформация

- Фенобарбитал –

1. N-глюкозилирование по азоту в 1.
2. окисление фенольного фрагмента в пара-положении и его конъюгация с глюкуроновой кислотой.

- Этаминал натрия –

1. гидроксилирование: азота в положении 1;
2. в радикале в положении 3 и его окисление через кетон до карбоновой кислоты

# Биотрансформация

- Барбамил –

1. конъюг. с глюкуроновой кислотой по азоту в 1.
2. Окисление в радикале по 3 положению до карбоновой кислоты.

Циклобарбитал – окисление до кетоциклобарбитала в мета- положении радикала.

# *Выделение*

Общие методы (Васильевой, Стасса-Отто) – кислое хлороформенное извлечение.

Частные методы:

Метод Валова (подщелоченой водой)

Метод Швайковой (подкисленной водой, с очисткой переэкстраккцией)

Метод Попова (водой подкисленной серной кислотой)

# Метод Валова

*100 г измельченного биологического материала, + 180 мл воды и 20 мл 10 %-го раствора гидроксида натрия. Оставляют на 30 мин при частом перемешивании, а затем центрифугируют в течение 30 мин (3000 об/мин). К центрифугату + 120 мл 10 %-го раствора вольфрамата натрия и 1 н. раствор серной кислоты (до pH=2). нагревают на кипящей водяной бане 20 мин, а затем подвергают*

*центрифугированию (30 мин). Центрифугат + равный объем диэтилового эфира и взбалтывают в течение 15 мин. Эфирный слой отделяют и взбалтывают с 50 мл 10 %-го раствора гидроксида натрия. Щелочной водный слой отделяют, подкисляют 25 %-м раствором серной кислоты до pH=2 и взбалтывают с равным объемом диэтилового эфира. Полученную при этом эфирную вытяжку используют для обнаружения и количественного определения барбитуратов.*

# Обнаружение барбитуратов

- Цветные и микрокристаллические реакции
- ТСХ в частных системах
- ИК и УФ спектроскопия
- Иммунно-ферментный анализ
- ВЭЖХ и ГЖХ
- Масс-спектрометрия

# Цветные реакции

- Реакция барбитуратов с изопропиламином и солями кобальта.(Парри) (фиолетовое окрашивание)
- Реакция с солями кобальта и щелочами в безводной среде. (Цвиккер)

  (розовая или красная окраска)
- Реакция с пиридином и солями меди. (аморфный осадок)
- Мурексидная проба (розовая окраска)
- Реакция с родамином 6Ж (комплексы светло-оранжевые или оранжевокрасные в четыреххлористом углероде)

# Микрокристаллические реакции

**Выделение кислотной формы барбитуратов.**

***На предметное стекло наносят несколько*** *капель раствора барбитурата в хлороформе, который выпаривают при комнатной температуре. Сухой остаток растворяют в одной капле онцентрированной серной кислоты. Через 3—5 мин после охлаждения раствора рядом с ним наносят каплю воды. Затем эти капли соединяют при помощи капилляра. Через 10— 20 мин (а при малых количествах барбитуратов через 1—2 ч) появляются кристаллические осадки. Для каждого барбитурата* ***кристаллы имеют определенную форму.***

**Реакция с хлорцинкиодом** **в** *исследуемом растворе появляются* ***кристаллические осадки.***

**Реакция со смесью растворов хлорида железа и иодида калия**. *под микроскопом*

*наблюдают* ***форму образовавшихся кристаллов, которые появляются при наличии ряда*** *барбитуратов (барбамил, бутобарбитал, фенобарбитал, этаминал).*

**Реакция с дииодокупратом калия в растворе иода.** *образуются кристаллические*

*осадки.*

***Реакция с подкисленным спиртовым раствором иодида калия***. *появляются кристаллические осадки.*

# УФ спектроскопия

К сухому остатку, полученному при выпаривании вытяжек из биологического материала или лекарственных форм, прибавляют 5 мл воды.

После растворения сухого остатка полученный раствор фильтруют, затем к фильтрату

1. прибавляют каплю 2 н. раствора аммиака (pH~10) и снимают спектр поглощения.

5,5-замещенные (барбамил, барбитал, бутобарбитал, фенобарбитал, циклобарбитал, этаминал) и 1,5,5-замещенные (гексенал, гексобарбитал) барбитуровой кислоты имеют максимум поглощения при длине волны около 240 нм,

производные тиобарбитуровой кислоты имеют 2 максимума (при 305 и при 255 нм).

2. прибавляют 1—2 капли 2 н. раствора серной кислоты (pH~2), и максимум поглощения 1,5,5- и 5,5-замещенных барбитуровой кислоты исчезает.

В этих условиях для тиобарбитуратов максимумы поглощения смещаются до 290 и 239 нм.

3. После прибавления к указанным растворам 1—2 капель 4 н. раствора гидроксида натрия (pH« 13) появляется максимум поглощения 1,5, 5- замещенных барбитуровой кислоты при 240 нм, а для 5,5-производных этой кислоты—при 255 нм.

Для тиобарбитуратов появляется максимум при 305 нм, а второй максимум исчезает.

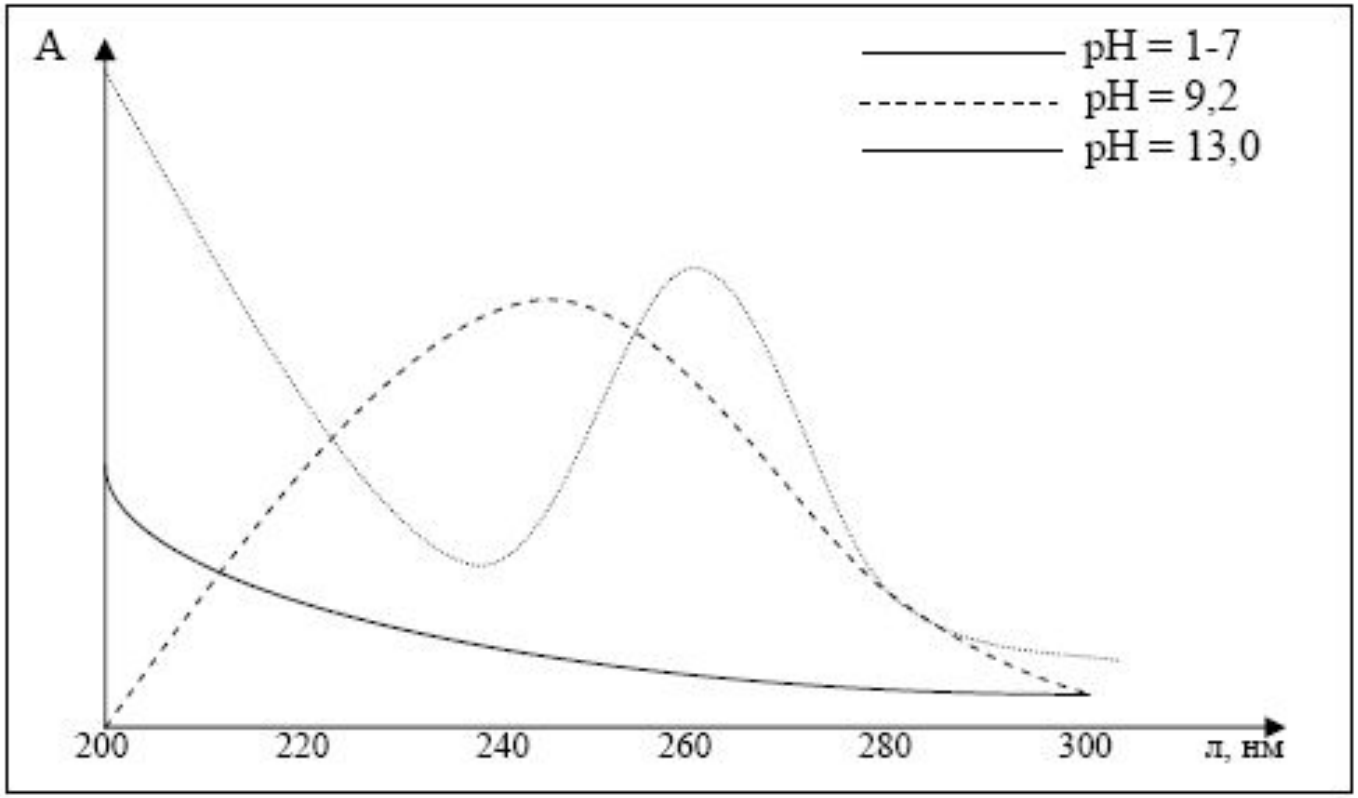



**Схема УФ-спектра барбитуратов.**

| Анализируемое вещество | pH=9,2 | | pH=13,0 | |
|---|---|---|---|---|
| | $E_a$ | л, нм | $E_a$ | л, нм |
| Фенобарбитал | 452 | 239 | 342 | 254 |

# ФЭК – метод Поповой

*Сухие остатки барбитуратов, растворяют в хлороформе или в метиловом спирте.*

*Сухие остатки барбитала, гексенала, фенобарбитала и циклобарбитала растворяют в 6 мл хлороформа, а сухие остатки барбамила и этаминала —в 2 мл метилового спирта. Объемы растворов барбамила и этаминала в метиловом спирте доводят хлороформом до 6 мл.*

*К полученным растворам барбитуратов прибавляют по 5 мл 0,125 °/о-го раствора ацетата кобальта в метиловом спирте и по 1 мл 50 %-го раствора изопропиламина в метиловом спирте.*
*Оптическую плотность окрашенных в* ***фиолетовый цвет растворов измеряют при помощи фотоэлектроколориметра*** *(светофильтр зеленый, кювета 20 мм)*

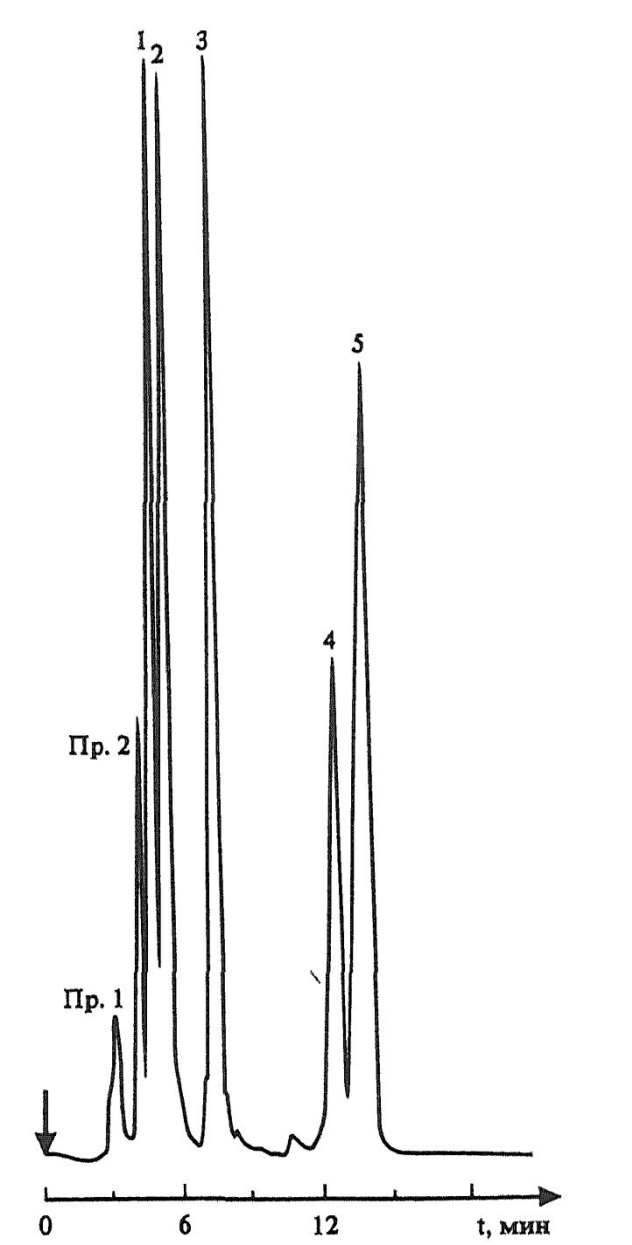
В качестве раствора сравнения применяют смесь перечисленных выше реактивов.

# ТСХ

- Сорбент – силикагель КСК, забуференный 0,1н раствором борной кислоты.
- Растворители – хлороформ:н-бутанол:25% раствор аммиака (70:40:5)
- Время насыщения камеры парами растворителя – 10 мин
- Высота поднятия фронта растворителя – 10 см
- Обнаружение – дифенилкарбазоном (ДФК) – 0,1% раствор в хлороформе и раствором сульфата ртути – 5% раствор в концентрированной серной кислоте.
- Rf фенобарбитала = 0,4

# ВЭЖХ

- Детекция  - 240нм
- Сорбент – ODS
- Элюэнт – смесь метанол – р-р фосфата аммония
- Количественное определение – метод добавок



# ГЖХ

- Дериватизация - получение ацетилпроизводных по реакции с уксусным ангидридом в безводном растворителе (пиридине):

$$R - OH + \begin{matrix} CH_3 - CO \\ CH_3 - CO \end{matrix} \diagdown O \rightarrow R - O - COCH_3.$$

- Внутрений стандарт.

# Подходы к анализу производных 1,4 бенздиазепина

Приказ по МЗ СССР г.Москва

№ 1021 от 25 декабря 1973г

«О введении нового перечня токсикологических веществ, подлежащих судебно – химическому исследованию в лабораториях бюро судебно – медицинской экспертизы»

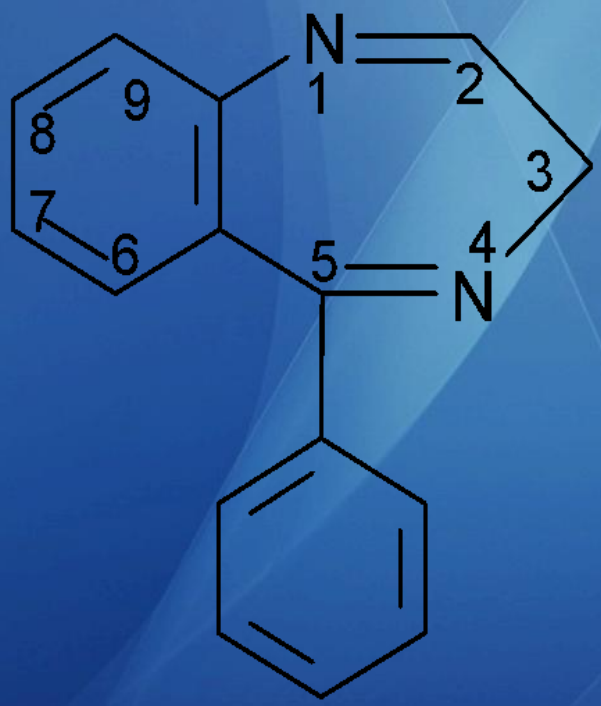
2. Вещества, на которые расширяют общий анализ в зависимости от клинической и секционной картины, результатов гистологического, гистохимического исследования, особенностей течения химических реакций и т. д.

- элениум, нитразепам, седуксен;

# 1,4 Бенздиазепины

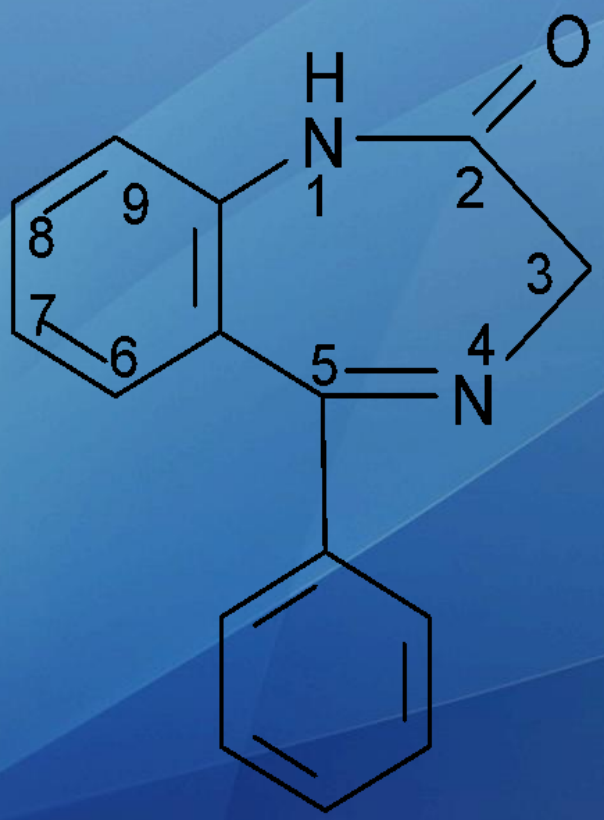
- Доступность
- Высокий терапевтический индекс
- Широкий спектр действия
- Меньшее количество побочных эфектов
- Высока частота случаев отравления феназепамом.

# 1,4 бенздиазепины

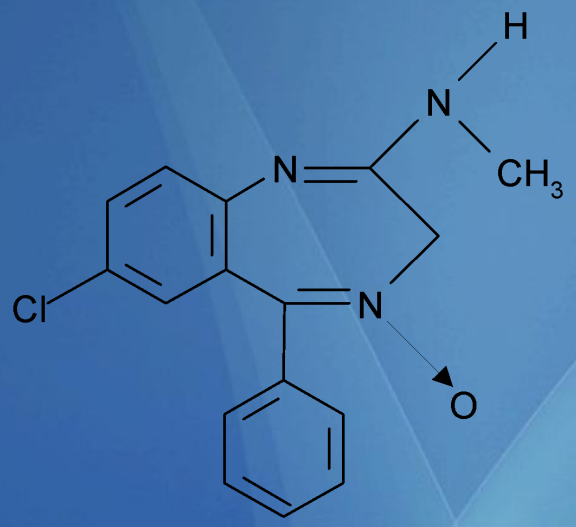



5-фенил-3Н-1,4-бензодиазепин

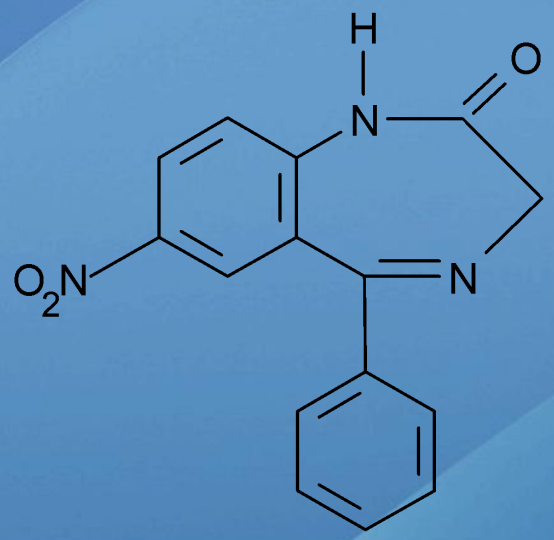
- Лекарственные вещества этой группы содержат фенильный радикал при $C_5$ и являются производными 5-фенил-3Н-1,4-бензодиазепина (хлозепид) и 1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепин-2-она (сибазон, нитразепам, нозепам, феназепам и др.):
-



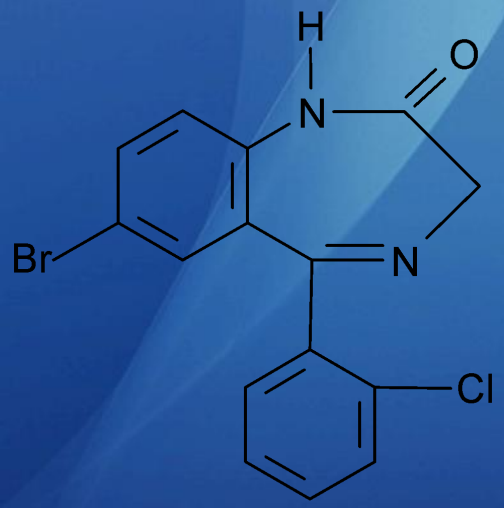

1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепин-2-он



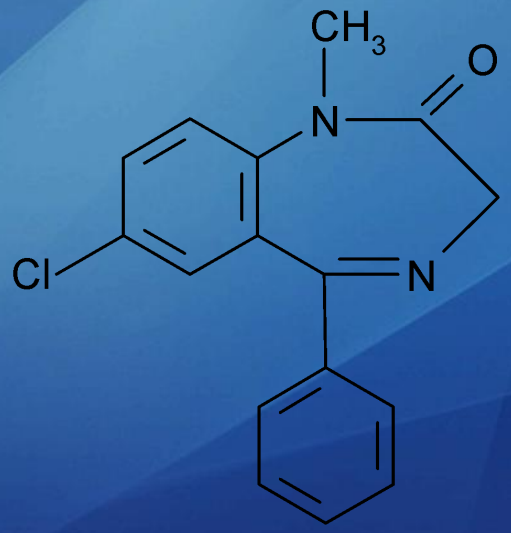

хлозепид




нитрозепам




феназепам




сибазон

# Свойства

Растворимость. Большинство 1,4-бенздиазепинов представляют собой бесцветные, хорошо кристаллизующиеся вещества. Практически нерастворимы в воде, растворимы в воде соли 1,4-бенздиазепинов, содержащих амино- (как у хлордиазепоксида) или карбоксильную группу в качестве заместителей. В органических растворителях растворимость зависит от структуры. Наиболее высокая растворимость наблюдается в апротонных растворителях (диметилформамиде, диметилсульфоксиде).

# Свойства

Кислотно-основные свойства 1,4-бенздиазепины являются слабыми основаниями. Основность увеличивается при наличии основных заместителей. Так, хлордиазепоксид дает устойчивые соли с сильными кислотами, выступая в качестве днокислотного основания.

При введении в ядро 1,4-бенздиазепинов нитро-, окси- и других групп основность соединений снижается.

1,2-дигидропроизводные 1,4-бенздиазепина (оксазепам, нитразепам) проявляют также слабокислые свойства за счет наличия в молекуле амидной группы.

Константы ионизации pKa1 и pKa2, характеризующие соответственно основность атома азота в четвертом положении и кислотность амидной группы (положение 1,2).

| соединения | $pK_{a1}$ | $pK_{a2}$ |
|---|---|---|
| диазепам (сибазон) | 4,76 | - |
| оксазепам (нозепам) | 3,6 | - |
| нитразепам (эуноктин) | 1,6 | 11,1 |
| хлордиазепоксид (хлозепид) | 2,93 | 10,94 |

# УФ - спектры

В электронных спектрах производных 1,4-бенздиазепина имеется 3 полосы поглощения с λmax в областях:

1. 200-215 нм
2. 220-240 нм
3. 290-330 нм

Две первые полосы соответствуют возбуждению ароматических хромофоров. Третью длинноволновую полосу относят к азометиновой связи, сопряженной с бензогруппой.

По характеру поглощения в УФ-области 1,4-бенздиазепины относятся к соединениям, абсорбция которых **изменяется от величины значений pH**:

- в кислой среде – за счет протонирования атома азота;
- в щелочной среде в молекуле 1,2-дигидропроизводных 1,4-бенздиазепина наблюдается изменение хромофорной системы (увеличение сопряжения за счет лактим-лактамной таутомерии азометиновой связи в положения 1,2 - нитразепам, оксазепам).

Это свойство положено в основу идентификации соединений данной группы по электронным спектрам поглощения.

# Тосикокинетика

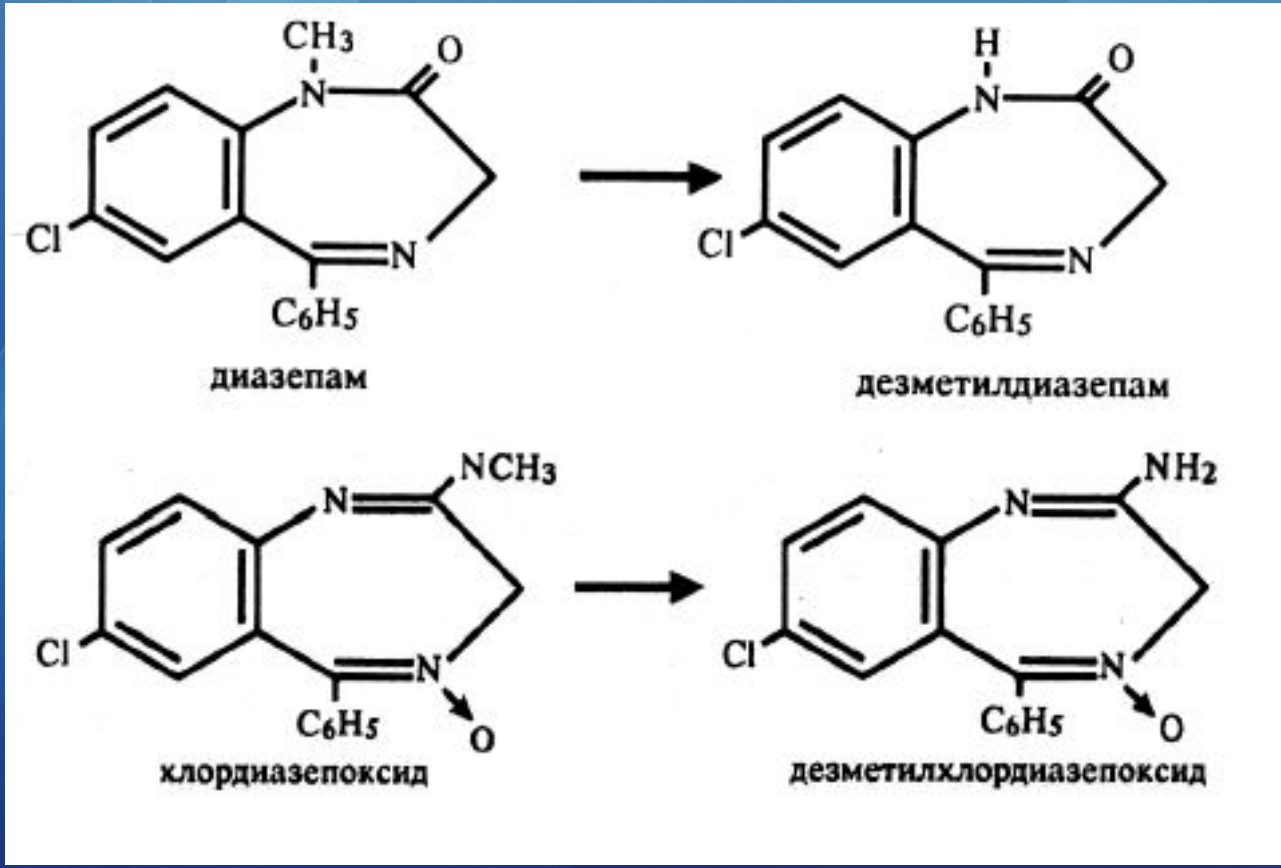
Механизм всасывания - простая диффузия. Попадая в кровь, на 80-95% связываются с белками плазмы, поэтому скорость абсорбции достаточно высокая (градиент концентрации направлен в кровь).

Максимальная концентрация в крови при введении через рот достигается через 2-5 часов после введения терапевтических доз и через 4-8 часов – токсических доз препаратов. Далее концентрация их в крови сохраняется в течение 2-х часов на одном уровне, после чего начинает медленно снижаться.

Наибольшее содержание 1,4-бенздиазепинов в ЖКТ, тканях печени, почек.

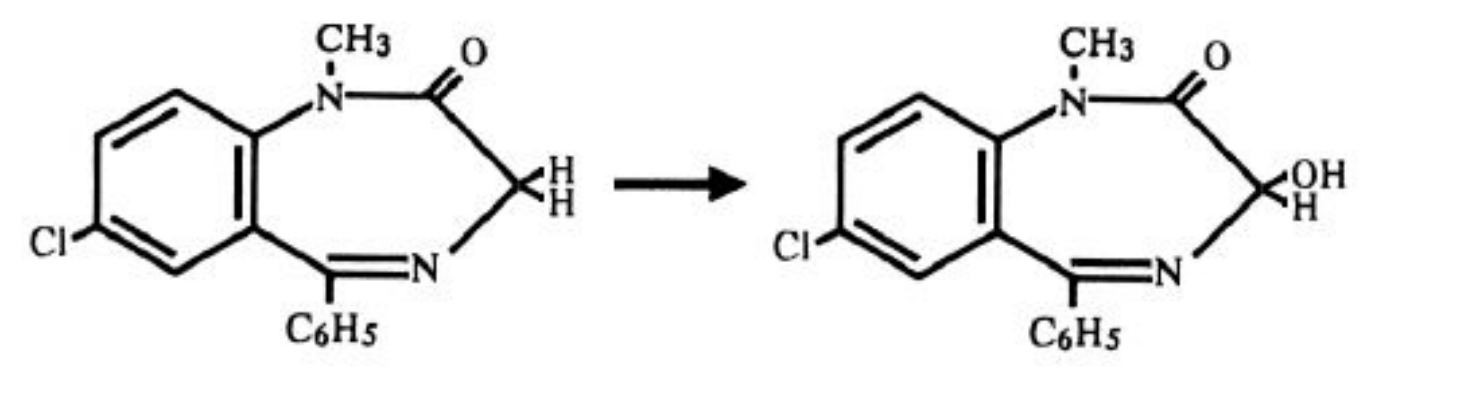
# метаболизм

1. N - деметилирование



# метаболизм

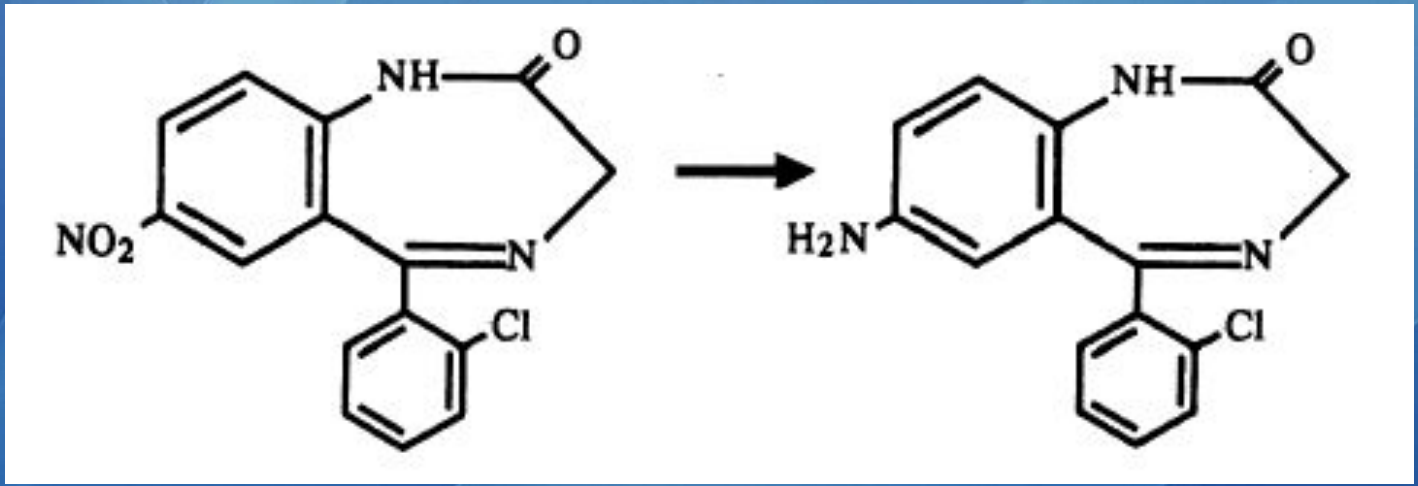
2. гидроксилирование




сибазон

# метаболизм

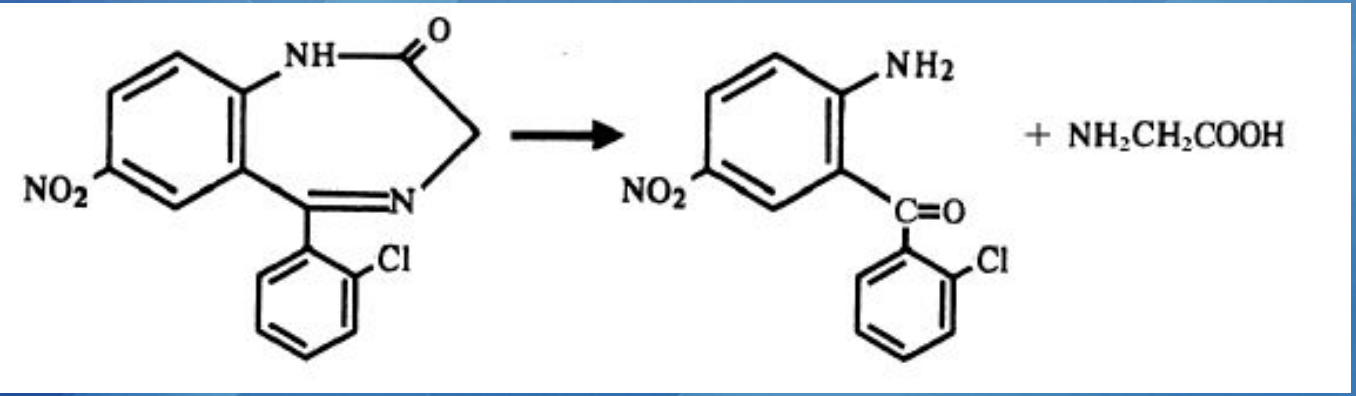
3. Востановление нитрогруппы




нитразепам

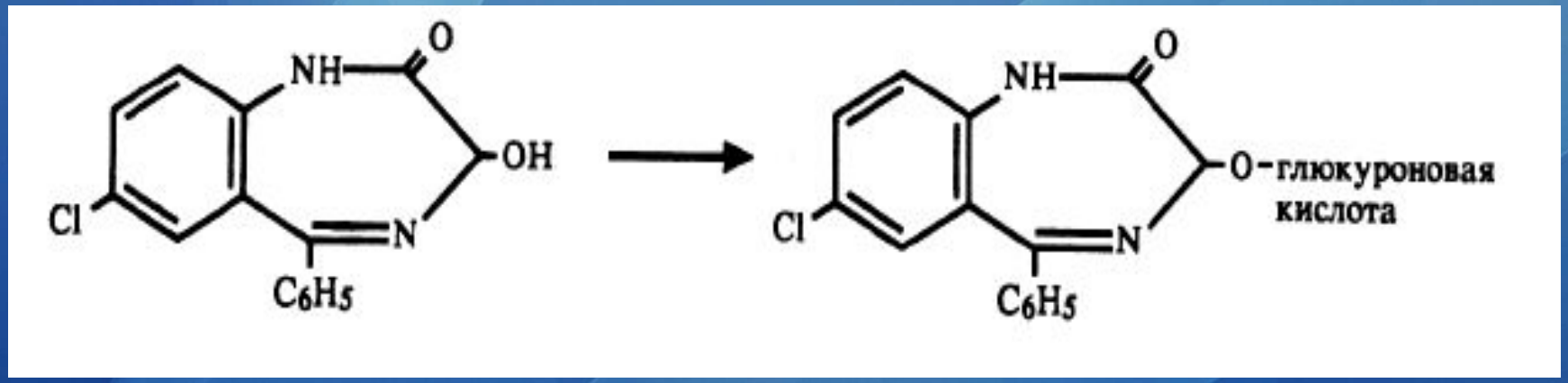
# метаболизм

4. Гидролиз



# метаболизм

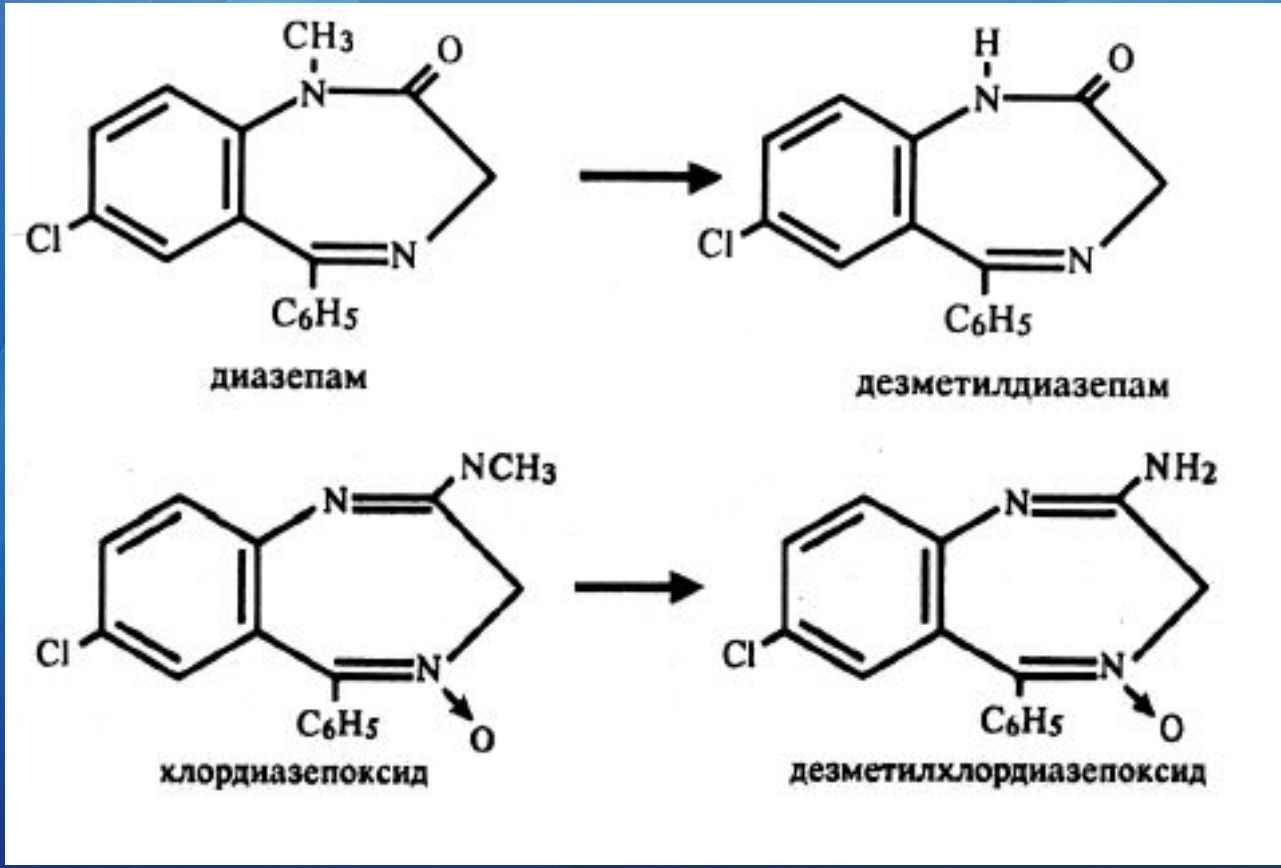
5. конъюгирование




оксазепам

# метаболизм

1. N - деметилирование



- Метаболиты, образованные в результате процессов окисления и восстановления, фармакологически активны. Наибольшей активностью обладают метаболиты, полученные в процессе деалкилирования.
- Разрыв азепинового кольца при гидролизе 1,4- бенздиазепинов и образование глюкуронидов приводит к потере фармакологической активности.
- Наряду с основными соединениями продукты метаболизма обнаруживаются во всех тканях организма.

Выводятся, в основном, почками в виде основных соединений и метаболитов.

Время полувыведения (Т ½) при введении соединений через рот

хлордиазепоксид - 8-28 часов

диазепам - 20-42 часа

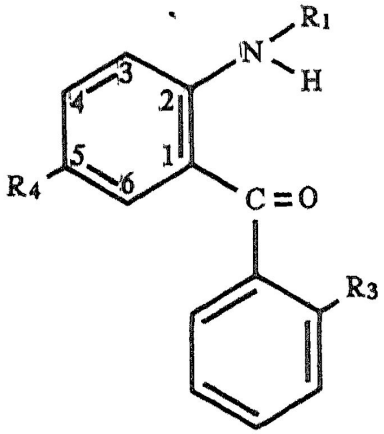
оксазепам - 10-14 часов

нитразепам - 7-10 часов

Интервал Т 1/2 зависит от принятой дозы

LD > 500 мг

# Гидролиз




| Бензодиазепины | Продукт гидролиза — бензофенон | |
|---|---|---|
| | Наименование | Сокращение |
| Оксазепам | 2-амино-5-хлорбензофенон | АХБ |
| Хлордиазепоксид | " | " |
| Диазепам | 2-метиламино-5-хлорбензофенон | МБХ |
| Нитразепам | 2-амино-5-нитробензофенон | АНБ |
| Феназепам | (2-амино,5-бром),2′-хлорбензофенон | АБХБ |

*Спасибо за внимание!!!)))*