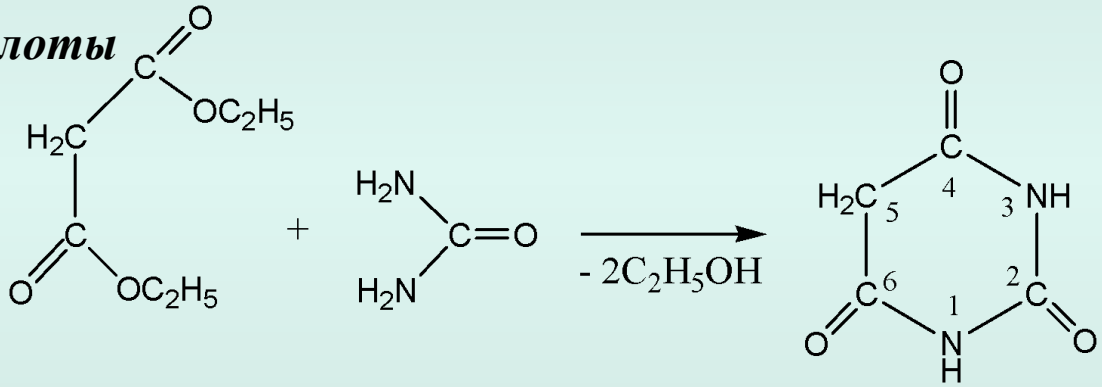
ЛЕКЦИЯ № 7

Группа веществ, изолируемых из биологического материала экстракцией и сорбцией (Продолжение).

Производные барбитуровой кислоты. Небарбитуровые снотворные. Производные фенотиазина. Производные 1,4-бензодиазепина. Алкалоиды.

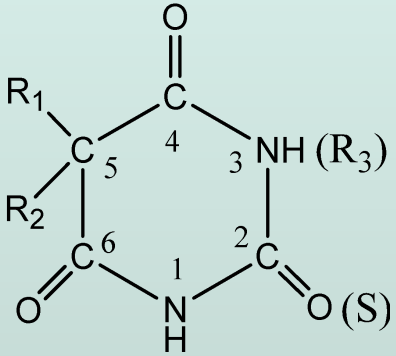
БАРБИТУРАТЫ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ОТНОШЕНИИ

Получение барбитуовой кислоты



малонилмочевина
(2,4,6-триоксипиримидин)

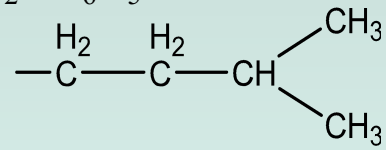
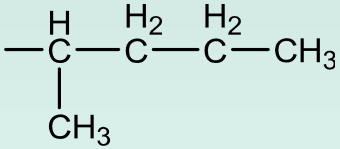
Общая формула барбитуратов



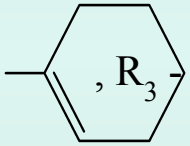
где R_1,R_2,R_3 - радикалы, содержащие от 1 до 7 атомов углерода.

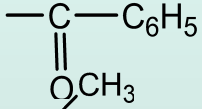
Классификация барбитуратов

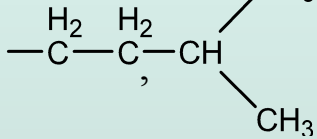
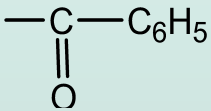
1) 5,5 -замещенные производные (двузамещенные)

1. Барбитал R_1 и R_2-C_2H_5
2. Фенобарбитал R_1 - C_2H_5, R_2 - C_6H_5
3. Барбамил R_1 -C_2H_5, R_2= 
4. Этаминал-натрий R_1-C_2H_5, R_2= 
5. Бутобарбитал R - C_2H_5, R_2- C_4H_9

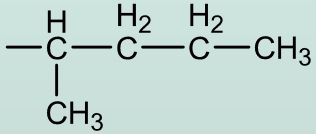
2) N-замещенные барбитураты (трехзамещенные)

1. Гексенал R_1 - CHз, R_2=  , R_3 - CH_3

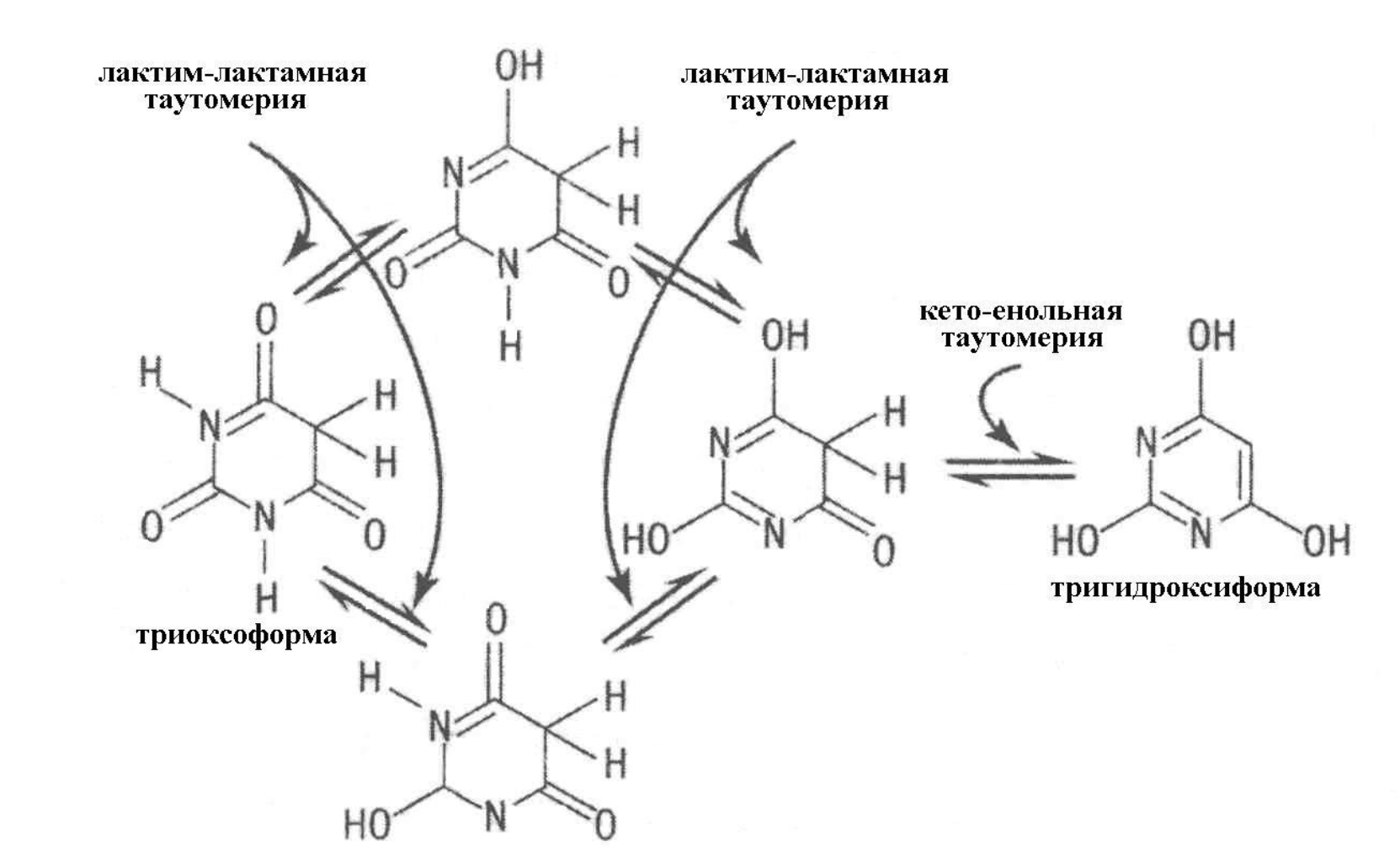
2. Бензонал R_1 - C_2H_5, R_2 - C_6H_5, R_3= 

3. Бензобамил R_1-C_2H_5, R_2=  R_3= 

3) Тиобарбитураты

Тиопентал- натрий R_1- C_2H_5, R_2= 

Лактим-лактамная и кето-енольная таутомерия барбитуратов



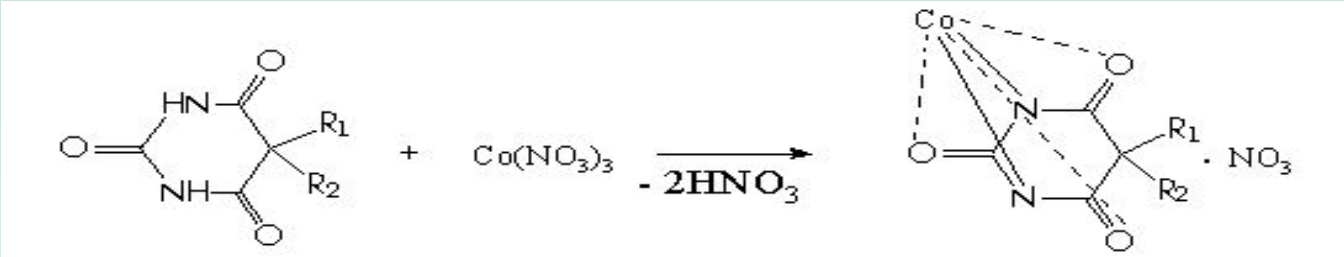
Химико-токсикологическое исследование

1. Изолирование из объекта
2. Очистка полученного извлечения
3. Идентификация
4. Количественное определение

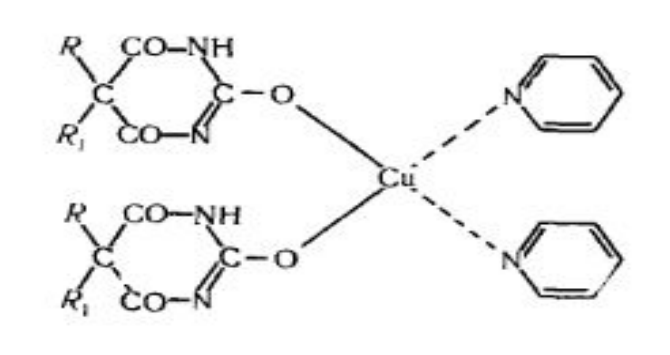
Идентификация барбитуратов

Химические методы:

1. С солями кобальта в щелочной среде (образуется комплекс состава $Co(NH_3)_6OHBarb_2$ красно-фиолетового цвета)



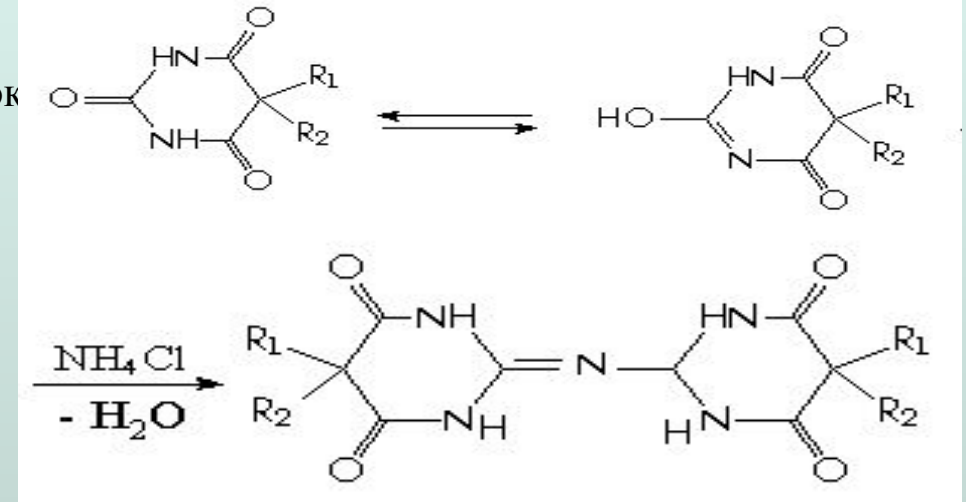
2. С солями меди в присутствии пиридина (образуется комплекс состава $CuPyr_2Barb_2$ красно-фиолетового цвета (тиобарбитураты – зеленого цвета)



3. С солями ртути в присутствии дифенилкарбазона (ДФК) (образуют комплексные соединения, окрашенные в сине-фиолетовый цвет)

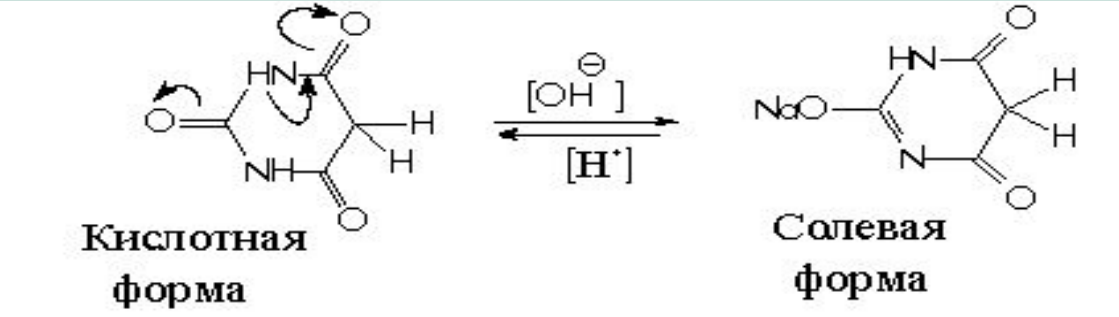
4. Мурексидная проба

красное ок



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 - н-бутанол - 25% раствор аммиака (70:40:5) – в качестве частной системы для разделения 5,5 -замещенных барбитуратов.
   Детектирование: дифенилкарбазоном (ДФК) и $HgS0_4$. В местах расположения барбитуратов возникают красно- или сине-фиолетовые пятна. Идентификация проводится по величине Rf (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 (pH=2) не абсорбирует в УФ области

2.Имидольная форма (pH=10) обладает характерным поглощением λ_{max}=240 нм

3.Диимидольная форма обладает характерным поглощением λ_{max}=255-260нм.

Трехзамещенные производные:

Имеют лишь одну ионизированную форму (имидольную), поэтому их поглощение не меняется с переходом от pH 10 к pH 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 pH=10 также два максимума (255 и 310 нм) и при pH 13 - один (310нм).

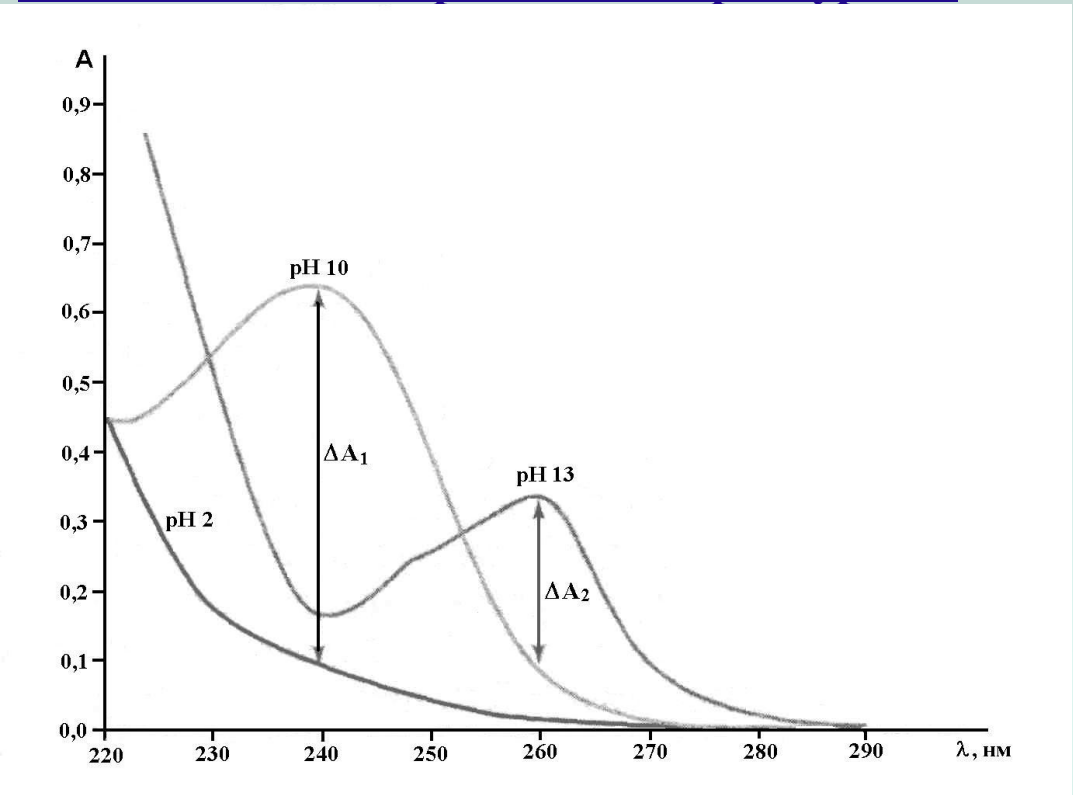
Таким образом, УФ-спектроскопия дает возможность дифференцировать барбитураты в зависимости от типа замещения в пиримидиновом кольце на:

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

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

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

Количественное определение барбитуратов



<u>I вариант</u> – по разности абсорбций в щелочном - pH 10 и кислом - pH 2 растворах при λ=240 нм.

<u>II вариант</u> – по разности адсорбций в щелочных – pH 13 и pH 10 растворах при λ=260 нм.

Рис. Спектр поглощения 5,5-дизамещенных барбитуратов при различных значениях pH

<u>I вариант</u> $D_{pH\ 10} = D^{10}_{б\text{-}та} + D^{10}_{примесей}$, λ=240 нм $D_{pH\ 2} = D^{2}_{б\text{-}та} + D^{2}_{примесей}$,

$\Delta D = D_{pH\ 10} - D_{pH2} = (D^{10}_{б\text{-}та} + D^{10}_{примесей}) - D^{2}_{примесей}$,

$D^{10}_{примесей} = D^{2}_{n}$ $\mathbf{\Delta D = D^{10}_{б\text{-}та}}$

<u>II вариант</u> $D_{pH13} = D^{13}_{б\text{-}та} + D_{n}^{13}$, λ=260 нм $D_{pH\ 10} = D^{10}_{б\text{-}та} + D_{n}^{10}$

$\Delta D = D_{pH13} - D_{pH\ 10} = (D^{13}_{б\text{-}та} + D_{n}^{13}) - (D^{10}_{б\text{-}та} + D_{n}^{10})$

$D_{n}^{13} = D^{10}n$ $\mathbf{\Delta D = D^{13}_{б\text{-}та} - D^{13}_{б\text{-}та}}$

Токсикокинетика барбитуратов

Всасывание.

Все барбитураты - слабые кислоты (pKa =7,2-8,0), при физиологическом значении pH легко всасываются в желудке и тонком кишечнике способом пассивной диффузии.

Распределение.

Барбитураты распределяются по тканям и биологическим жидкостям организма

Факторы, влияющие на концентрацию барбитуратов в организме:

1.Степень ионизации молекул (при физиологическом значении pH)

2. Жирорастворимость (липофильность) - N-замещенные более липофильны.

3. Степень связывания с белками

4. Интенсивность кровотока и др.

Метаболизм.

1).Окисление радикалов в 5-ом положении до спиртов, кислот и кетонов

2).Потеря радикала у атома N в случае 3-х замещенных производных и превращение их в дизамещенные производные:

а) деметилирование гексенала

б) дебензоилирование бензонала и бензобамила и превращение их в фенобарбитал и кислотную форму барбамила.соответственно.

3).Десульфирование тиобарбитуратов

4).Гидролиз (распад пиримидинового кольца)

Выделение.

Наиболее устойчивый – барбитал (на 65-85% выводится в неизменённом (нативном) состоянии с мочой).

Барбамил, этаминал-Na, бутобарбитал почти полностью разрушаются в печени и выводится почками лишь в виде следов (10%).

Гексенал и тиопентал полностью разрушаются в печени (при введении терапевтических доз) и выводятся в виде метаболитов.

Токсикодинамика (развитие отравлений)

4 клинических синдрома:

1. Коматозное состояние и другие неврологические расстройства (оглушённость, сон, отсутствие рефлексов)
2. Нарушение дыхания.
3. Нарушение функции сердечно-сосудистой системы.
4. Трофические расстройства и нарушение функций почек.

Токсичность

Смертельная доза барбитуратов - одномоментный прием 10 лечебных разовых доз каждого из препаратов или их смеси с различными индивидуальными различиями (фенобарбитал -2,0, этаминал-Na -1,0). Иногда доза достигает 4 и даже 6-10 г (барбитал).

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

Химико-токсикологическое исследование на алкалоиды:

1.Изолирование алкалоидов из биологического объекта.

2.Очистка полученного извлечения от сопутствующих (балластных) веществ.

3.Идентификация алкалоидов.

4.Количественное определение.

Идентификация выделенных алкалоидов

План судебно-химического исследования:

а) Общеалкалоидные осадительные реакции в качестве предварительных групповых проб.

б) ТСХ-скрининг.

в) Частные реакции на отдельные алкалоиды - реакции окрашивания и микрокристаллические реакции.

г) Снимают спектральные характеристики алкалоидов в УФ и ИК- областях спектра.

д) Для некоторых алкалоидов проводят фармакологические пробы.

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 I2MoO_3 - фосфорномолибденовая кислота (реактив **Зонненшейна**)

   3)H_3PO_4 12WO_3 2H_2O- фосфорновольфрамовая кислота (реактив **Шейблера**)

   б) реактивы, содержащие в своем составе металлы:

   1)BiI_3/KI - реактив **Драгендорфа** (К[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

ТСХ-скрининг алкалоидов

Хроматографирование ведут на закрепленном слое силикагеля в системах растворителей:

-диоксан - хлороформ - ацетон - 25% раствор аммиака (47,5: 45: 5: 2,5)

-толуол - ацетон - этанол - 25% раствор аммиака (45: 45: 7,5: 2,5) (в экспресс-анализе интоксикаций, вариант ВЭТСХ).

Детектирование: реактивом Драгендорфа. В зонах расположения веществ появляются красно оранжевые пятна . Идентификация проводится по величине Rf (отношение длины пробега вещества к длине пробега растворителя по сравнению с метчиками).

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.

Микрокристаллические реакции:
а) с пикриновой кислотой,
б) с пикролоновой кислотой,
в) с платинохлористоводородной кислотой - H_2PtCl_6
г) с золотохлористоводородной кислотой - $HAuCl_4$,
д) с солями тяжелых металлов,
е) с комплексными йодидами.

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.).

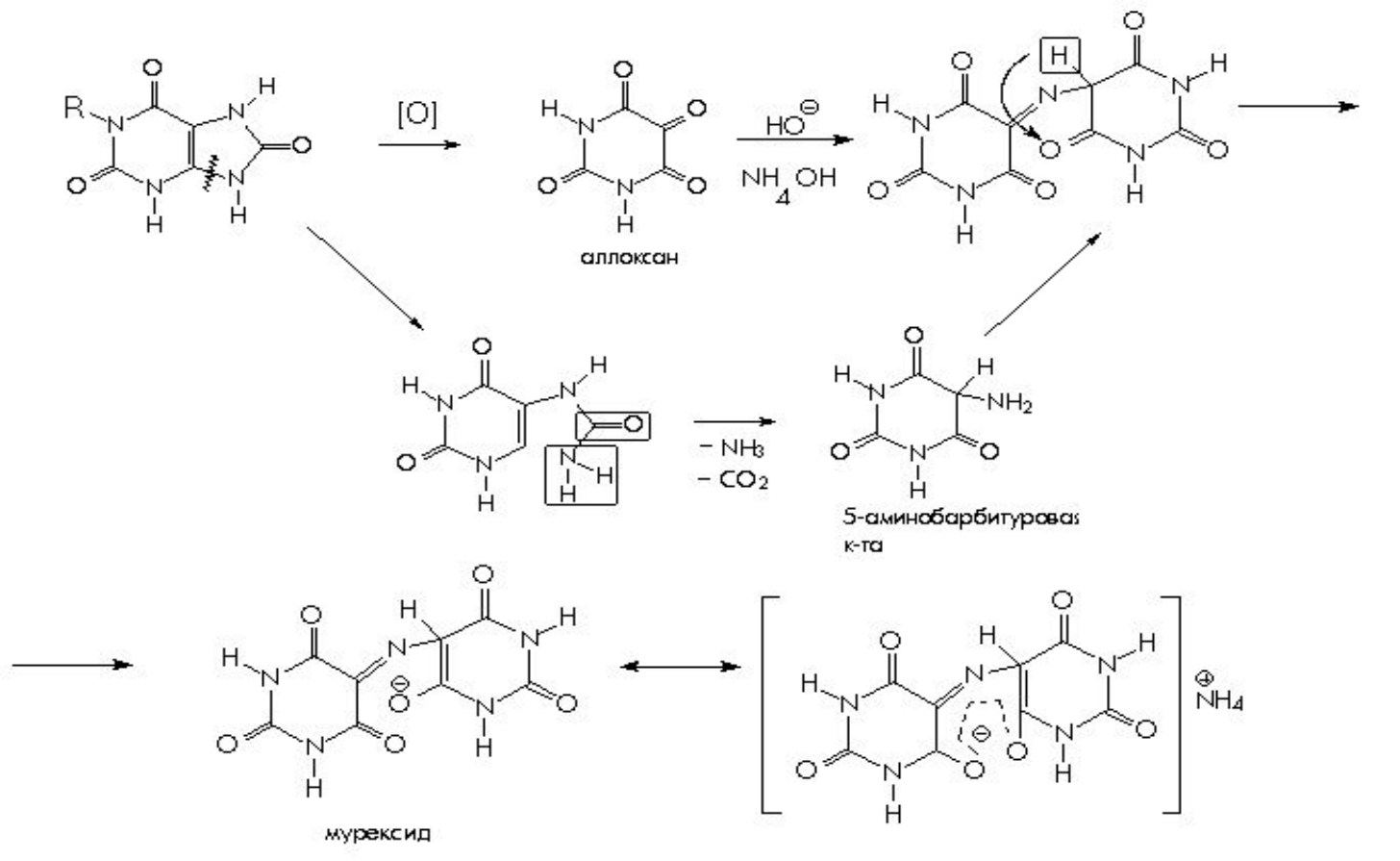
Окрашенные ионные ассоциаты могут быть экстрагированы из водной фазы органическим растворителем (экстракционно-фотометрическое определение).

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

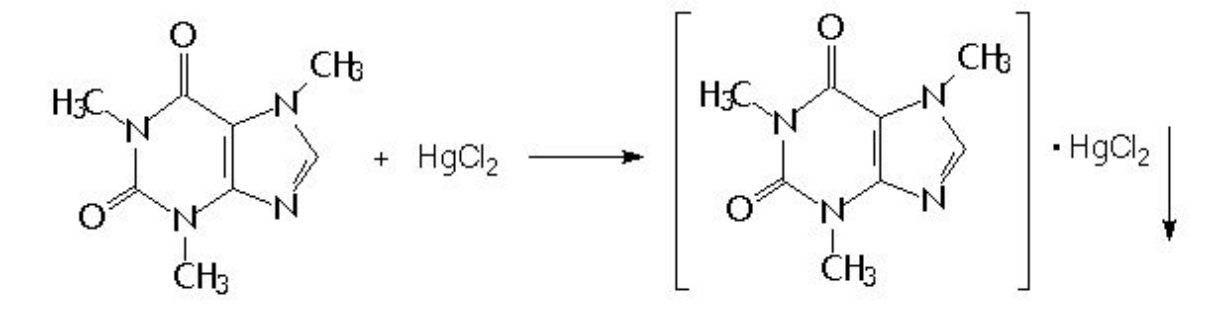
КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ НЕКОТОРЫХ АЛКАЛОИДОВ

КОФЕИН, ТЕОБРОМИН

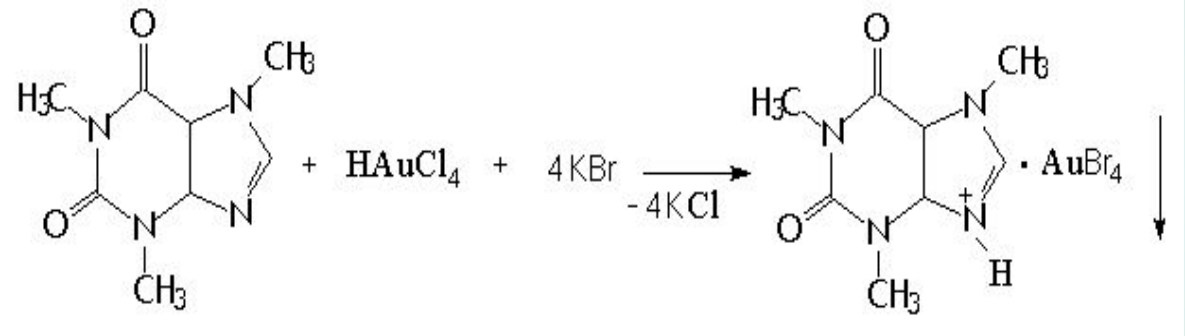
1. Общая реакция: образование мурексида: (пурпурно-фиолетовое окрашивание)



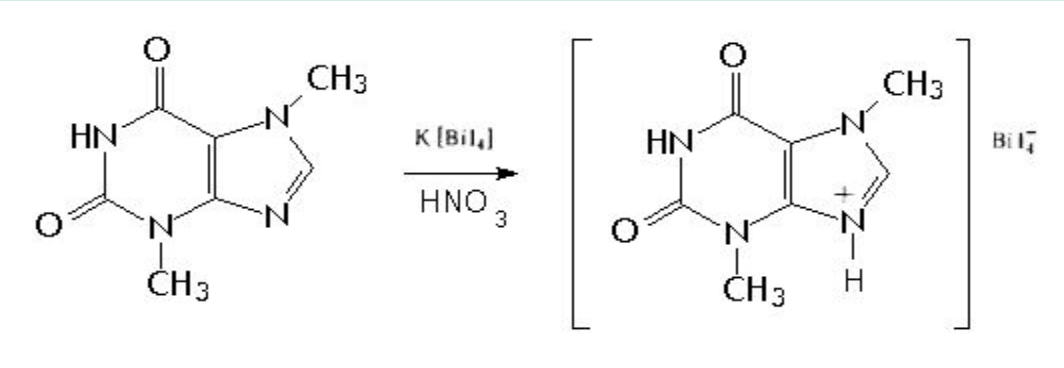
*2. Реакция кофеина с хлоридом окисной ртути: (*длинные шелковистые, бесцветные иглообразные кристаллы)



3. Реакция кофеина с раствором золотобромистоводородной кислоты (оранжево-красный цвет осадка)

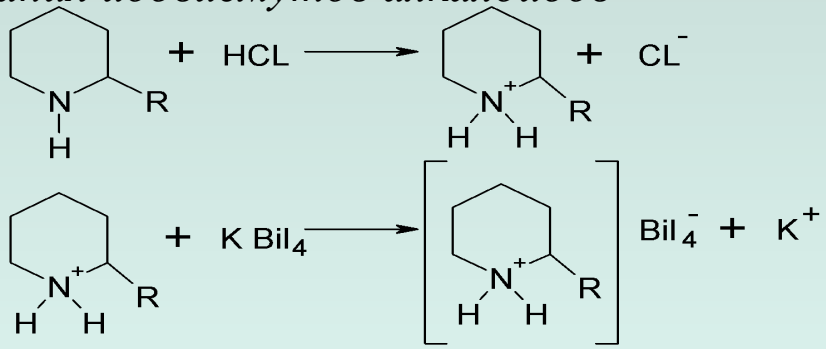


4. Реакция теобромина с раствором йодвисмутата калия (игольчатые кристаллы темно-красного цвета, собранные в пучки)



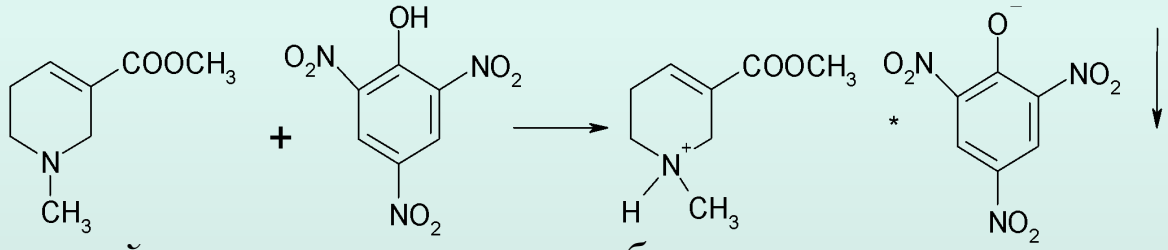
ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИДИНА И ПИПЕРИДИНА
КОНИИН, АРЕКОЛИН, НИКОТИН И АНАБАЗИН

1. Реакция образования йодвисмутов алкалоидов

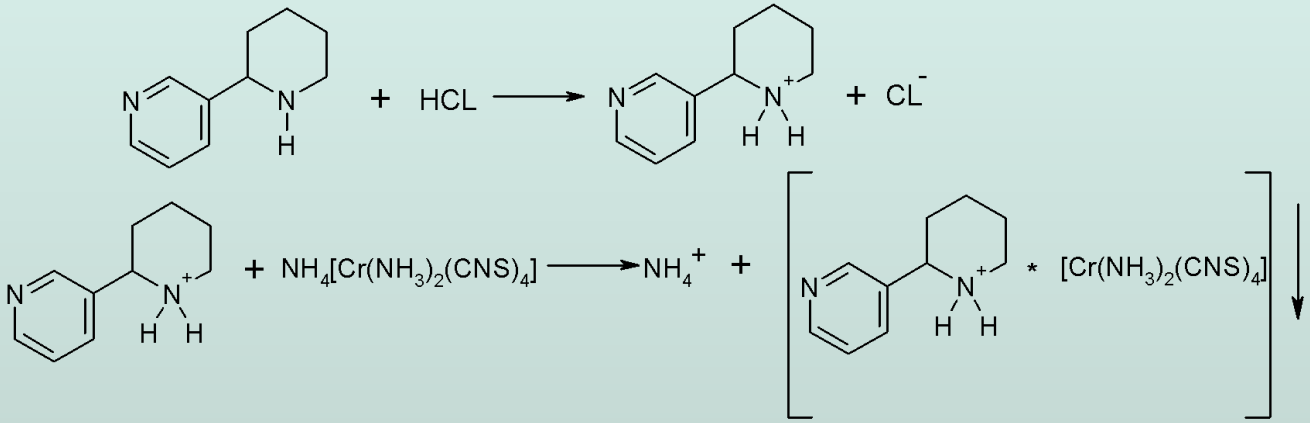


2. Реакция получения сублимата хлоргидрата конина

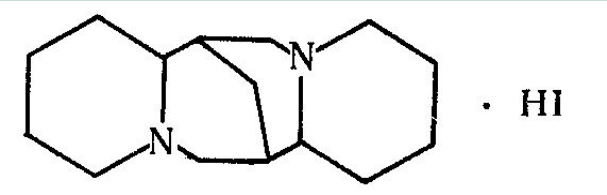
3. Реакция образования пикрата ареколина и никотина



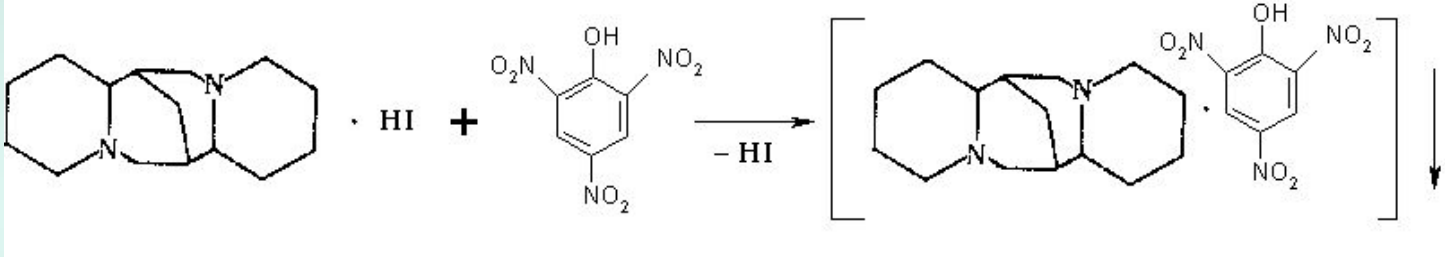
4. Реакция образования рейнеката никотина и анабазина



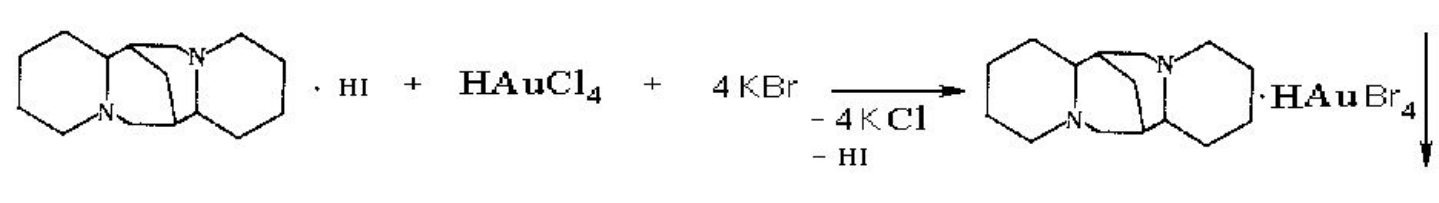
ПАХИКАРПИН



1. *Реакция с раствором йода в йодиде калия*
2. *Реакция с роданидным комплексом кобальта*
3. *Реакция с пикриновой кислотой*



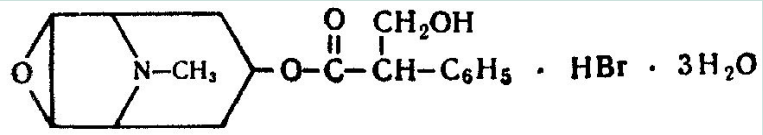
4. *Реакция с золотобромистоводородной кислотой*



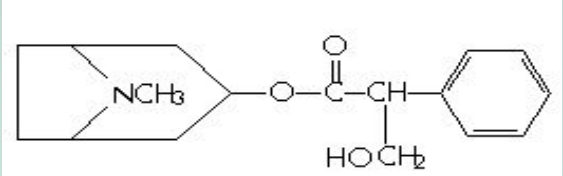
5. *Реакция окисления бромом (реакция Коча)*
6. *Реакция на йодистоводородную кислоту*

ПРОИЗВОДНЫЕ ТРОПАНА

СКОПОЛАМИН

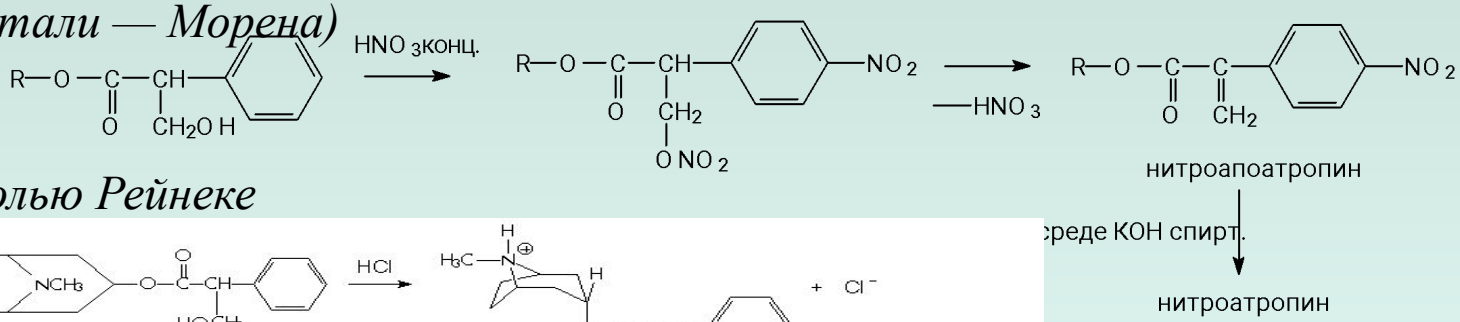


1. *Реакция Витали — Морена*
2. *Реакция с солью Рейнеке*
3. *Реакция образования бромоаурата*

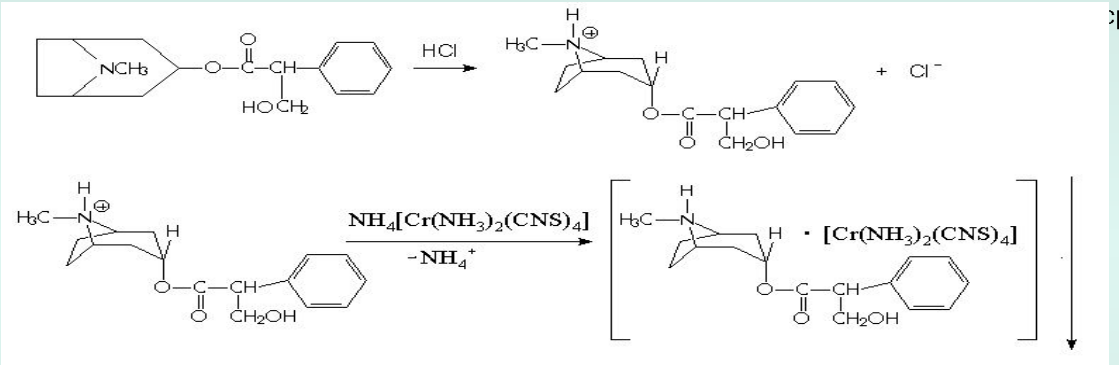


АТРОПИН

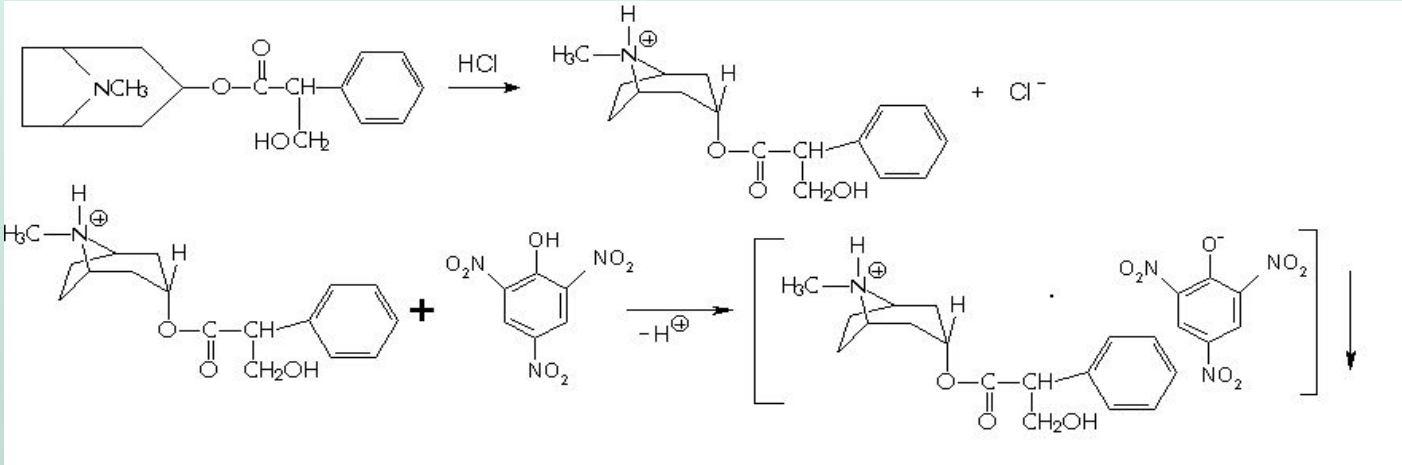
1. *Реакция переведения атропина в полинитропроизводное и доказательство последнего (реакция Витали — Морена)*



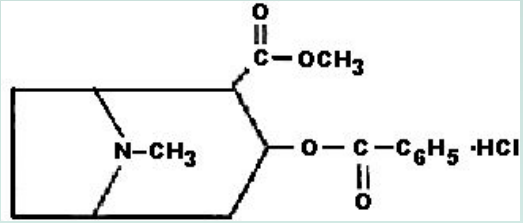
2. *Реакция с солью Рейнеке*



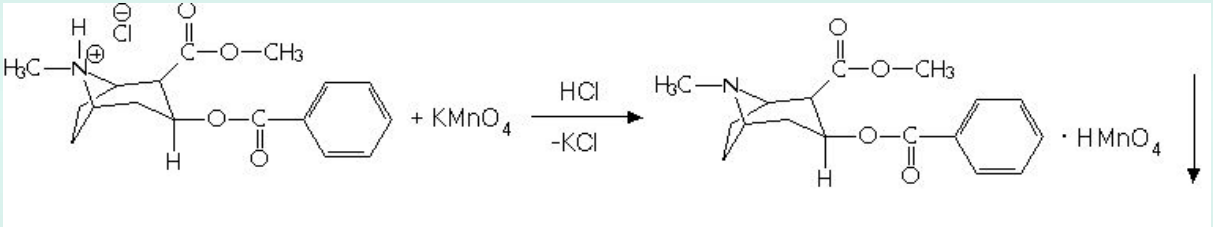
3. *Реакция с бромной водой*
4. *Реакция с пикриновой кислотой*



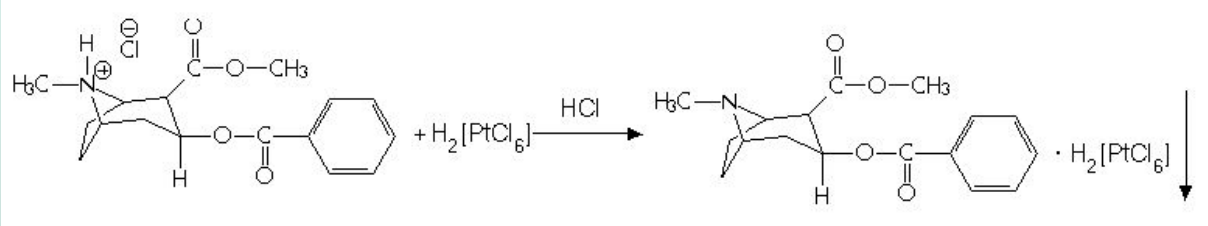
КОКАИН

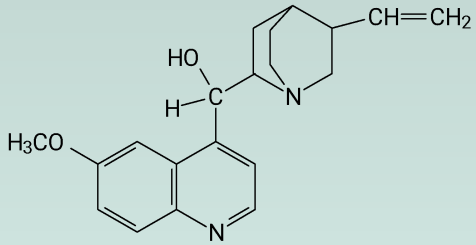


1. *Реакция образования перманганата кокаина*



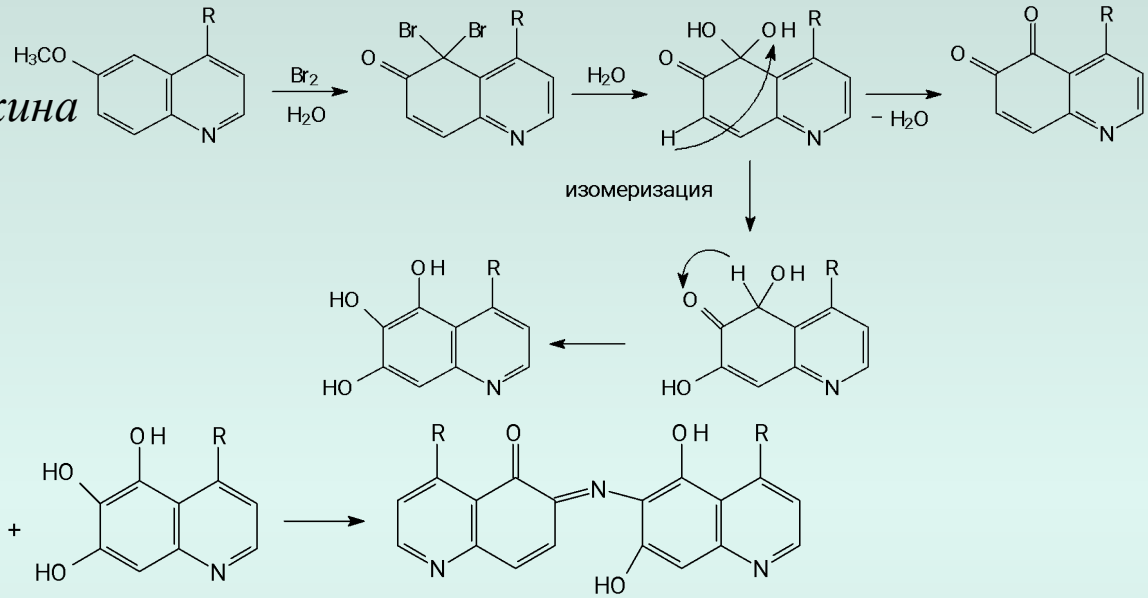
2. *Реакция образования хлороплатината кокаина*



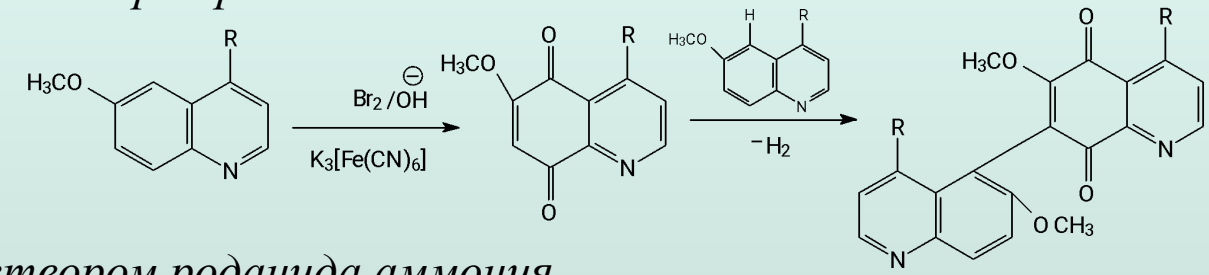


ПРОИЗВОДНЫЕ ХИНОЛИНА
ХИНИН

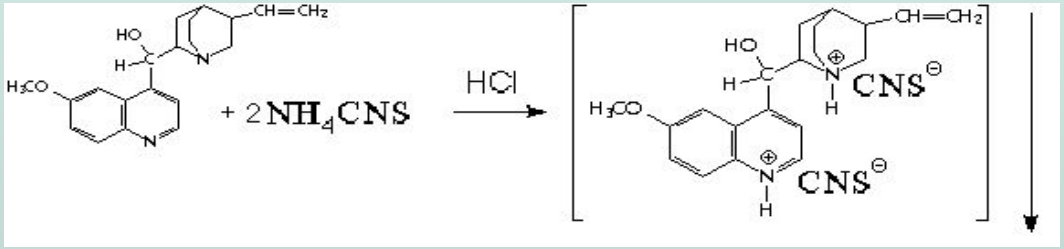
1. *Реакция флюоресценции*
2. *Реакция образования таллейохина*

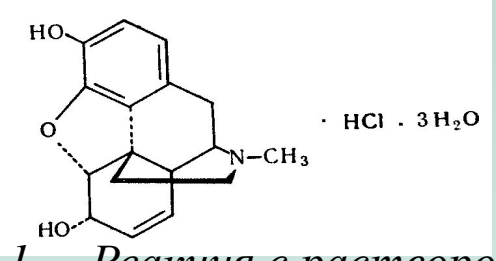


3. *Реакция получения эритрохинина*



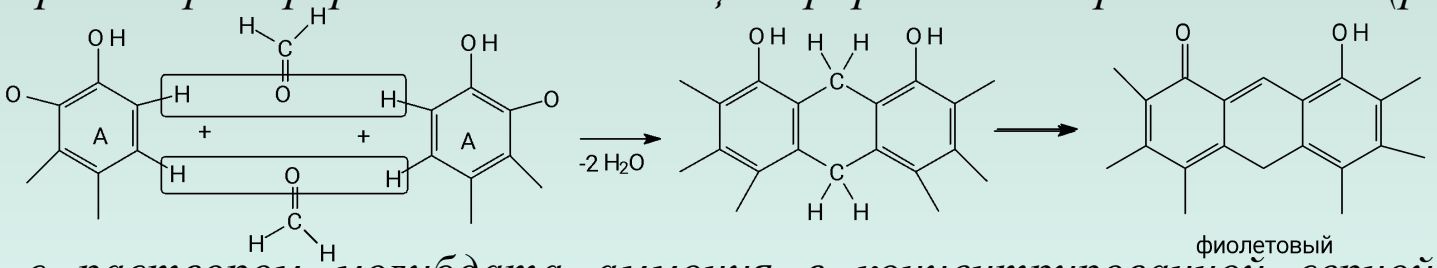
4. *Реакция с раствором роданида аммония*



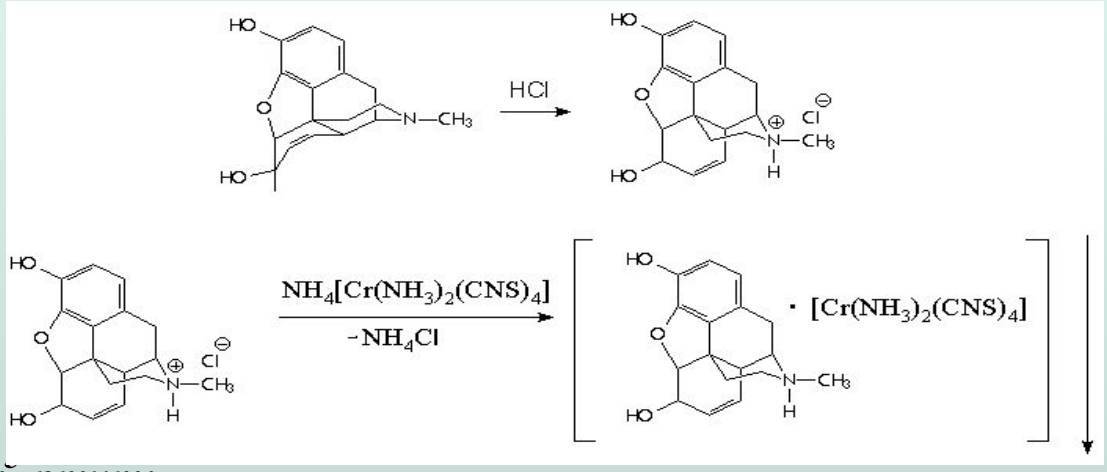


ПРОИЗВОДНЫЕ ИЗОХИНОЛИНА
МОРФИН

1. *Реакция с раствором формальдегида в концентрированной серной кислоте (реактив Марки)*



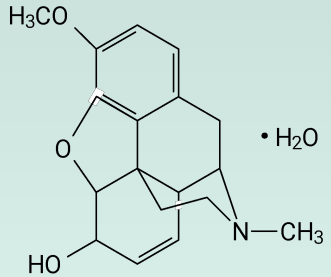
2. *Реакция с раствором молибдата аммония в концентрированной серной кислоте (реактив Фреде)* $(NH_4)Mo_7O_{27}$
3. *Реакция с ванадатом натрия в концентрированной серной кислоте (реактив Манделина)*
4. *Реакция с хлоридом окисного железа*
5. *Реакция, с раствором йодида кадмия.*
6. *Реакция с солью Рейнеке*



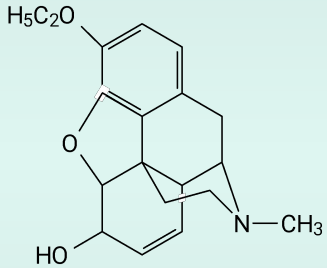
7. *Раствором хлорида окисной ртути*

КОДЕИН, ЭТИЛМОРФИН, АПОМОРФИН

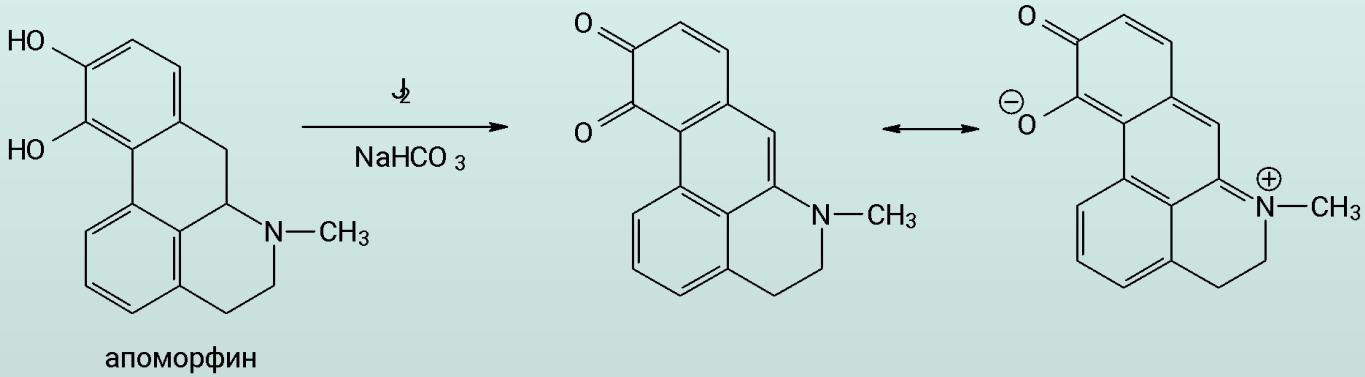
1. *Реакция кодеина с раствором йодида кадмия*



2. *Реакция этилморфина с раствором хлорида окисной ртути*



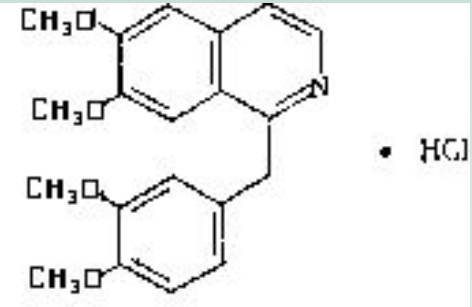
3. *Реакция Пеллагри на апоморфин*



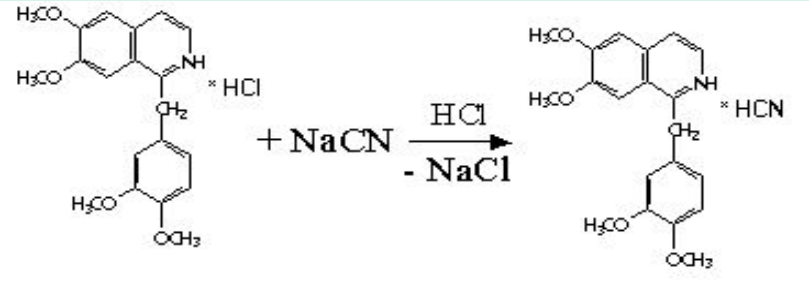
ПРОИЗВОДНЫЕ БЕНЗИЛИЗОХИНОЛИНА

ПАПАВЕРИН И НАРКОТИН

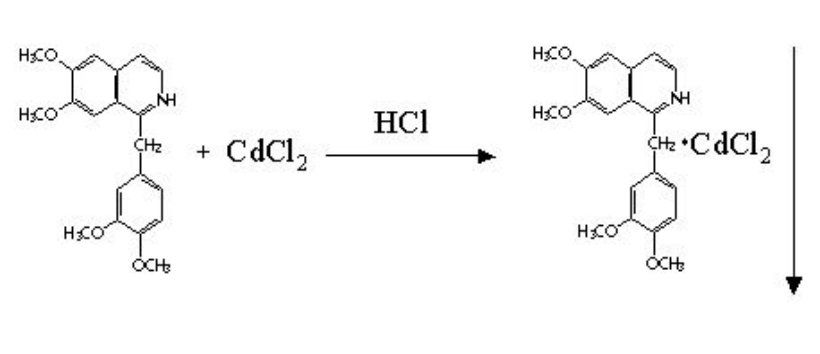
ПАПАВЕРИН



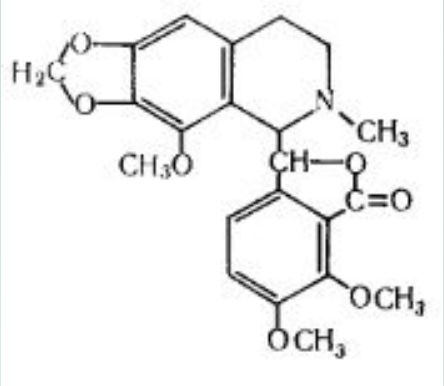
1. *Реакция с цианидом натрия*



2. *Реакция с раствором хлорида кадмия*

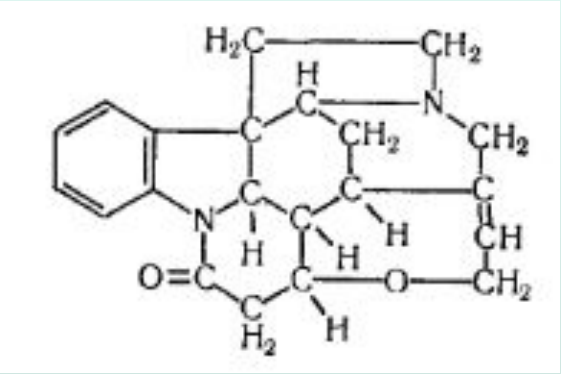


НАРКОТИН



1. *Реакция с концентрированной серной кислотой*
2. *Реакция с реактивом Эрдмана*

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*