

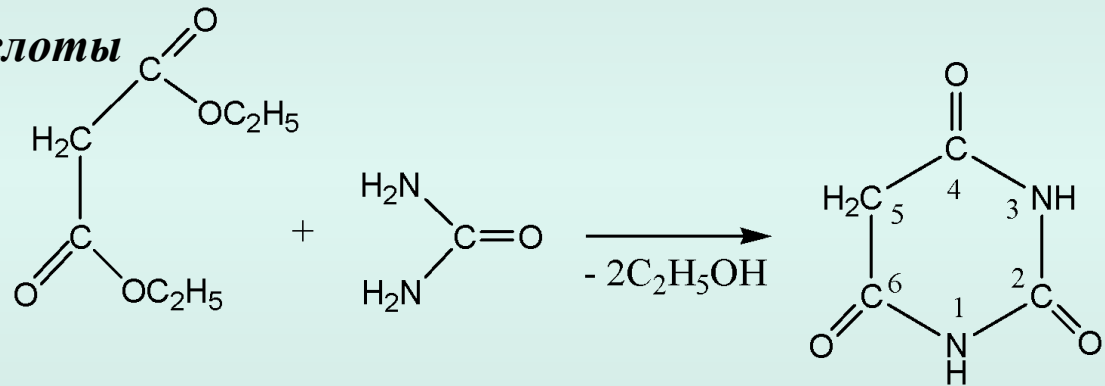
ЛЕКЦИЯ № 7

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

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

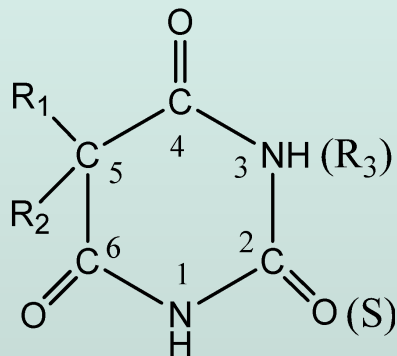
БАРБИТУРАТЫ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ОТНОШЕНИИ

Получение барбитуровой кислоты



малонилмочевина
(2,4,6-триоксипиримидин)

Общая формула барбитуратов



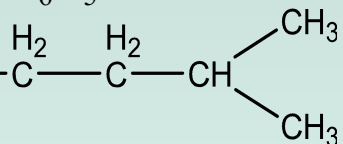
где R_1, R_2, R_3 - радикалы, содержащие от 1 до 7 атомов углерода.

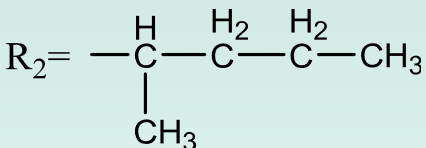
Классификация барбитуратов

1) 5,5-замещенные производные (двухзамещенные)

1. Барбитал R_1 и R_2 - C_2H_5

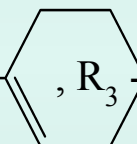
2. Фенобарбитал R_1 - C_2H_5 , R_2 - C_6H_5

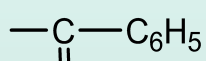
3. Барбамил R_1 - C_2H_5 , $R_2 =$ 

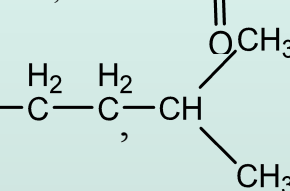
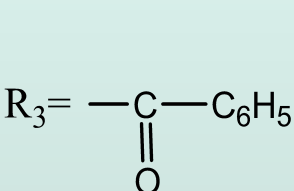
4. Этаминал-натрий R_1 - C_2H_5 , $R_2 =$ 

5. Бутобарбитал R_1 - C_2H_5 , R_2 - C_4H_9

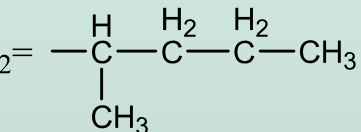
2) N-замещенные барбитураты (трехзамещенные)

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

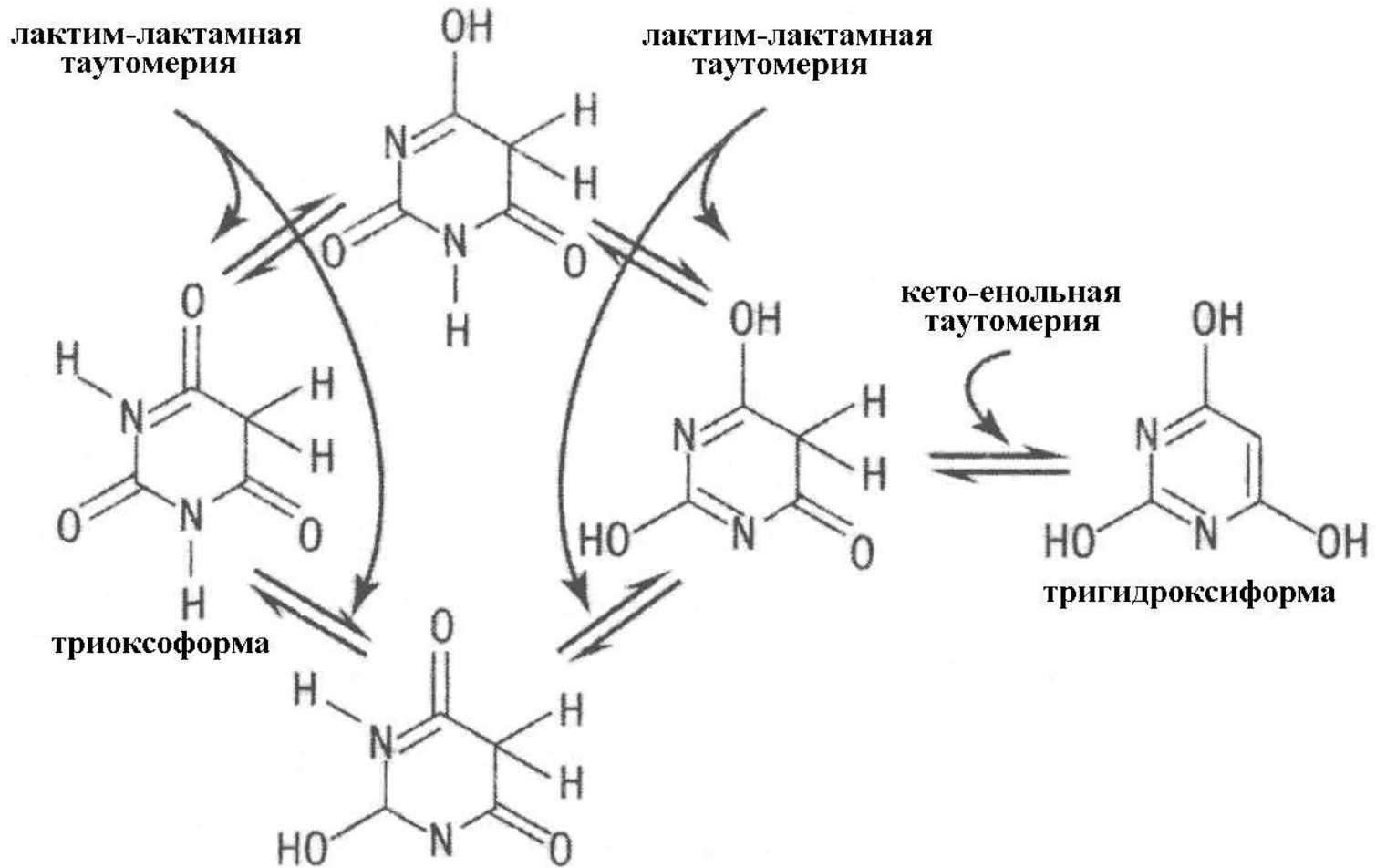
2. Бензонал R_1 - C_2H_5 , R_2 - C_6H_5 , $R_3 =$ 

3. Бензобамил R_1 - C_2H_5 , $R_2 =$ , $R_3 =$ 

3) Тиобарбитураты

Тиопентал-натрий R_1 - C_2H_5 , $R_2 =$ 

Лактим-лактаминная и кето-енольная таутомерия барбитуратов



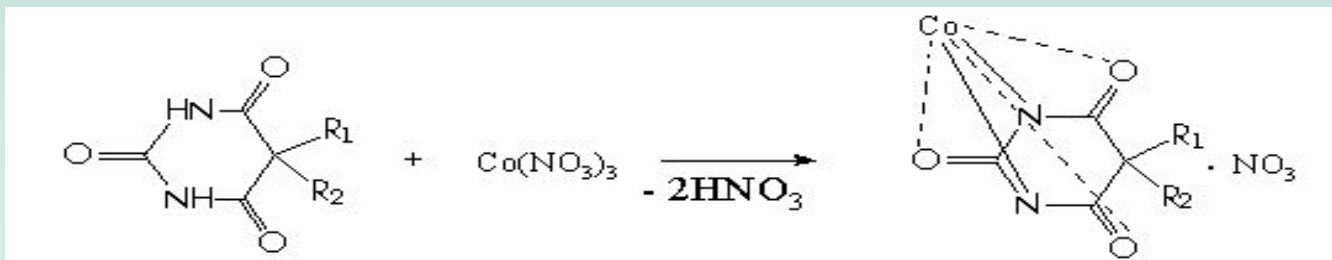
Химико-токсикологическое исследование

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

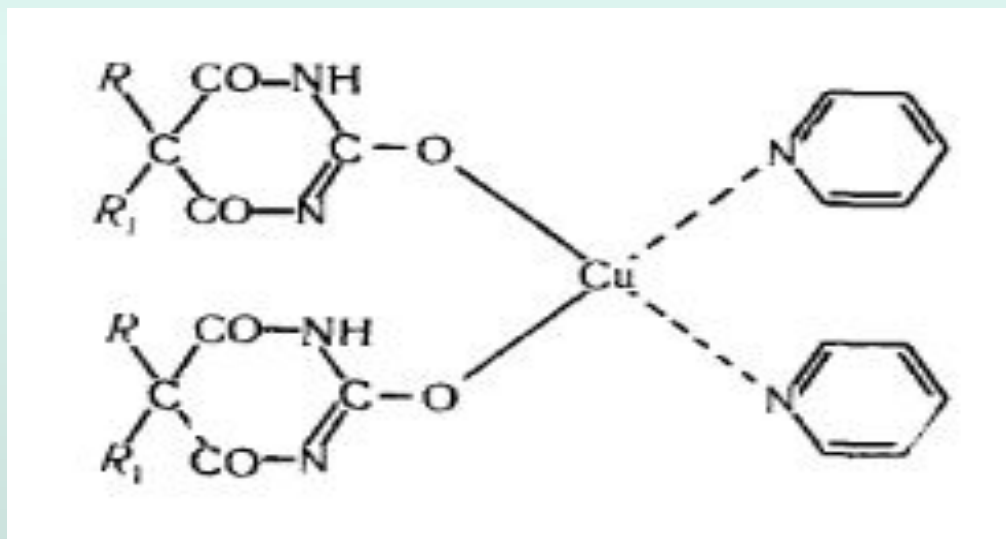
Идентификация барбитуратов

Химические методы:

1. С солями кобальта в щелочной среде (образуется комплекс состава $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{OHBarb}_2$ красно-фиолетового цвета)

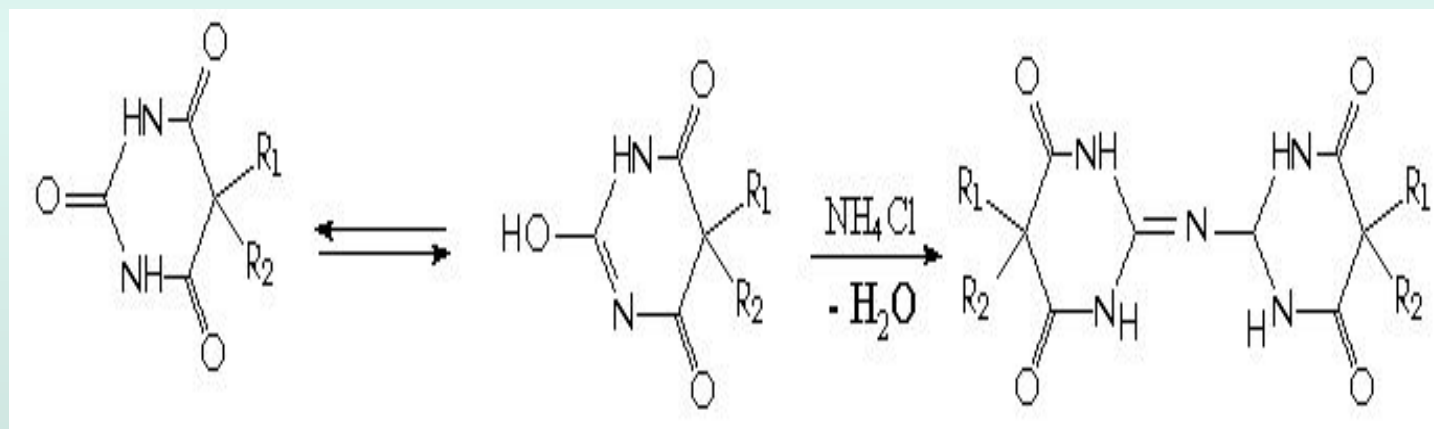
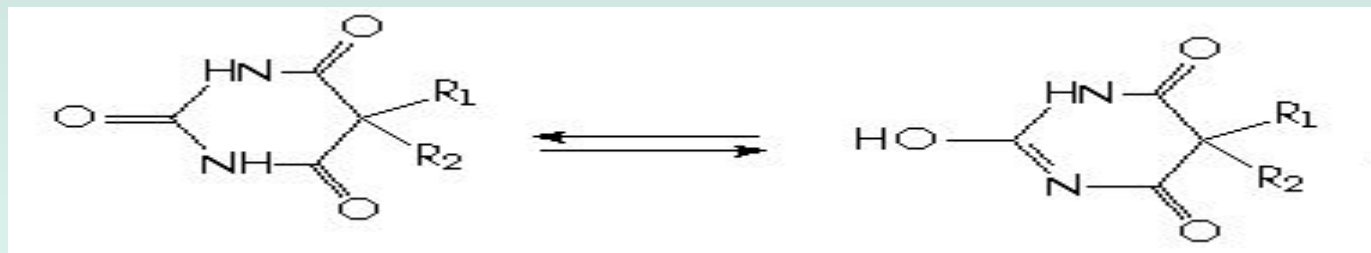


- С солями меди в присутствии пиридина (образуется комплекс состава $\text{CuPyr}_2\text{Varb}_2$ красно-фиолетового цвета (тиобарбитураты – зеленого цвета)



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

Мурексидная проба



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 HgSO_4 . В местах расположения барбитуратов возникают красно- или сине-фиолетовые пятна. Идентификация проводится по величине R_f (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 (рН=2) не абсорбирует в УФ области
- 2.Имидольная форма (рН=10) обладает характерным поглощением $\lambda_{\max}=240$ нм
- 3.Диимидольная форма обладает характерным поглощением $\lambda_{\max}=255-260$ нм.

Трехзамещенные производные:

Имеют лишь одну ионизированную форму (имидольную), поэтому их поглощение не меняется с переходом от рН 10 к рН 13, и они обладают одним максимумом в щелочной среде при длине волны 245 нм.

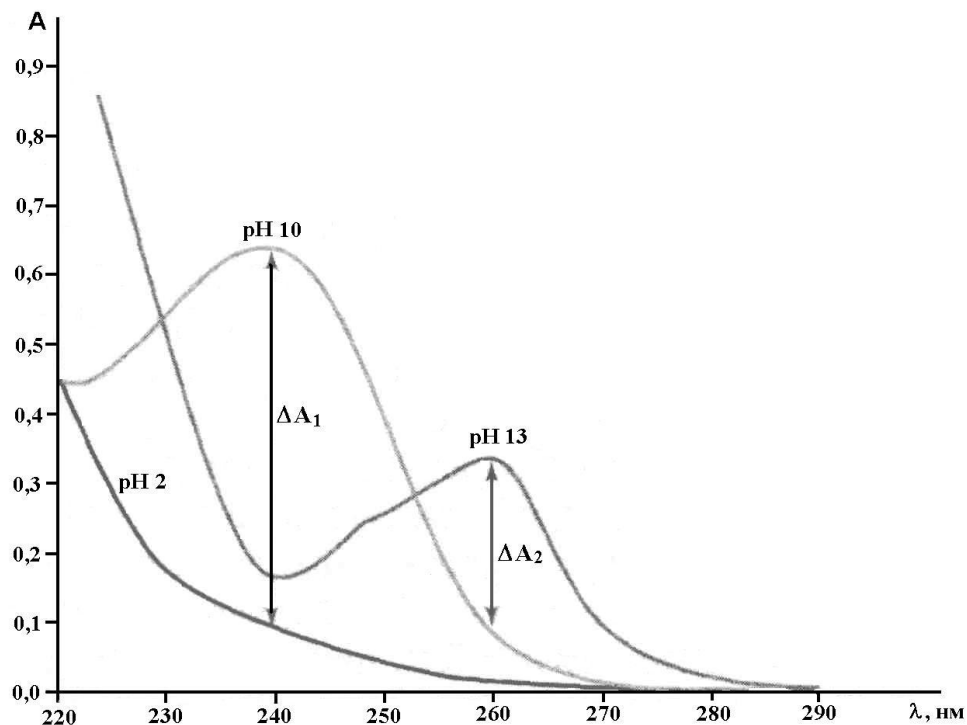
Тиобарбитураты:

Имеют два максимума в кислом растворе (239 и 290 нм), в щелочном при рН=10 также два максимума (255 и 310 нм) и при рН 13 - один (310нм).

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

- 1.Двузамещенные (рН 2 - нет max, рН 10 - 240 нм, рН 13 -255-260 нм)
- 2.Трехзамещенные (рН 2 - нет max, рН 10 и рН 13 -245 нм)
- 3.Тиобарбитураты (рН 2 - 239 нм и 290 нм, рН 10 - 255 и 310 нм, рН 13 -310нм).

Количественное определение барбитуратов



I вариант – по разности абсорбций в щелочном - pH 10 и кислом - pH 2 растворах при $\lambda=240$ нм.

II вариант – по разности абсорбций в щелочных – pH 13 и pH 10 растворах при $\lambda=260$ нм.

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

I вариант $D_{\text{pH } 10} = D_{\text{б-та}}^{10} + D_{\text{примесей}}^{10}$, $\lambda=240$ нм $D_{\text{pH } 2} = D_{\text{б-та}}^2 + D_{\text{примесей}}^2$

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

$$D_{\text{примесей}}^{10} = D_{\text{н}}^2 \quad \Delta D = D_{\text{б-та}}^{10}$$

II вариант $D_{\text{pH } 13} = D_{\text{б-та}}^{13} + D_{\text{н}}^{13}$, $\lambda=260$ нм $D_{\text{pH } 10} = D_{\text{б-та}}^{10} + D_{\text{н}}^{10}$

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

$$D_{\text{н}}^{13} = D_{\text{н}}^{10} \quad \Delta D = D_{\text{б-та}}^{13} - D_{\text{б-та}}^{10}$$

Токсикокинетика барбитуратов

Всасывание.

Все барбитураты - слабые кислоты ($pK_a = 7,2-8,0$), 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-На -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) $H_3PO_4 / 12MoO_3$ - 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** ($K[BiI_4]$)
 - 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 R_f (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 опиийными 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.).

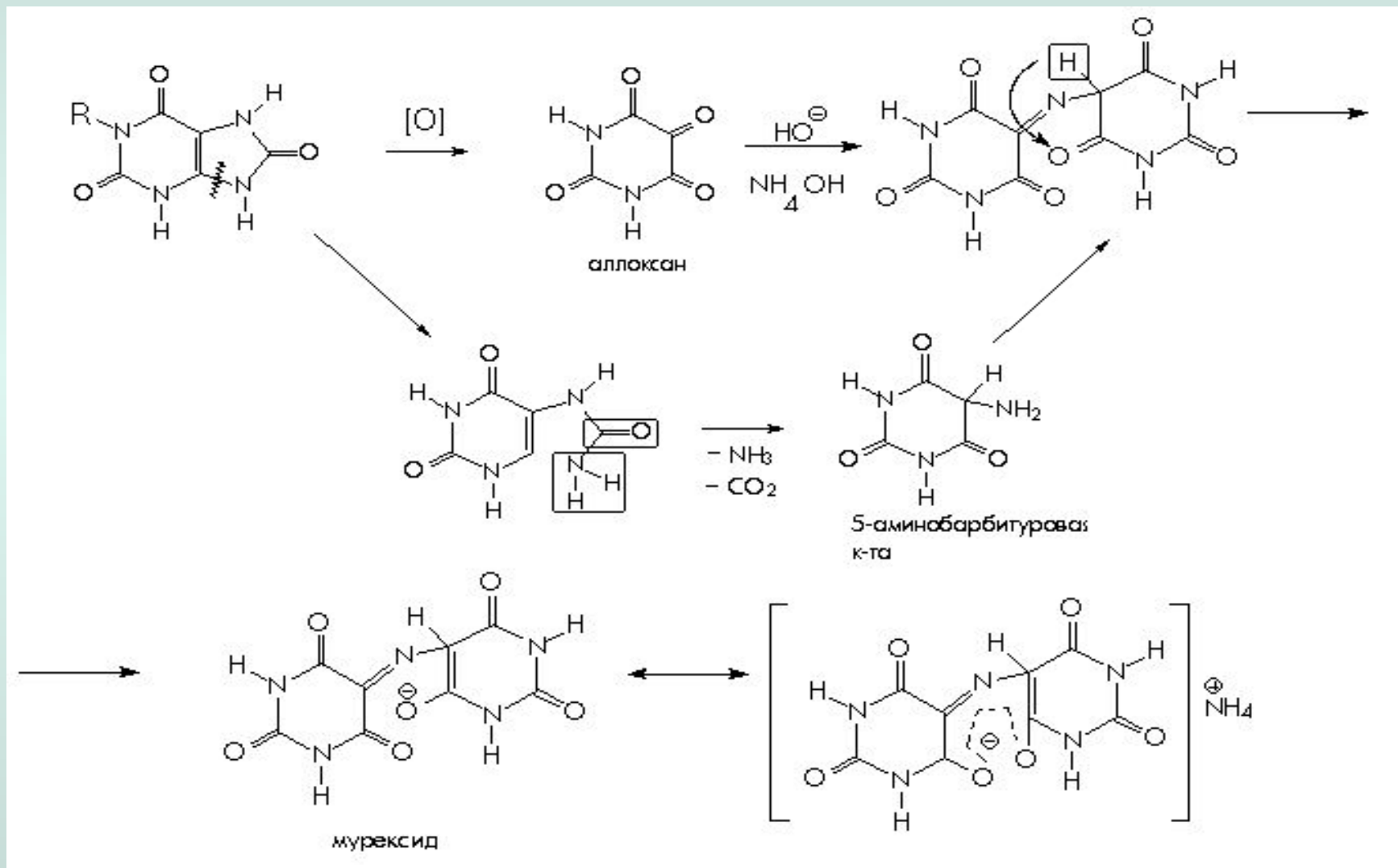
Окрашенные ионные ассоциаты могут быть экстрагированы из водной фазы органическим растворителем (экстракционно-фотометрическое определение).

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

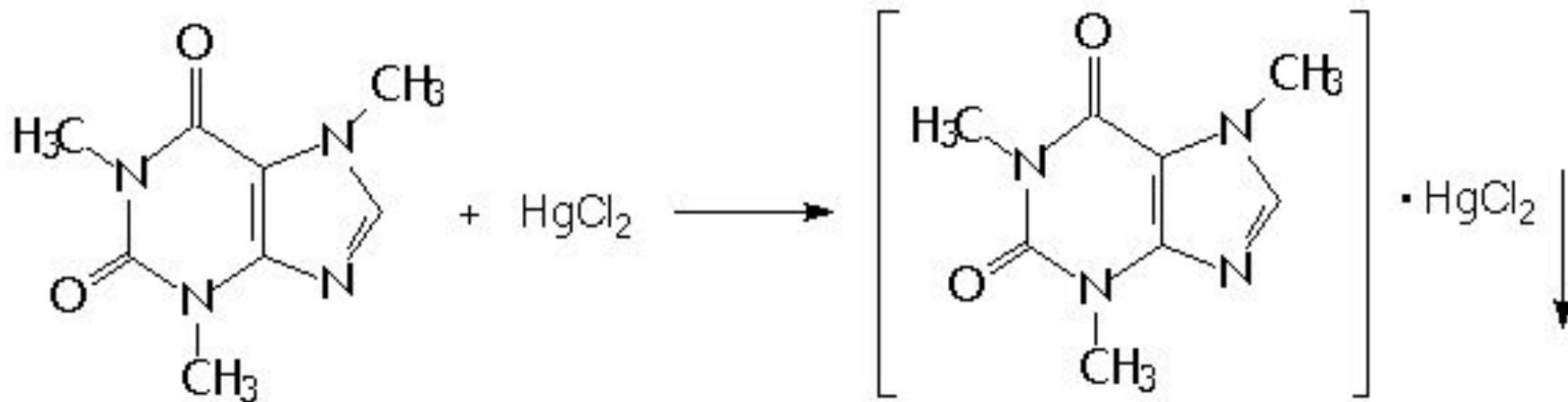
КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ НЕКОТОРЫХ АЛКАЛОИДОВ

КОФЕИН, ТЕОБРОМИН

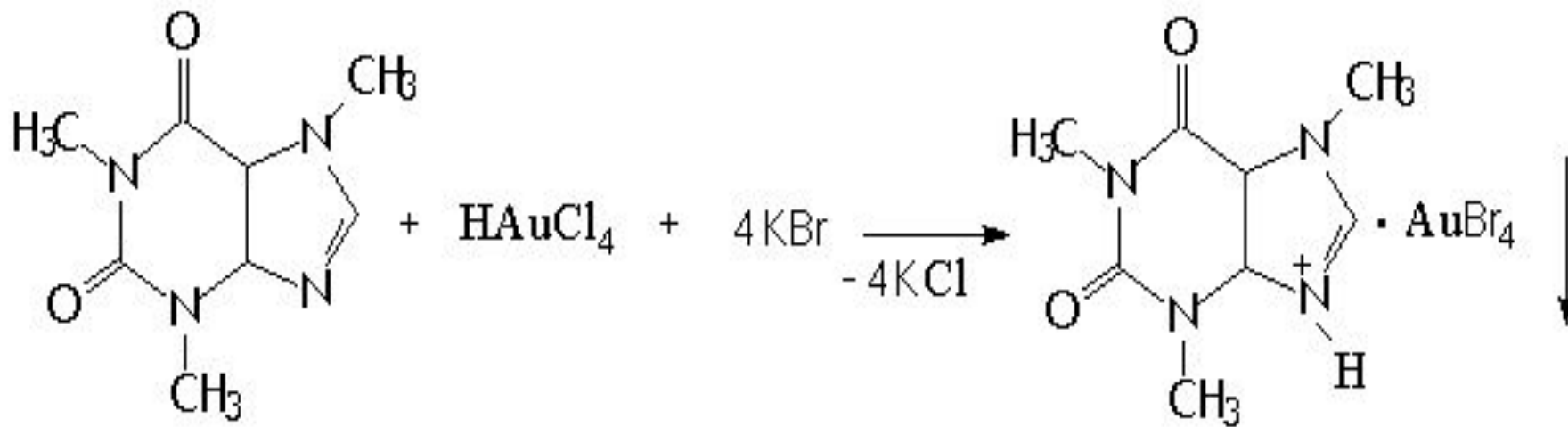
1. Общая реакция: образование мурексида: (пурпурно-фиолетовое окрашивание)



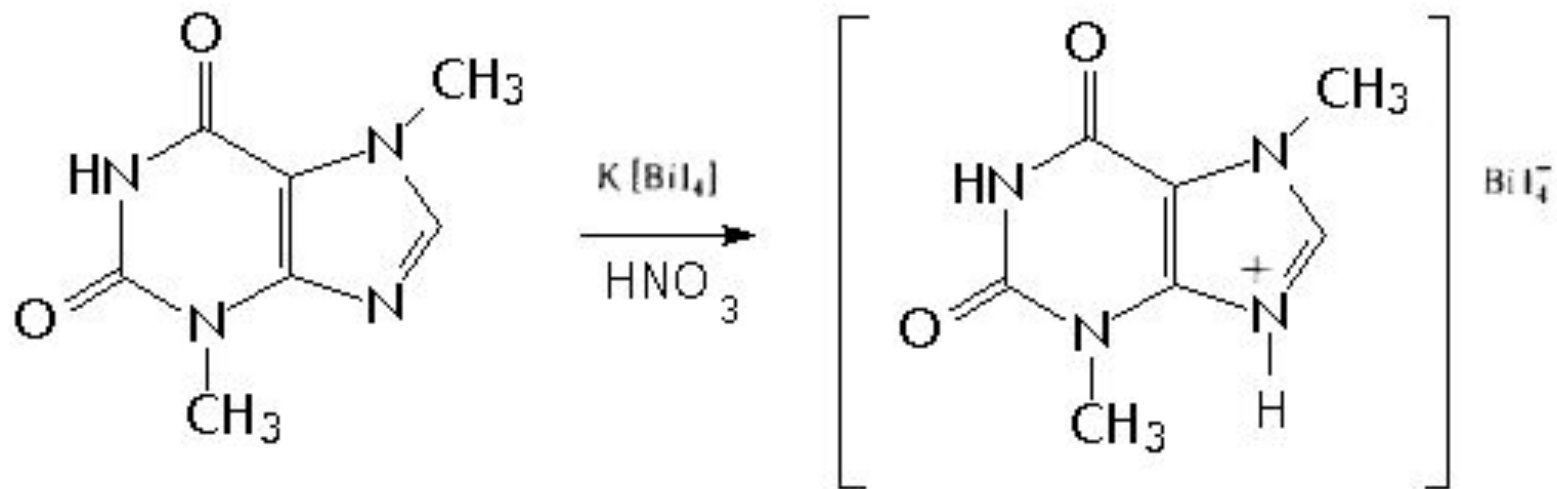
2. Реакция кофеина с хлоридом окисной ртути: (длинные шелковистые, бесцветные иглообразные кристаллы)



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

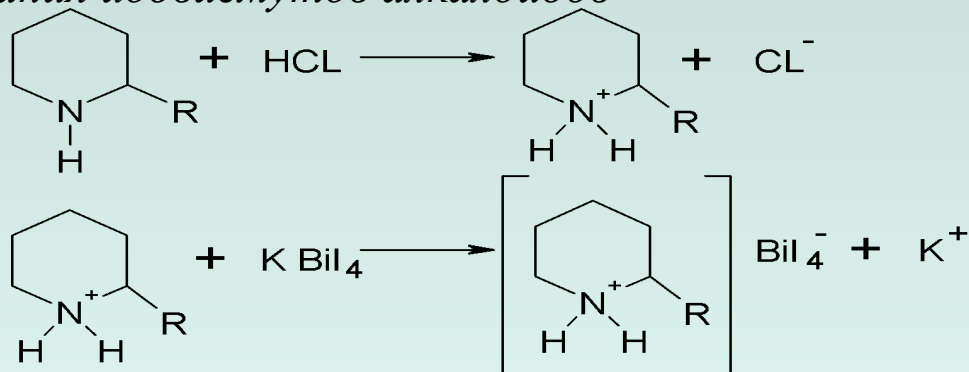


Реакция теобромина с раствором йодвисмутата калия (игольчатые кристаллы темно-красного цвета, собранные в пучки)



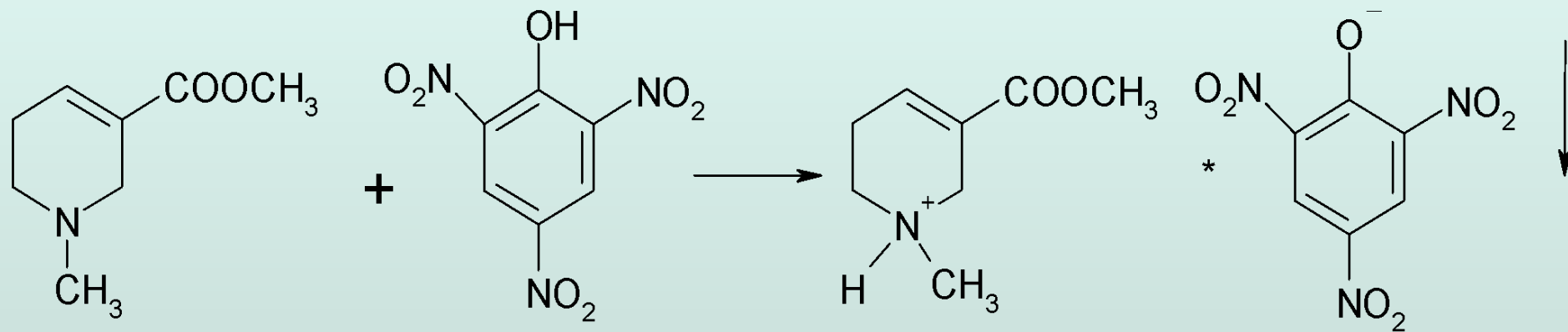
ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИДИНА И ПИПЕРИДИНА *КОНИИН, АРЕКОЛИН, НИКОТИН И АНАБАЗИН*

1. Реакция образования йодвисмутов алкалоидов

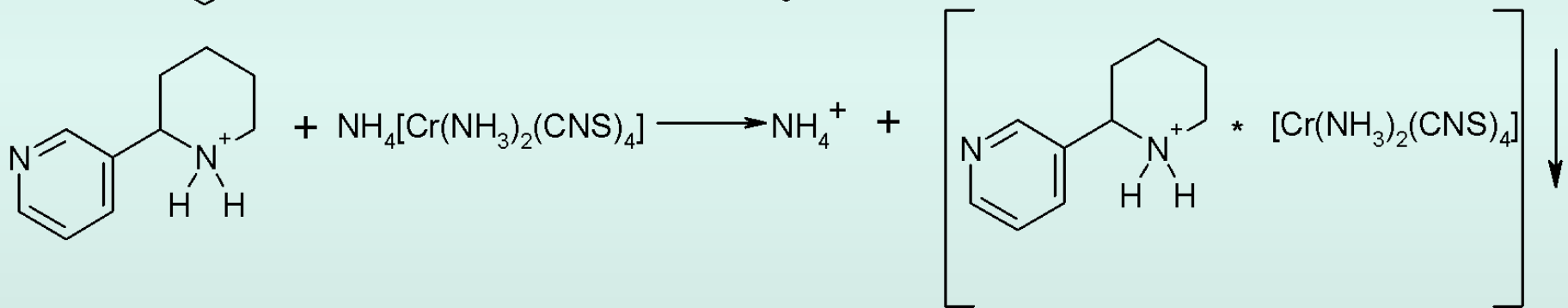
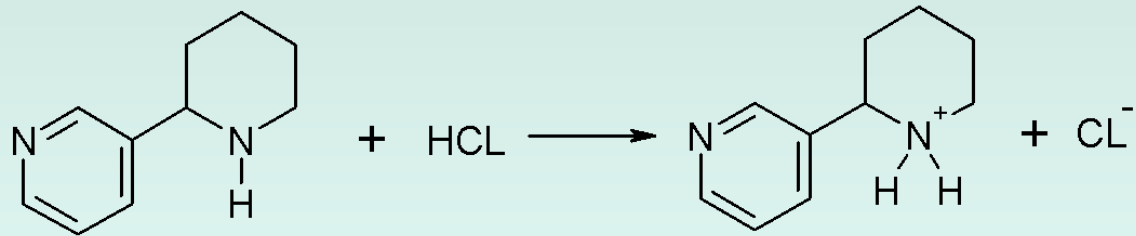


2. Реакция получения сублимата хлоргидрата конина

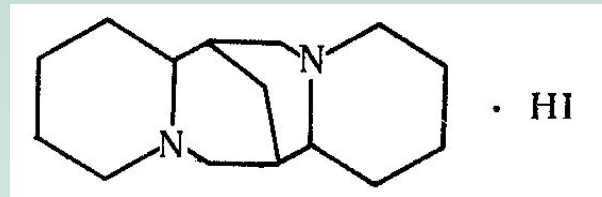
3. Реакция образования пикрата ареколина и никотина



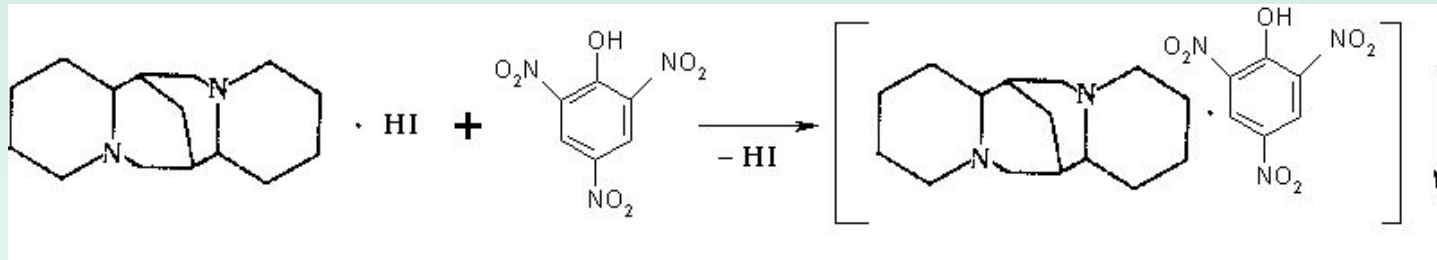
Реакция образования реинеката никотина и анабазина



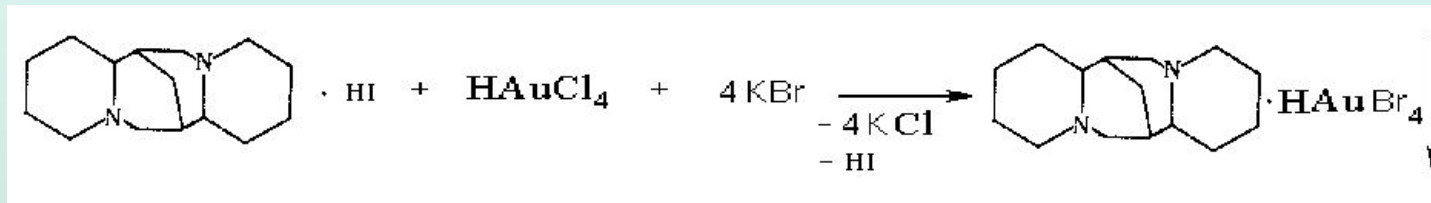
ПАХИКАРПИН



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



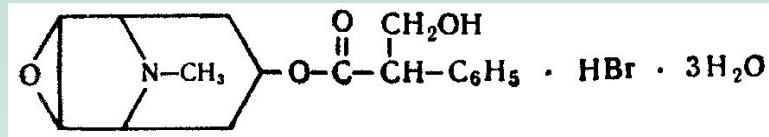
4. Реакция с золотобромистоводородной кислотой



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

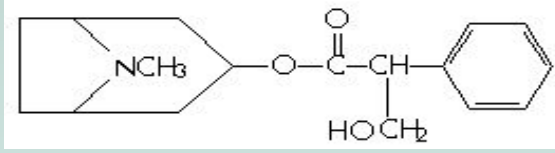
ПРОИЗВОДНЫЕ ТРОПАНА

СКОПОЛАМИН



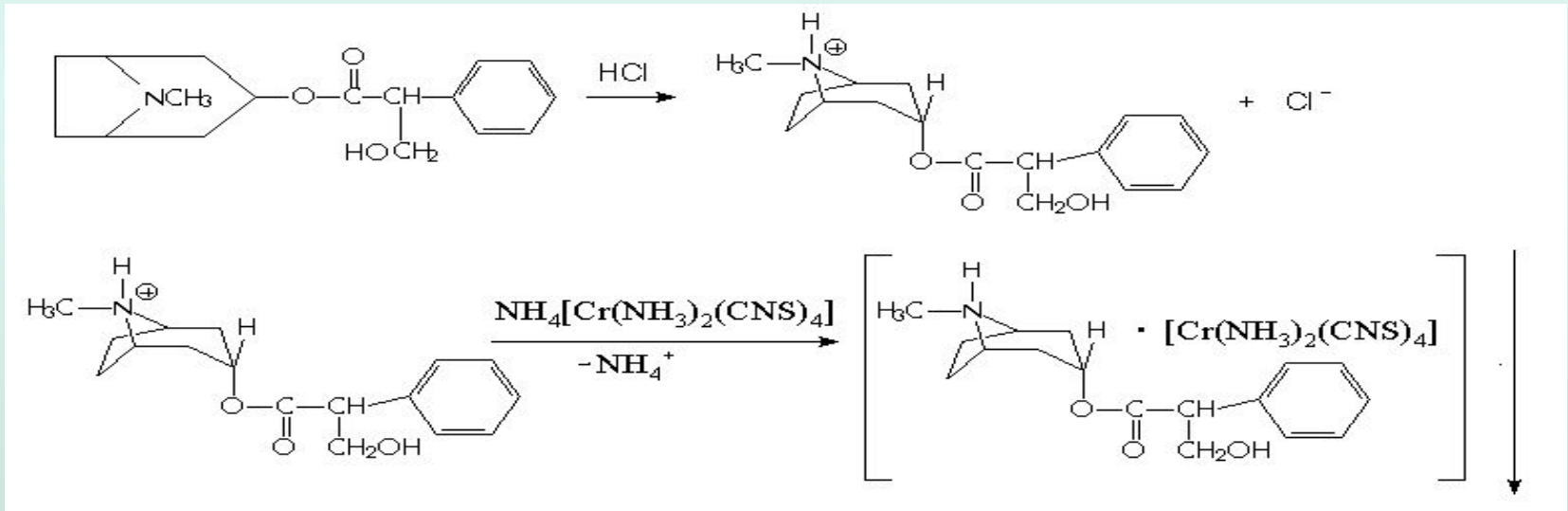
1. Реакция Витали — Морена
2. Реакция с солью Рейнеке
3. Реакция образования бромоаурата

АТРОПИН



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

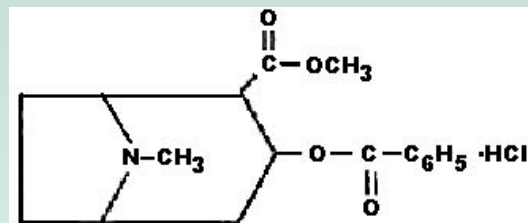
2. Реакция с солью Рейнеке



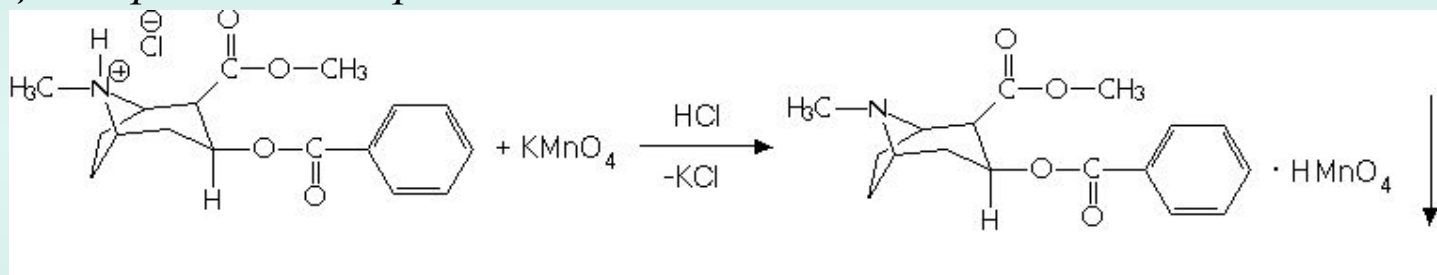
3. Реакция с бромной водой

4. Реакция с пикриновой кислотой

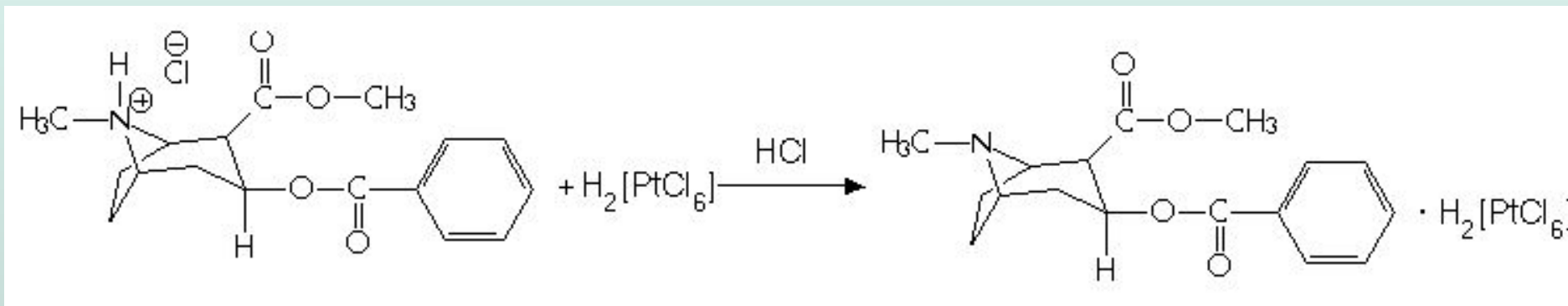
КОКАИН



1. Реакция образования перманганата кокаина

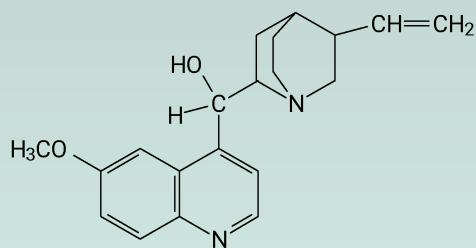


2. Реакция образования хлорплатината кокаина



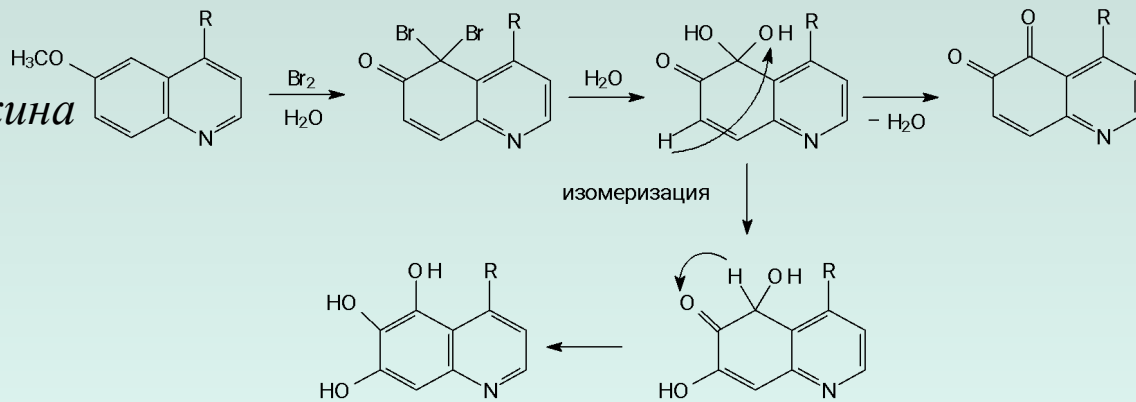
ПРОИЗВОДНЫЕ ХИНОЛИНА

ХИНИН

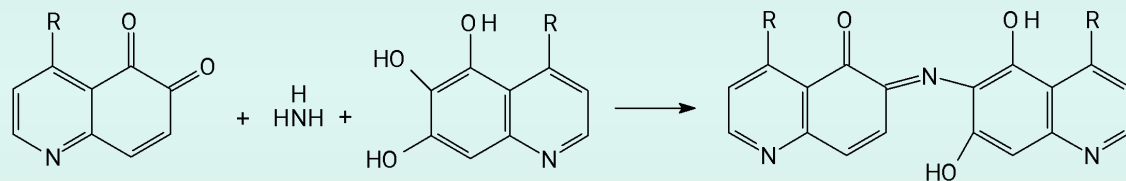


1. Реакция флюоресценции

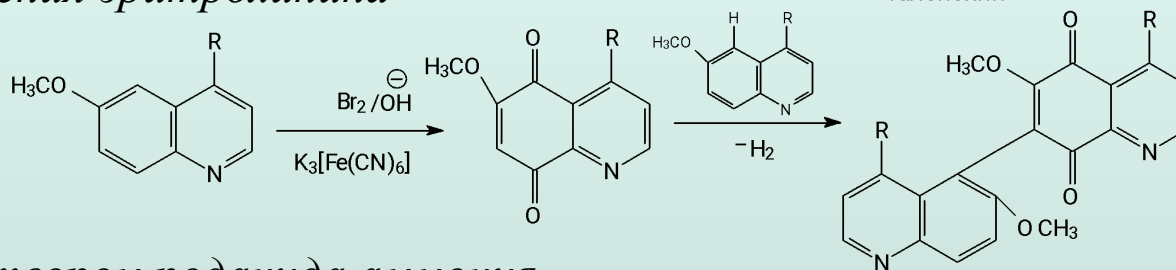
2. Реакция образования таллейохина



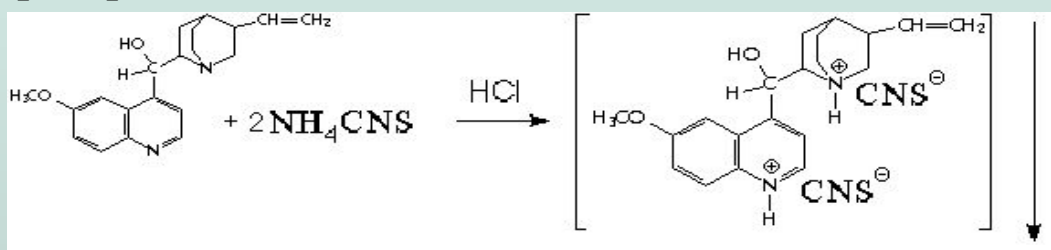
3. Реакция получения эритрохинина



таллейохин

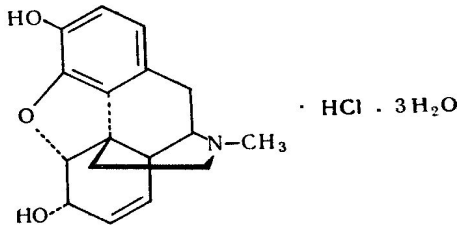


4. Реакция с раствором роданида аммония

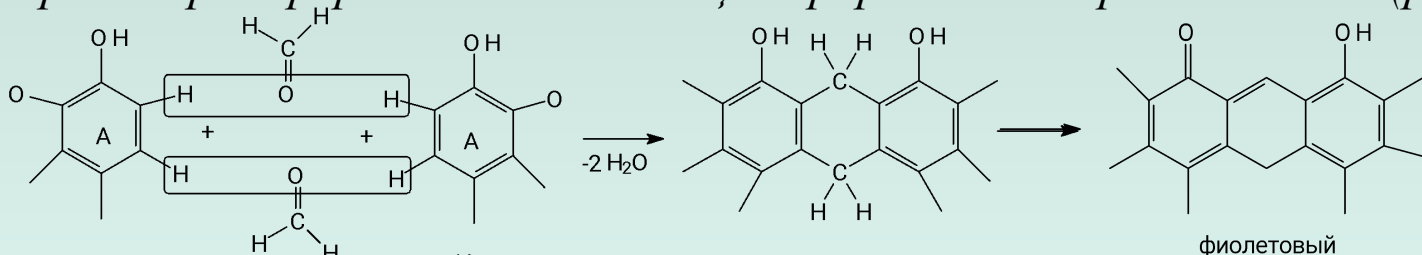


ПРОИЗВОДНЫЕ ИЗОХИНОЛИНА

МОРФИН



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



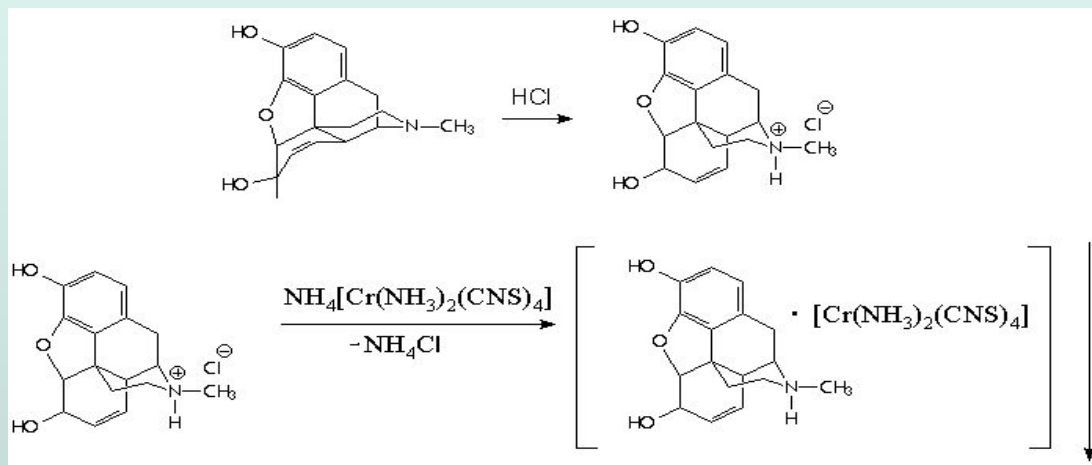
2. Реакция с раствором молибдата аммония в концентрированной серной кислоте (реактив Фреде) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_7$

3. Реакция с ванадатом натрия в концентрированной серной кислоте (реактив Манделина)

4. Реакция с хлоридом окисного железа

5. Реакция, с раствором йодида кадмия.

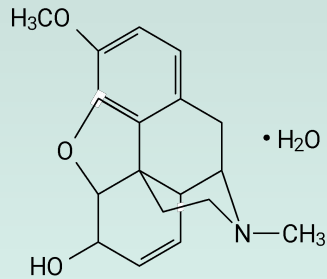
6. Реакция с солью Рейнеке



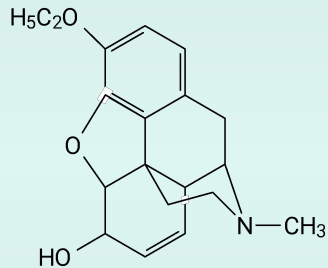
7. Раствором хлорида окисной ртути

КОДЕИН, ЭТИЛМОРФИН, АПОМОРФИН

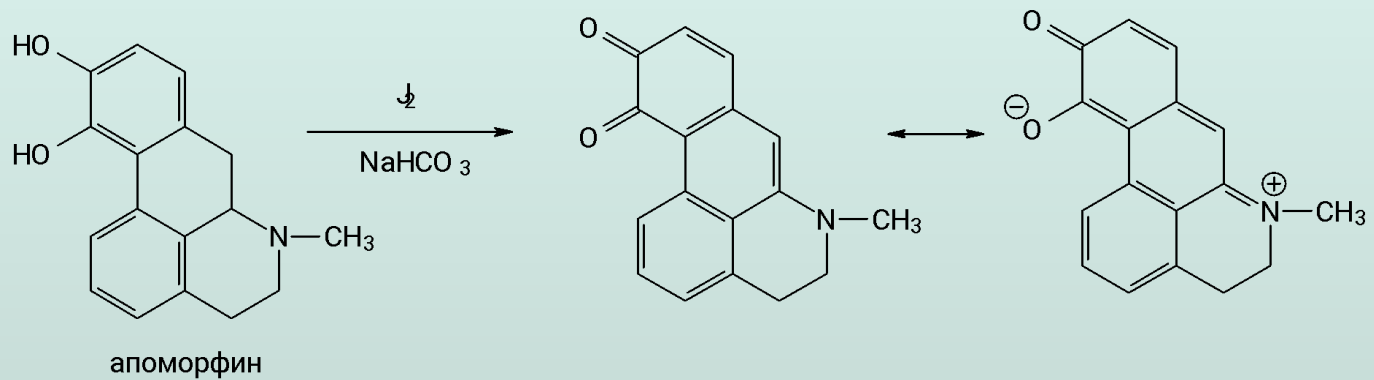
1. Реакция кодеина с раствором йодида кадмия



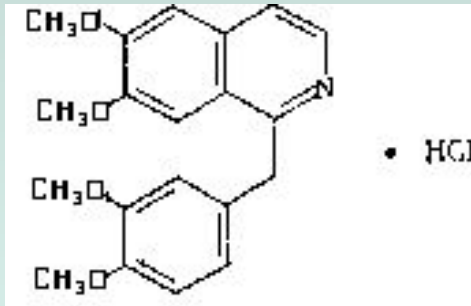
2. Реакция этилморфина с раствором хлорида окисной ртути



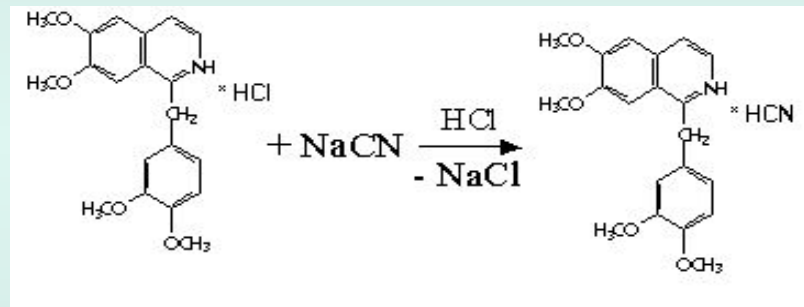
3. Реакция Пеллагри на апоморфин



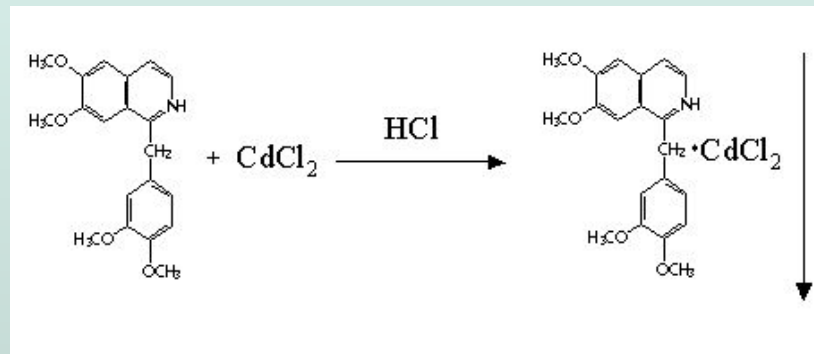
ПРОИЗВОДНЫЕ БЕНЗИЛИЗОХИНОЛИНА ПАПАВЕРИН И НАРКОТИН ПАПАВЕРИН



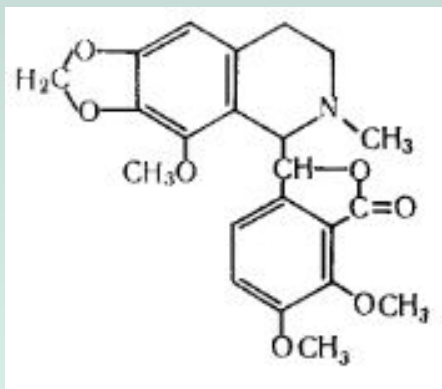
1. Реакция с цианидом натрия



2. Реакция с раствором хлорида кадмия

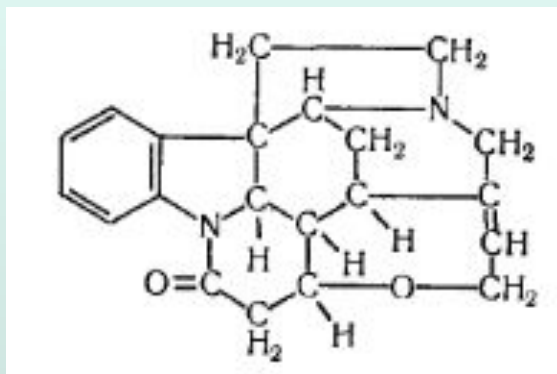


НАРКОТИН



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

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-хлороводородной кислотой*
4. *Реакция с раствором пикриновой кислоты*