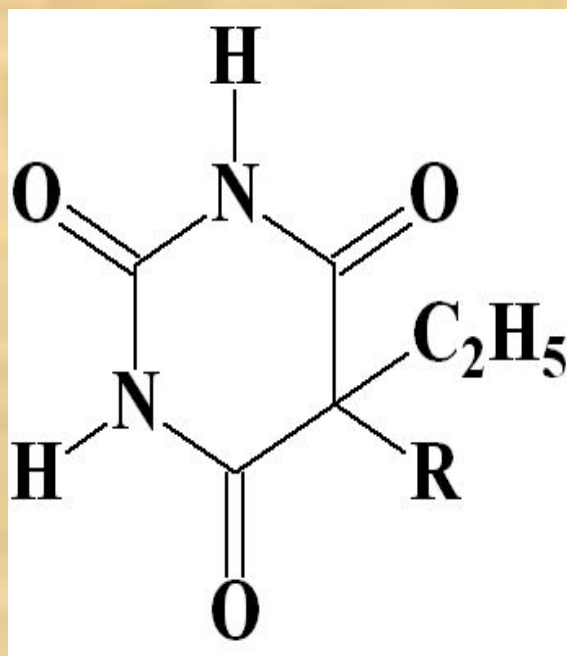


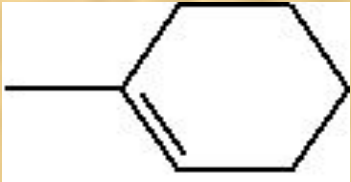
**Химико-
токсикологическое
исследование отравлений
отдельными
лекарственными
препаратами**

Производные барбитуровой кислоты

- Используются в качестве седативно-снотворных, противоэпилептических и средств для наркоза, для усиления действия нейролептиков, антидепрессантов и других психофармакологических ЛС.
- Депрессанты ЦНС. Взаимодействуют со специфическим участком ГАМК-барбитуро-бензодиазепиновых рецепторов, повышают чувствительность ГАМК-рецепторов к ГАМК и тормозят нейрональную передачу в различных отделах ЦНС, оказывая неселективное угнетающее действие. В высоких концентрациях влияют на ток Na^+ и Ca^{2+} через мембрану. Противосудорожный эффект обусловлен влиянием на потенциал-зависимые натриевые каналы, подавлением активности глутамата и др. Снижают возбудимость эпилептоидного очага. Обладают прямым угнетающим действием на дыхательный центр (снижают чувствительность к углекислому газу)

Структура токсикологически значимых барбитуратов



Барбитурат	R
Барбитал	-C ₂ H ₅
Фенобарбитал	-C ₆ H ₅
Циклобарбитал	
Барбамил	-CH ₂ -CH ₂ -CH(CH ₃) ₂
Этаминал Na	-CH(CH ₃)-C ₃ H ₇

Токсикокинетические параметры барбитуратов

Барбитурат	pKa	T $\frac{1}{2}$, ч	Выведение в неизменном виде, %	Vd, мг/кг	Связывание с белками плазмы крови, %
Барбитал	7,8	48 – 72	90 – 95	0,5	2
Фенобарбитал	7,3	50 – 150	25 – 35	0,5	50
Циклобарбитал	7,6	8 – 17	2 – 6	0,5	70
Барбамил	7,9	8 – 40	1 – 3	1,0	40 – 60
Этаминал	8,0	15 – 48	10	0,7 – 1,0	60 – 70

Схема метаболизма фенобарбитала

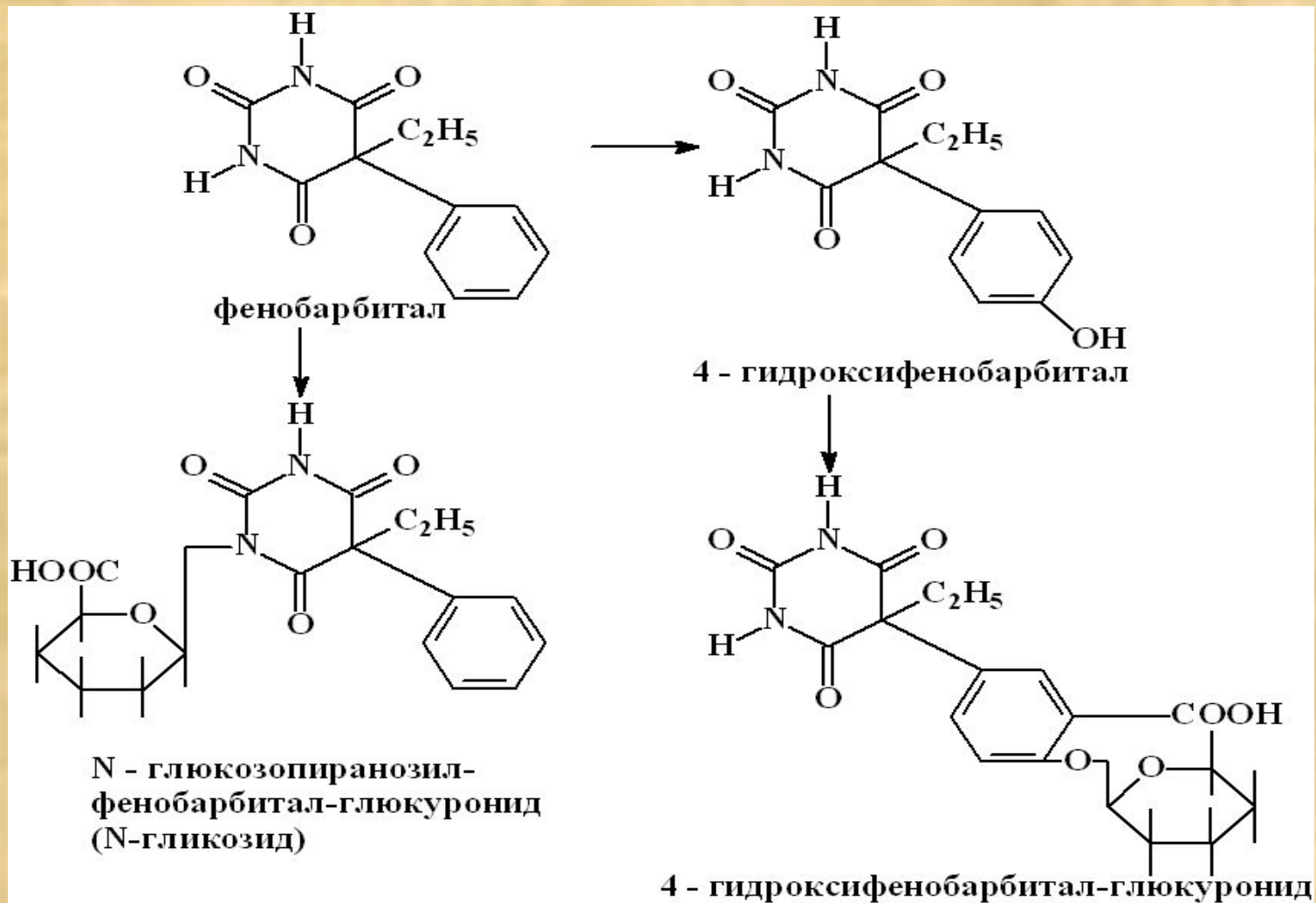
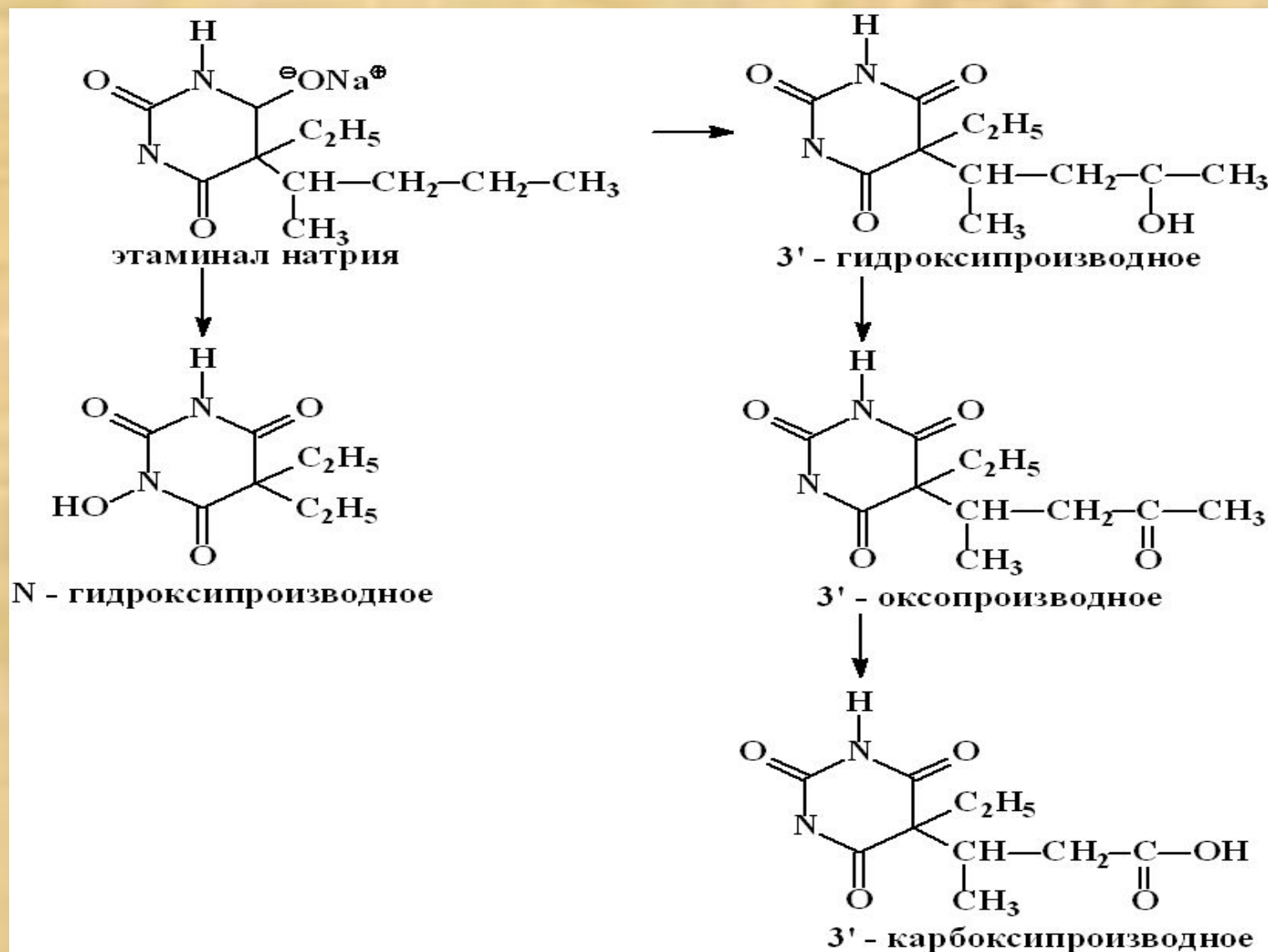
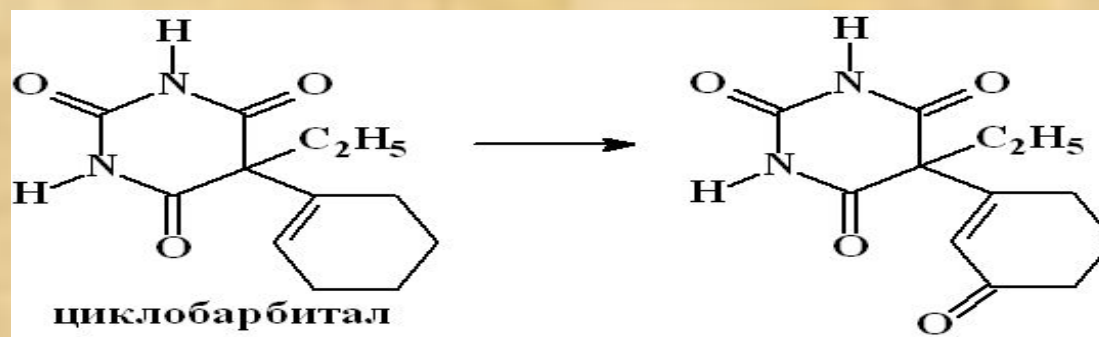
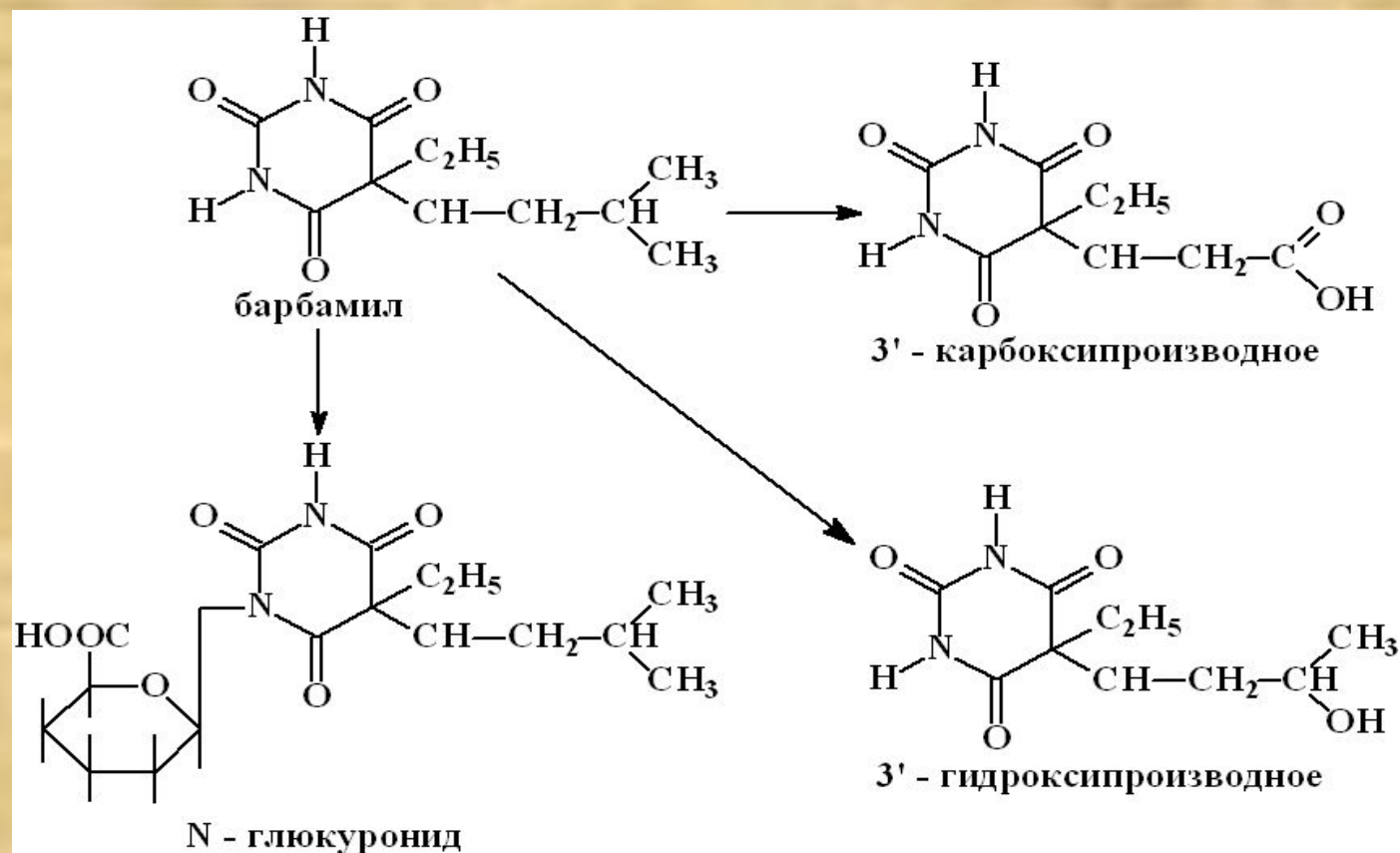


Схема метаболизма этаминала натрия



Схемы метаболизма барбамила и циклобарбитала



Терапевтические , токсические и летальные концентрации производных барбитуровой кислоты в крови

Название вещества	Концентрация, мкг/мл		
	терапевтическая	токсическая	летальная
Фенобарбитал (длительного действия)	4– <u>13</u> –26	40 – 60	100 –150
Барбитал-натрия (длительного действия)	5-40	20–80	> 90
Барбамил (среднего действия)	1 – 5	9 – 40	13– <u>26</u> –96
Этаминал-натрия (среднего действия)	0.5–5	8– <u>20</u> –32	30 – 72
Циклобарбитал (среднего действия)	2 – 10	10–15	> 20

Токсикокинетические свойства барбитуратов

тип действия	Препарат	% связи	Метаболиты, выведение	T _{1/2} из	Терапевтические конц.	Токсические конц	Смертельные
длительного	фенобарбитал	50-80	10-25% неизменное вещество, 30%-глюкуронид, 17% - 4- гидрокси производное	24-140	10-20-40	60-80	100-150
действия	барбитал- натрия	5	70-90% в неизменном виде	70	5-30	20 и более 70-150 кома	выше 90 100-170
среднего	барбамил	34-60	1%- неизменное вещество, 30-50% 3-гидрокси производное, 30% N- глюкуронид	8-40	2-12	выше 9	9-26-72
действия	этамил- натрия	45-70	1%-в неизменном виде, 37%-3- гидрокси-, 13%-N- гидрокси-, 7-14%-3-оксо-, 10-15% 3-карбокси производные	20-40	0,5-5	6 - 10	
	циклобарби- тал	70	10%-неизменное вещество, основной метаболит- кетоциклобарбитал	8-75	5-10	10-15	выше 30
короткого действи- я	гексенал	20	окси, кето, карбокси- барбитур. соединения., 4%-неизменное вещество, метаболиты и конъюгаты	4-15	4-10	15	выше 50

Выделение из биологических объектов

- Трупный материал: печень, почки, мозг, желудок с содержимым, кишечник –
Изолирование подщелоченной водой – по методу Валова
- Изолирование из крови и мочи - эфиром (хлороформом) при значениях pH 2 - 4

Химико-токсикологическое исследование на барбитураты

Предварительные:

- Иммунные методы (ИХА, ИФА, ПФИА)
- Мурексидная проба
- С солями кобальта в спиртовом растворе щелочи
- С пиридином и солями меди
- ТСХ

• Подтверждающие:

- Микрокристаллические реакции:
- Кислотная форма барбитуратов,
- С Хлор-цинк-йод
- С дийодкупратом калия в растворе йода
- УФ-спектроскопия
- ГЖХ
- ВЭЖХ

• Количественное определение :

- Дифференциальная УФ-спектрометрия
- ГЖХ,
- ВЭЖХ

ТСХ барбитуратов

- **Общая система** : Ацетон – хлороформ (1 : 9)
- **Частные системы** :
 - Этилацетат-метанол-25% раствор аммиака (85:10:5)
 - Изопропанол-хлороформ-25% раствор аммиака (9:9:2)
 - Хлороформ – ацетон (8 : 2)
 - бензол-этилацетат (2:1)

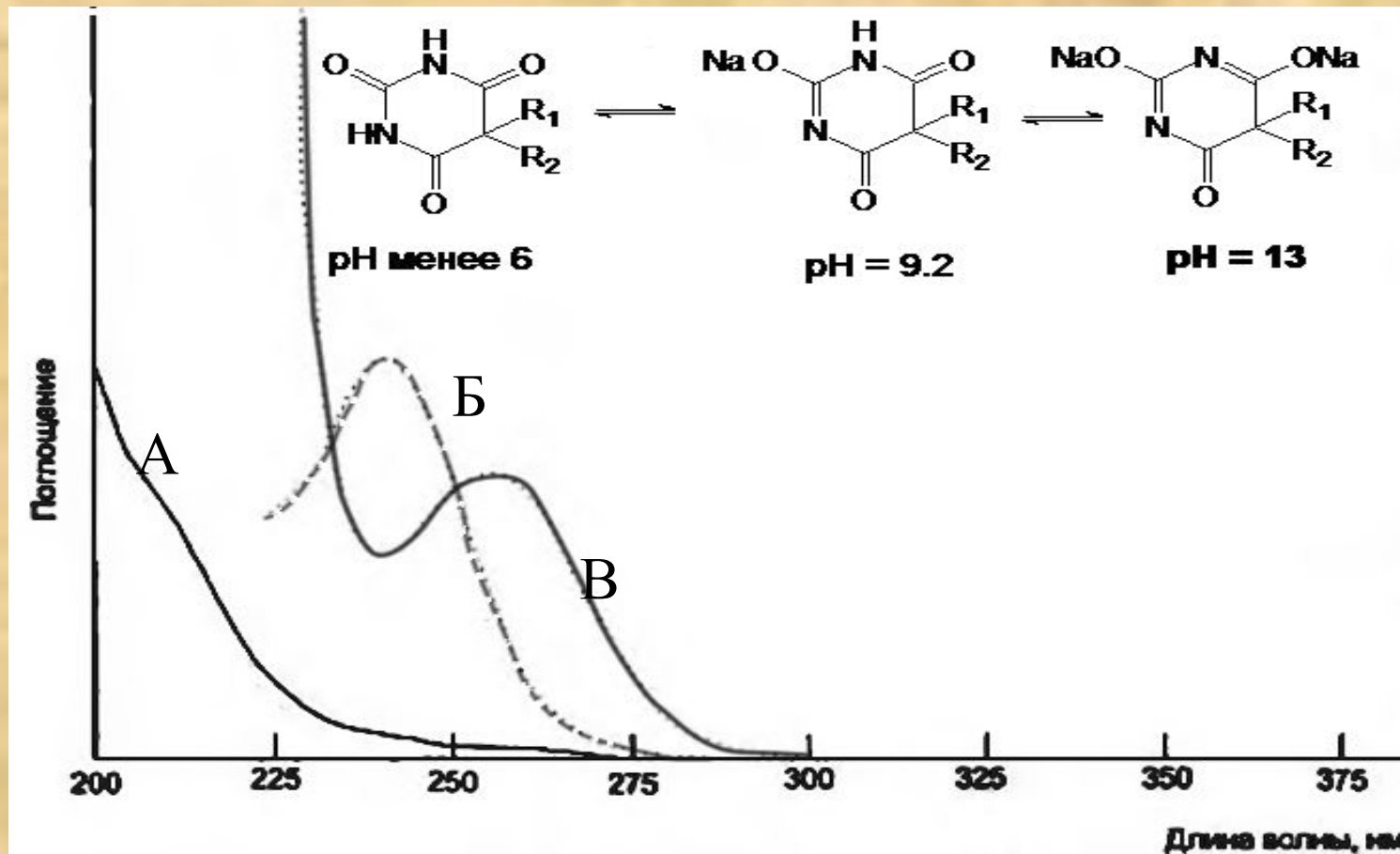
Проявление : последовательно

- Раствор сульфата ртути в серной кислоте
- Раствор дифенилкарбазона в хлороформе (или этаноле)

Сине-фиолетовые пятна на сиреневатом фоне

Чувствительность 1-5 мкг барбитуратов в пятне

Принцип УФ-спектрофотометрии барбитуратов



УФ-спектры барбитуратов при различных значениях рН среды и соответствующие им молекулярные структуры:

А - неионизированная форма в 0,1М растворе НСl,

Б - моно-анион в 0,05М боратном буфере (рН 9,2) ;

В - ди-анион в 0,5 М растворе гидроксида натрия (рН 13)

Количественное определение барбитуратов методом УФ-спектрометрии

- К 1 мл крови (плазмы, сыворотки) или 0,5 мл мочи добавляют 0,24 мл смеси насыщенного раствора щавелевой кислоты с 50% фосфорновольфрамовой кислоты (1:1), 2,5 г безводного сульфата натрия и экстрагируют хлороформом. Объединенные хлороформные экстракты промывают водой, затем добавляют 4 мл боратного буфера (рН13) и проводят экстракцию барбитуратов в водную фазу (в виде солей). После центрифугирования 3 мл водной фазы (боратный буфер) переносят в кювету с толщиной слоя 1 см и определяют оптическую плотность при длине волны 260 нм (D_{pH13}), раствор сравнения – боратный буфер. Далее к обоим растворам прибавляют 2 капли конц. Соляной кислоты до рН10, и измеряют оптическую плотность (D_{pH10}). Находят разность оптической плотности растворов при рН13 и рН10 ΔD и рассчитывают концентрацию (мкг/мл) по формуле
- $C = \Delta D * K_x / V$,
- где V – объем пробы, K_x – приведенный коэффициент экстинкции, равный: для барбитала – 180, фенобарбитала – 200, барбамила – 255, этаминала натрия – 340, в среднем – 260.

ГХ исследование барбитуратов

- Капиллярные колонки с неполярными фазами типа **НР-1, НР-5**
- Изотерма 180°C, 200°C для барбитала, барбамила, нембутала, 230°C для фенобарбитала, или программирование температуры колонки.

- Без дериватизации

- Дериватизация : метилирование в аминогруппе, для метаболитов – ацилирование или силилирование

Детекторы : ПИД, азотно-фосфорный, МСД

Подготовка пробы : в образец вводят равные количества 0,25 М серной кислоты и очищенного хлороформа, встряхивают, центрифугируют при 8000 об/мин. На анализ отбирают 1–5 мкл хлороформного извлечения.

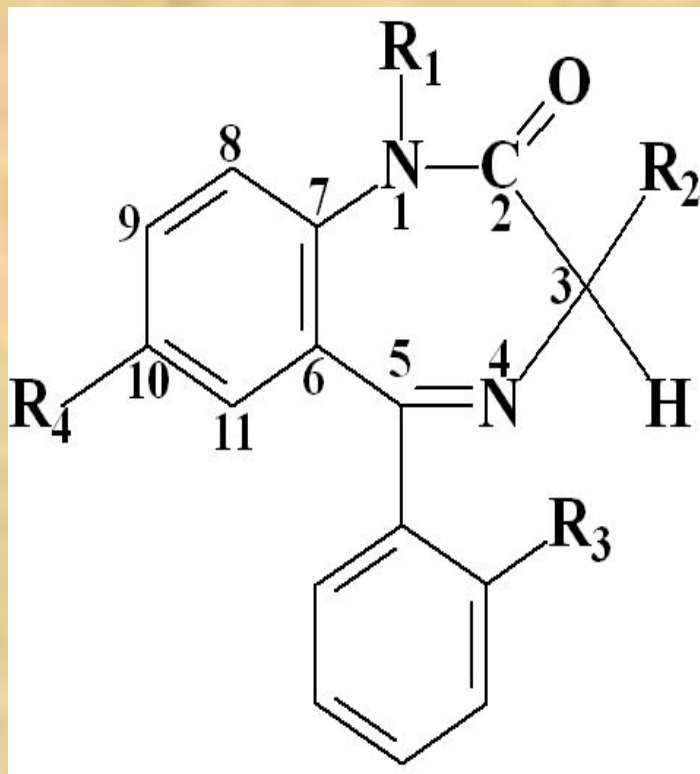
Для ГХ-МС – элюаты с ТСХ пластин.

ВЭЖХ барбитуратов

- Обращенно-фазные колонки типа C8 или C18
- Подвижная фаза: смесь ацетонитрил-дистиллированная вода (35:65) или 0,05 М водный двузамещенный фосфат аммония – метанол (60:40).
- Детектирование в УФ-свете при 220 нм или 240 нм.
- Подготовка пробы : осаждение белков 40% перхлоруксусной кислотой, центрифугирование и анализ депротеинизированной плазмы или экстракция хлороформом, смесью хлороформ-изопропанол или эфиром, упаривание и растворение в подвижной жидкой фазе

- Методы ГЖХ и ВЭЖХ с различными детектирующими системами используются как для идентификации конкретных барбитуратов, так и для их количественного определения.
- **Время детектирования в моче барбитуратов** короткого действия 24 часа, среднего действия (циклобарбитал, пентабарбитал) 48-72 часа, длительного действия (фенобарбитал) – до 7 суток.

Производные 1,4- бензодиазепина



1,4- бензодиазепин	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Оксазепам (нозепам)	H	OH	H	Cl
Диазепам (сибазон)	CH ₃	H	H	Cl
Нитразепам	H	H	H	NO ₂
Феназепам	H	H	Cl	Br
Гидазепам	$-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-\text{NH}_2$		H	Br
Медазепам (мезапам)*	CH ₃	H	H	Cl
Хлордiazепоксид (хлозепид)**	H	H	H	Cl

*Вместо C = O в положении 2 стоит группа CH₂;

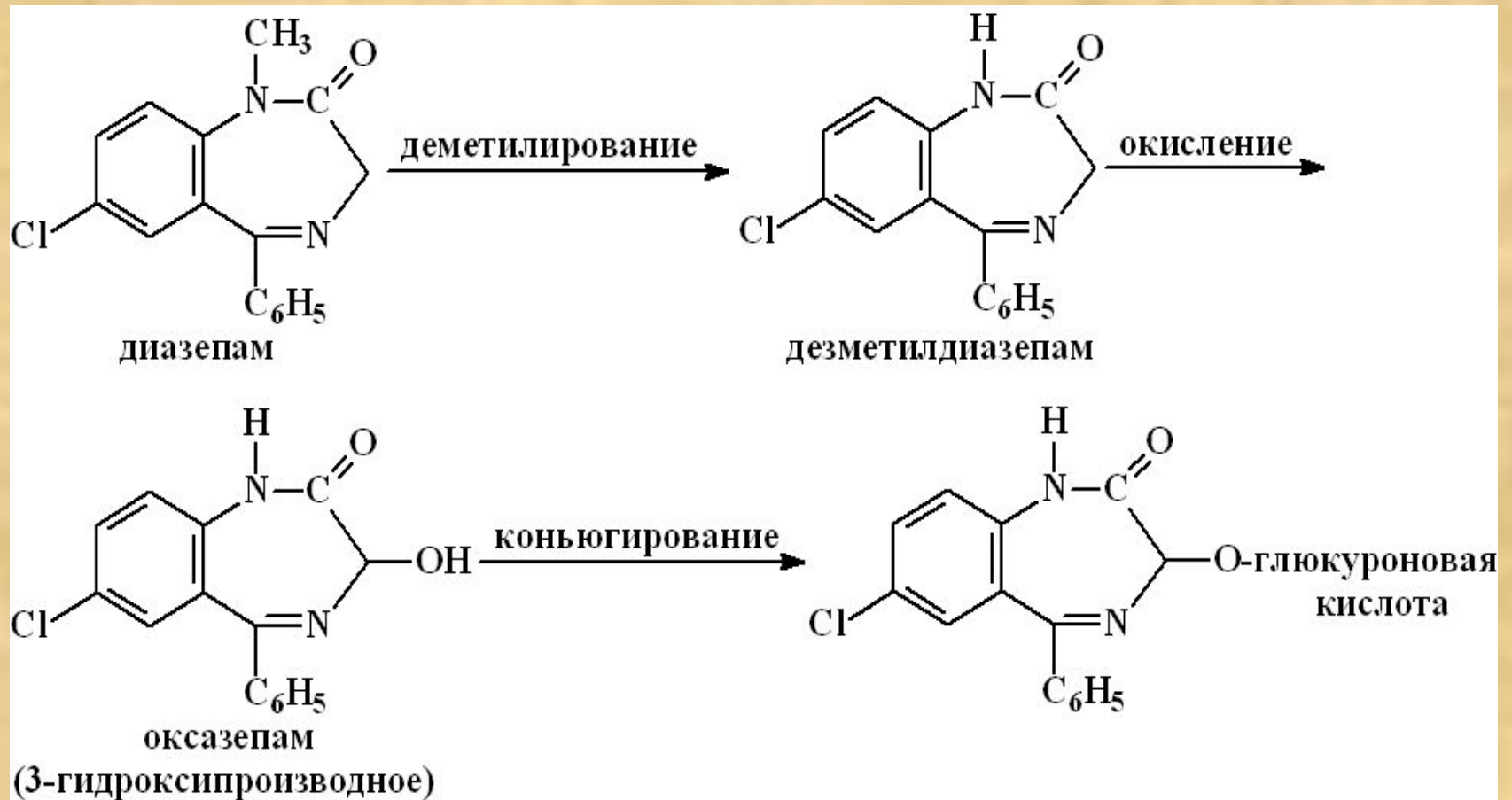
** Вместо C = O в положении 2 стоит группа C-NH(CH₃), в положении 4 стоит N→O, двойная связь N(1) = C(2).

- Механизм терапевтического действия взаимодействие со специфическими **бензодиазепиновыми рецепторами** постсинаптических ГАМК-рецепторных комплексах.
- Повышают чувствительность этих рецепторов к ГАМК. В результате усиливается действие ГАМК и тормозится нейрональная передача в соответствующих отделах ЦНС.
- **Анксиолитическая** активность - способность купировать беспокойство, страх, напряжение. Антипаническое и амнестическое действие.
- Центральный **миорелаксирующий** эффект связан с торможением полисинаптических спинальных рефлексов.
- **Противосудорожное** действие
- Облегчают засыпание.
- **В токсической дозе** : психотропное, нейротоксическое действие, обусловленное торможением ЦНС, ослаблением процессов возбуждения подкорковых образований, вставочных нейронов спинного мозга и таламуса.
- Развиваются атаксия, нарушение ориентации и координации,
- Судороги,
- Угнетение сознания до комы,
- Угнетение дыхания,
- Тахикардия, Гипотония.

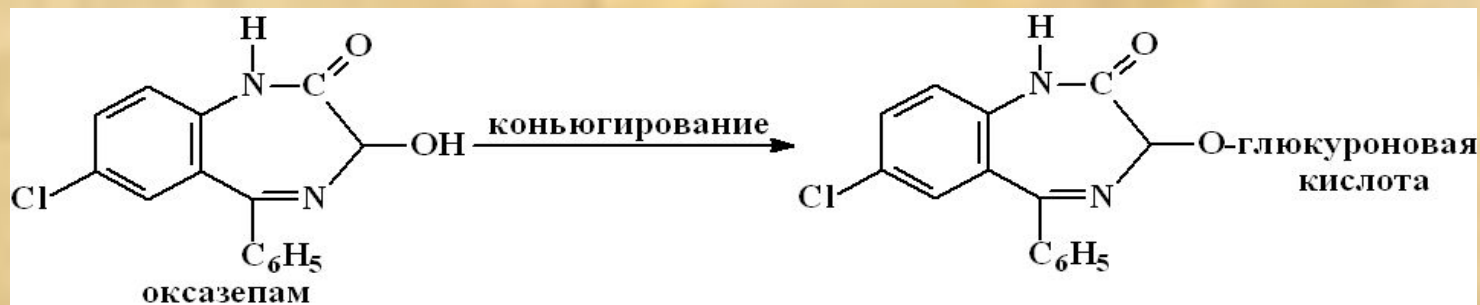
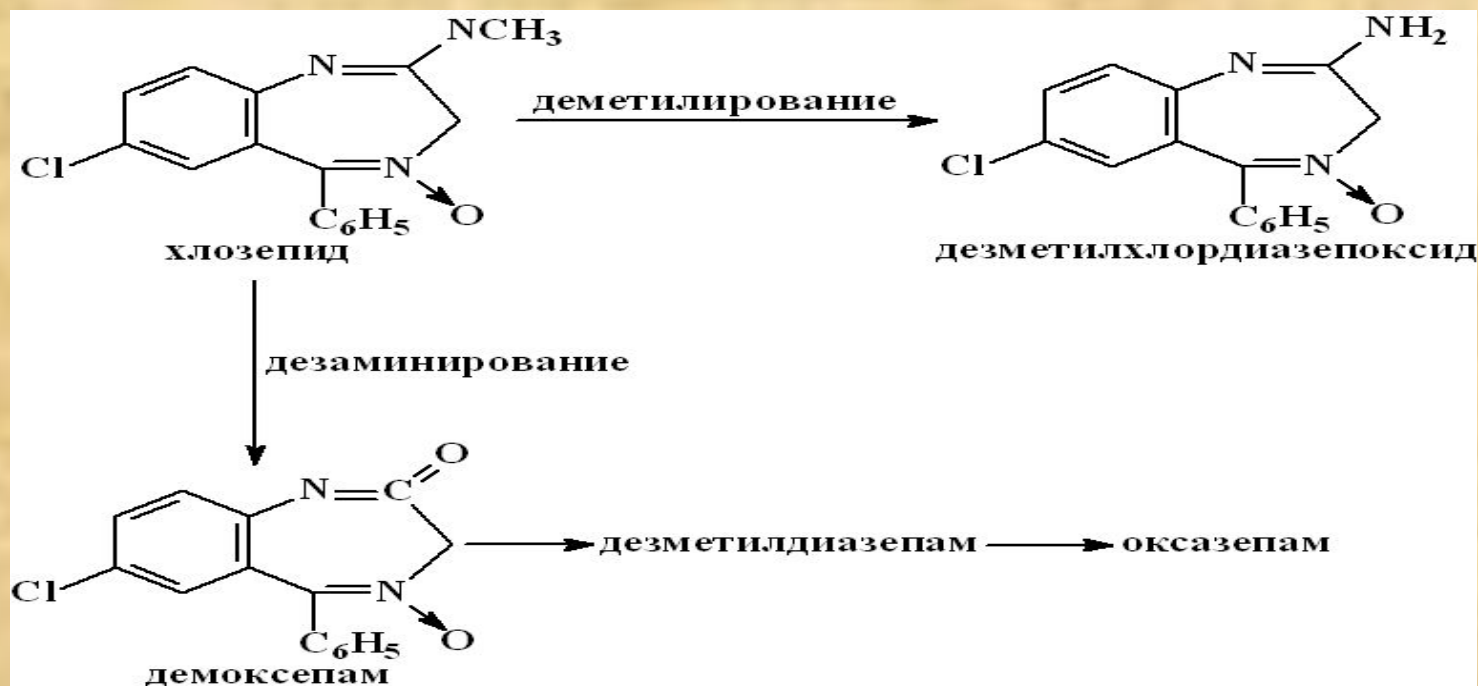
Токсикокинетические параметры производных 1,4-бензодиазепина

1,4-бензодиазепин	pKa	T $\frac{1}{2}$, ч	Выведение неизменного вещ. , %	Vd, мг/кг	Связь с белками , %
Оксазепам (нозепам)	1,7; 11,6	4 – 15	менее 10	0,5 – 2	95
Диазепам (сибазон)	3,4	20 – 96	менее 10	0,7	98
Нитразепам	3,2; 10,5	21 – 28	15	2,1	85
Хлордiazепоксид (хлозепид)	4,6	5 – 30	менее 1	0,3 – 0,6	96

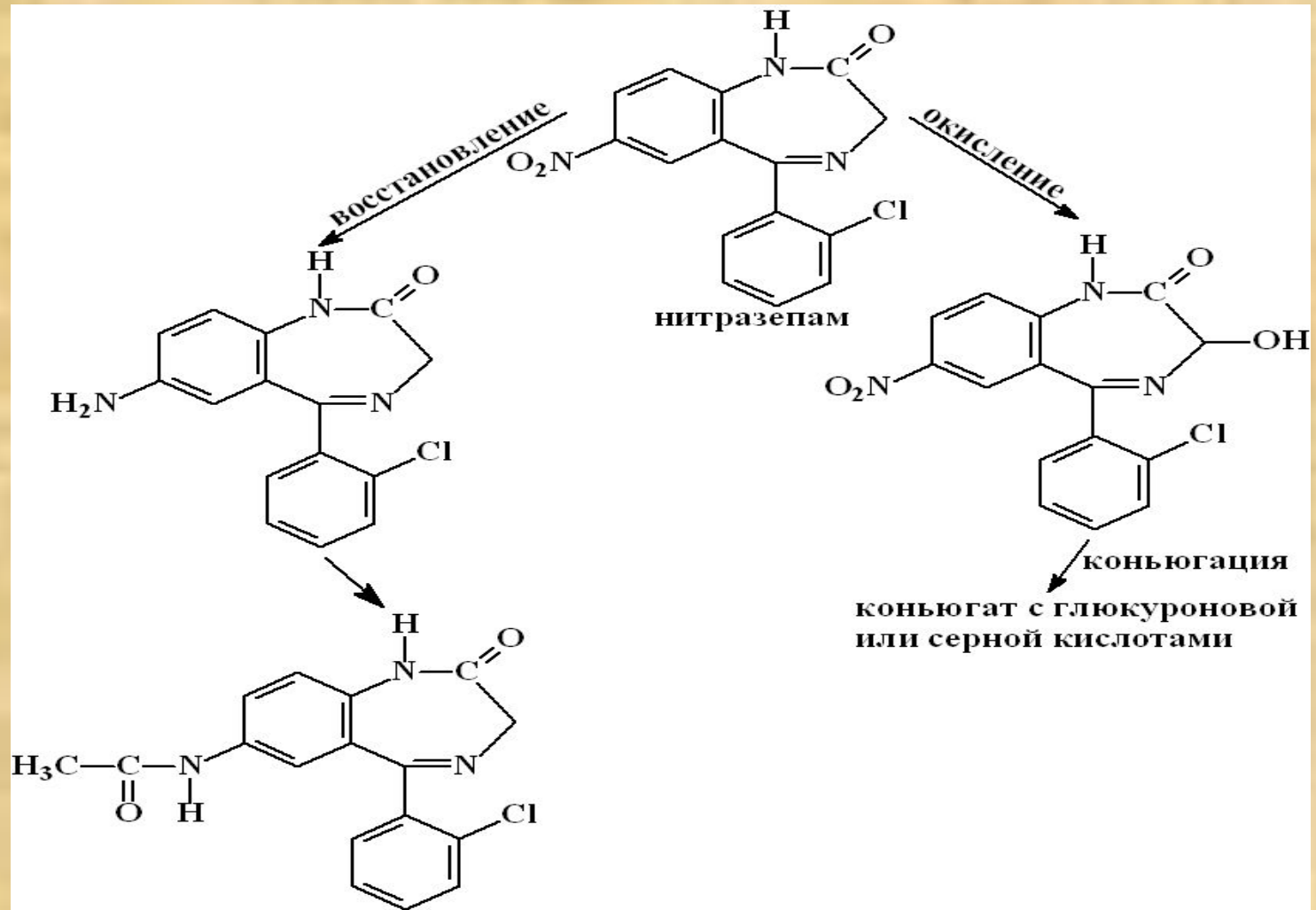
Метаболизм диазепама



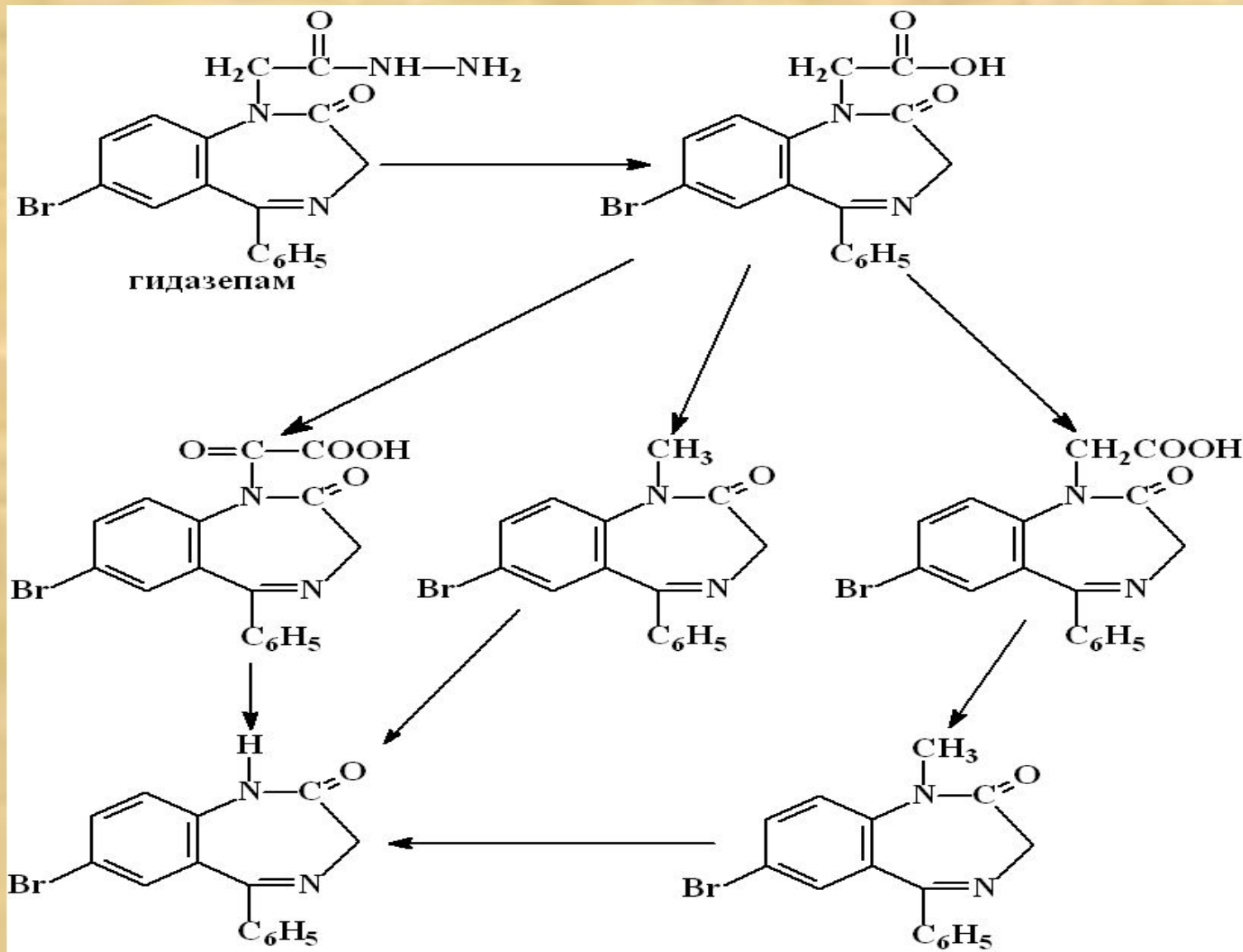
Метаболизм хлордиазэпоксида и оксазепам



Метаболизм нитразепама



Метаболизм гидазепама



Терапевтические, токсические и летальные концентрации бензодиазепинов в крови

Тип действия	Название вещества	Концентрации, мкг/мл		
		терапев- тическая	токсическая	летальная
длительного действия	хлордiazэпоксид	0,72-3,0	3,5-10	20
	дiazепам	0,125-0,75	1,5-5	10
	медазепам	0,01-0,15-0,5	0,6	н.д.
	клобазепам	0,1-0,4	н.д.	н.д.
	бромазепам	0,08-0,17	0,25-0,50	н.д.
	нитразепам	0,03-0,12	0,2-0,5	н.д.
	флунитразепам	0,005-0,015	0,05	н.д.
	клоназепам	0,03-0,06	0,1-0,12	н.д.
среднего действия	оксазепам	0,15-1-2	3-5	н.д.
	темазепам	0,3-0,9	1	н.д.
	лоразепам	0,02-0,25	0,3-0,6	н.д.
короткого действия	мидозалам	0,08-0,25	1-1,5	н.д.
	триазалам	0,002-0,02	н.д.	н.д.

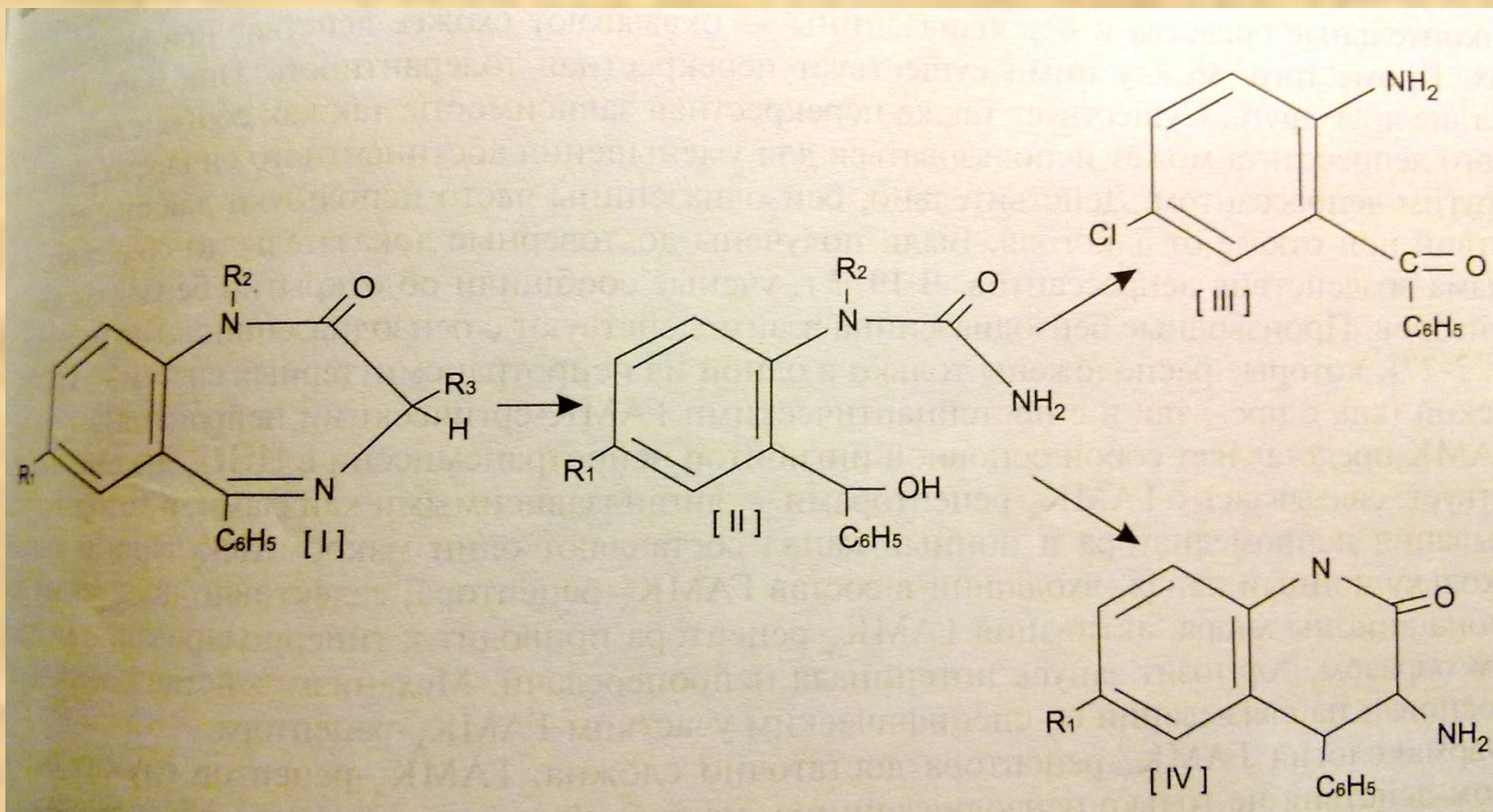
Методы изолирования производных 1,4-бензодиазепина

- Проявляют свойства как кислоты, так и основания, поэтому для выделения нативных бензодиазепинов из трупного материала используют общие методы изолирования, и ведут обнаружение как в кислых, так и в основных экстрактов

Диагностика отравлений производными 1,4-бензодиазефина

- Анализ по двум направлениям :
- **бензофенонам** и по **нативным** веществам
- Первое направление обеспечивает оценку суммарного количества бензодиазепинов и метаболитов без разделения на индивидуальные вещества.
- Кислотный гидролиз биообъекта
(6 н. HCl при 140°C в течение 60 мин),
экстракция образующихся аминокбензофенонов
(pH = 6 – 8, гептаном) ,
анализ экстрактов хроматографическими методами.

Схема кислотного гидролиза 1,4-бензодиазепинов



- I - 1,4-бензодиазепин ; II – промежуточный продукт ;
- III – аминобензофенон ; IV – аминохинолон

ТСХ анализ бензодиазепинов

Системы :

- Гексан – метанол – ацетон (15:3:1);
- Бензол – ацетон – этанол (8:1:1);
- Гексан – ацетон (3:2);
- Бензол – изопропанол – 25% раствор аммиака (85:15:1).
- **Обнаружение бензофенонов**
- Собственная окраска
- Свечение в УФ – свете
- Реакция Браттона-Маршала.

0,1% раствор NaNO_2 ,

0,5% раствор сульфамата аммония,

0,1% раствором N- α -нафтилэтилендиамина.

Предел обнаружения 1 – 5 мкг в пятне.

Обнаружение нативных соединений и метаболитов производных 1,4 бензодиазепина

- Реактив Драгендорфа образует оранжевые или желто-оранжевые пятна, бурые;
- Подкисленный йодплатинат образует пятна темного цвета;
- FPN-реактив образует продукты окисления желтого цвета;
- Реактив Марки образует продукты желтого цвета;
- Эффективно проводить гидролиз на пластинке и обнаруживать по бензофенонам, при этом значения R_f будут соответствовать таковым для нативных веществ

ГЖХ определение производных 1,4-бензодиазепина

- Набивные колонки с неполярными или слабополярными фазами типа SE-30 или OV-17 или капиллярные колонки (25 м x 0,25 мм) фаза типа HP 1, HP-5, толщина пленки 0,25 мкм.
- Температура колонки :
- 230°C для феназепама 250°C для нитразепама, программирование температуры 230 – 280 °C
- Детекторы : азотно-фосфорный, ЭЗД, МСД, ПИД.
- По нативным веществам – необходима дериватизация
- ГХ-МС проводят в элюатах с ТСХ-пластин по нативным соединениям или дериватам

ВЭЖХ определение производных 1,4-бензодиазепина

- ВЭЖХ-анализ производных бензодиазепина по нативным веществам или продуктам гидролиза.
 - Колонка с обращенно-фазным сорбентом типа C18.
 - Подвижная фаза: Ацетонитрил – 0,05 М водный раствор двузамещенного фосфата аммония 35:65 (для нативных) 55:45 (для бензофенонов).
 - Метанол – вода - 0,1М фосфатный буфер (55:25:20) рН 7,25. или (70:10:20), рН 7,67
- Детектирование в УФ-свете при 240-220 нм.
- Количественное определение по внешнему стандарту

Количественное определение производных бензодиазепина по продуктам гидролиза методом спектрофотометрии

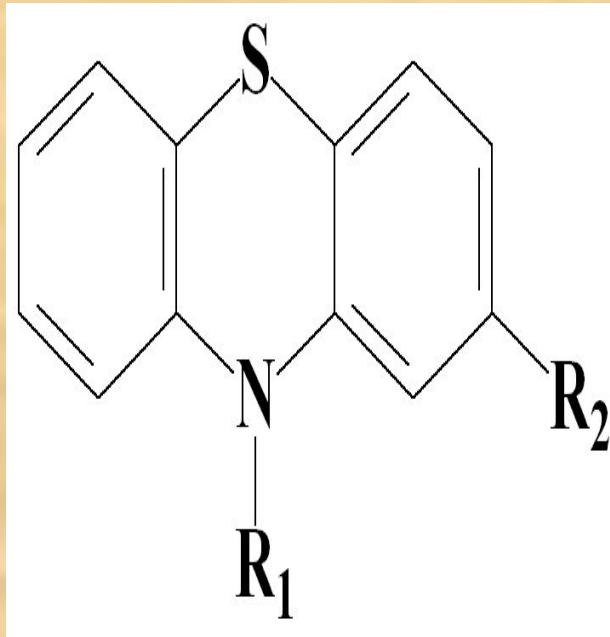
- Принцип метода - колориметрия после кислотного гидролиза бензодиазепинов до аминокбензофенонов по продуктам реакции образования азокрасителя.
- Концентрация рассчитывается по калибровочному графику,
- Методика определения. К 10 мл мочи или 2 мл крови добавляют равный объем концентрированной соляной кислоты, гидролиз на глицириновой бане 125-130°C 30 мин или кипящей водяной бане – 1 час.

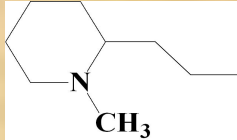
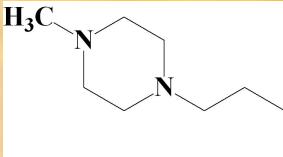
Гидролизат охлаждают, подщелачивают раствором гидроксида натрия до $pH = 8 - 9$ и экстрагируют дважды хлороформом. Объединенный хлороформный экстракт упаривают в токе теплого воздуха. Сухой остаток растворяют в 5 мл 2 н. HCl , добавляют 1 мл 0,1% раствора нитрита натрия, а через 5 минут – 0,5 мл 1% раствора сульфамата аммония (или насыщенного раствора мочевины). Раствор встряхивают до удаления пузырьков газа, добавляют 1 мл 0,1% раствора $N-\alpha$ -нафтилэтилендиаминдихлорида. Оптическую плотность измеряют через 15 минут на фотоколориметре с зеленым светофильтром, раствор сравнения – смесь реактивов для проведения реакции. Калибровочный график строят, измеряя оптическую плотность стандартных растворов бензодиазепина, после гидролиза и реакции Браттона-Маршала.

Методы ГЖХ и ВЭЖХ с различными детектирующими системами используются как для идентификации конкретных производных бензодиазепина, так и для их количественного определения.

Время детектирования в моче бензодиазепинов
короткого действия (триазолам) 24 часа,
среднего действия (темазепам,
хлордiazэпоксид) 40 – 80 суток, длительного
действия (диазепам, нитразепам) – до 7 суток.

Нейролептики. Производные фенотиазина

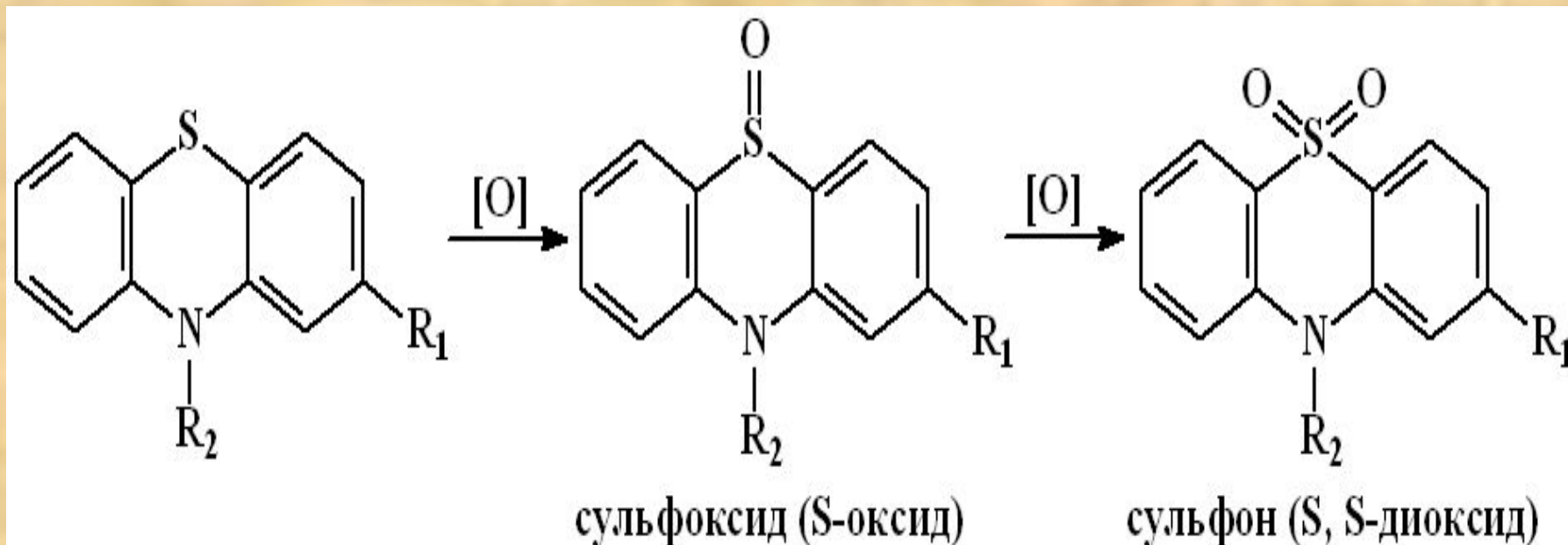


Фенотиазин	R ₁	R ₂
Хлорпромазин (Аминазин)	$\text{CH}_3-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	Cl
Левомепромазин	$\text{CH}_3-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$	-O-CH ₃
Дипразин	$\text{CH}_3-\text{CH}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)-$	H
Тиоридазин		-S-CH ₃
Трифлуоперазин (Трифтазин)		-CF ₃
Промазин (Пропазин)	$\text{CH}_3-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	H

Фармакокинетические свойства фенотиазинов

Фенотиазин	pKa	T $\frac{1}{2}$, ч	Выведение в неизме-н. вещ. %	Vd, мг/ кг	Связь с белками, %
Хлорпромазин (Аминазин)	9,3	15 – 30	менее 1	21	95 – 98
Левомепромазин	9,2	16 – 78	менее 1	30	97 – 99
Дипразин	9,1	10 – 15	2 – 3	13	75 – 93
Тиоридазин	9,5	10 – 36	менее 1	15 – 19	99
Трифлуоперазин (Трифтазин)	8,1	7 – 18	менее 1	н.д.	н.д.
Промазин (Пропазин)	9,4	20 – 31	менее 1	16 – 19	95 – 98

Метаболизм производных фенотиазина



- N-деалкилирования
- гидроксилгидроксилирование в положении 3- и 7-, и другие
- N-окисление
- образование конъюгатов путем конъюгирования с глюкуроновой и серной кислотами

Терапевтические, токсические и летальные концентрации производных фенотиазина в крови

Название вещества	Концентрации, мкг\мл		
	терапевтические	токсические	летальные
Хлорпромазин = Аминазин	0,05-0,5	0,5-1,0-2,0	3,0-12
Промазин	0,1-0,4	2,0-3,0	5,0
Левомепразин = Тизерцин	0,03-0,15	0,5	0,5-1,5
Трифлуоперазин = Стелазин	0,005-0,05	0,1-0,2	н.д.
Тиоридазин = Сонопакс	0,2–1,0	2	5
Перициазин = Неулептил	0,005-0,03	0,1	н.д.

Изолирование фенотиазинов из трупного материала

- **Метод В.Ф. Крамаренко**
- **Метод Е.М. Соломатина:** 100 г измельченного биоматериала настаивают 3 раза по 2 часа с этанолом, подкисленным щавелевой кислотой, рН 2-3. Спиртовые вытяжки упаривают на водяной бане до густоты сиропа. Примеси осаждают этанолом и фильтруют. Затем упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 100 мл воды (40-60°). Охлаждают, фильтруют. Фильтрат подкисляют щавелевой кислотой до рН 2-3, экстракция эфиром, отбрасывают эфир. Водную фазу подщелачивают 50% NaOH до рН 13. Экстракция эфиром. Реэкстракция из эфира 0,5N H₂SO₄. Водные вытяжки объединяют, упаривают, подвергают анализу.

Диагностика острых отравлений

- **Предварительная проба в моче :**
- **FNP** – реактив (смесь водных растворов хлорида железа (III), хлорной кислоты и азотной кислоты (1:9:10).
окраска от розового до сине-фиолетового цвета свидетельствует о возможном присутствии фенотиазинов или их метаболитов.
- Ложные реакции – например, имипрамин (трициклический антидепрессант) дает зеленое окрашивание, сонопакс не дает окраски с FNP.
- **Гидролиз** (или анализируют без гидролиза)
- Извлечение из мочи при **pH = 9 – 10** хлороформом

Обнаружение фенотиазинов

- *Предварительные* пробы с FNP-реактивом
- Конц. H_2SO_4 – пурпурно-красная
- Конц. HNO_3 – пурпурно-фиолетовая
- Конц. HCl – розовая, переходящая в красно-фиолетовую
- Реактив **Марки** – пурпурная
- Реактив **Манделина** – зеленая, переходящая в пурпурную
- Р-я **Витали-Морена** (для дипразина и тизерцина)

ТСХ определение фенотиазинов

Системы:

- бензол – диоксан – 25% раствор аммиака (60:35:5)
- этилацетат – ацетон – 25% раствор аммиака (50:45:4),
- общие системы для веществ основного характера:
- толуол – ацетон – этанол – 25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5)
- диоксан – хлороформ – ацетон – 25 % раствор аммиака (47,5:45:5:2,5).

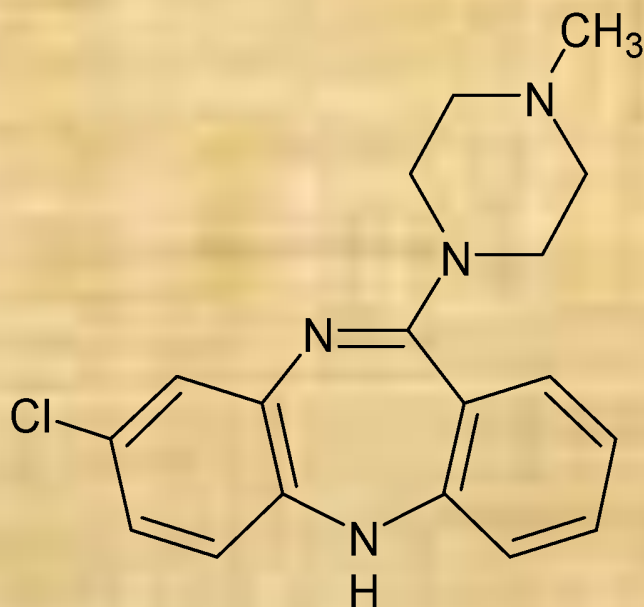
Для обнаружения фенотиазинов и их метаболитов :

- FPN-реактив образует пятна с окраской от розовой до сине-фиолетовой;
- 57% раствор хлорной кислоты, с тремя процентами 0,5% раствора нитрита натрия – пятна с окраской от розовой до зелено-голубой;
- Подкисленный йодплатинат дает окраску пятен от желтой до серо-зеленой;
- Спиртовой раствор конц. H_2SO_4 (9:1) - пятна различной окраски.

Количественное определение производных фенотиазина

- **Спектрофотометрия** продукта реакции производного фенотиазина с метилоранжем. Без предварительной очистки при отсутствии в биообъекте других веществ основного характера. При их наличии необходимы предварительное выделение и очистка (методом ТСХ)
- **ГЖХ** неполярная или слабополярная ЖФ типа НР-1, НР-5
Температура колонки изотерма 230°C, или программирование от 130 до 290°C, 20°/мин, инжектора 250°C. Детектор ДИП, азотнофосфорный, ТИД, МСД
Очистка – ТСХ, дериватизация – ацетилирование
- **ВЭЖХ** – с УФ детектором 245 -260 нм

Клозапин (азалептин, лепонекс)



Период элиминации клозапина ($T_{1/2}$) от 10 до 105 ч, Характерна энтерогепатическая циркуляция.

Связь с белками до 90 – 95%.
Абсолютная биодоступность – 50–60%.

Выведение в основном в виде метаболитов, примерно 50% с мочой и 30% с калом,. носит волнообразный характер.

Концентрации (мкг/мл) в крови:
терапевтические 0,06 – 0,6,
токсические 0,5 – 1,3, летальные 1,2 – 13,0.

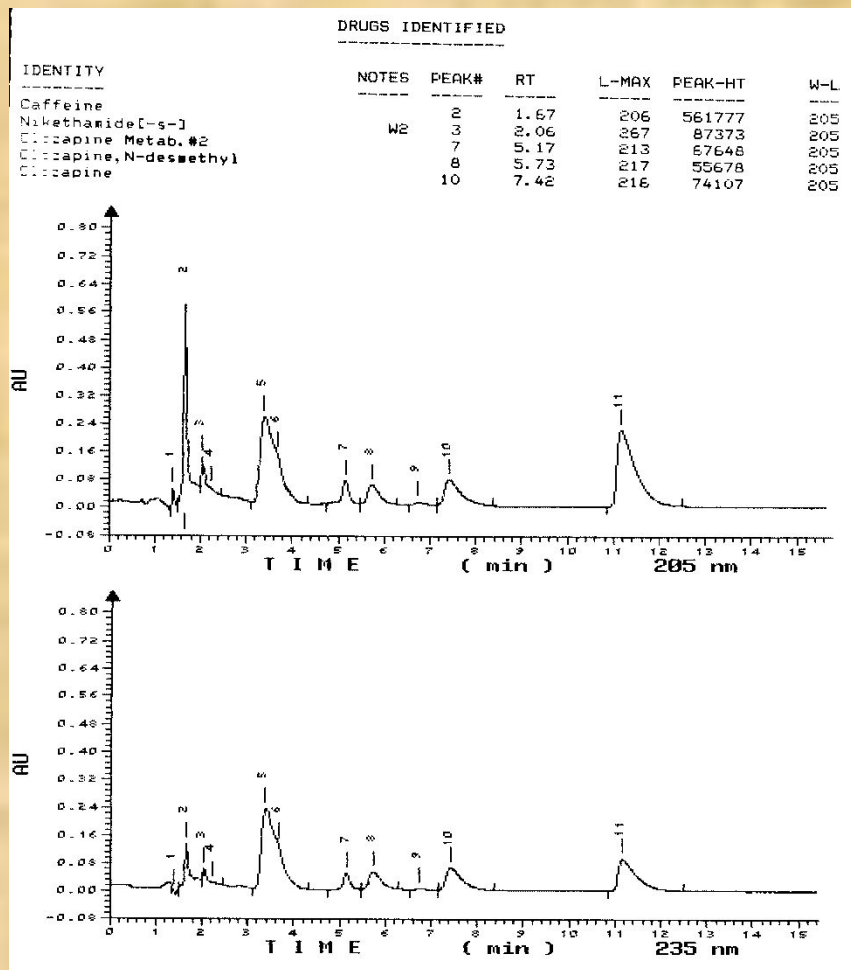
Метаболизм клозапина



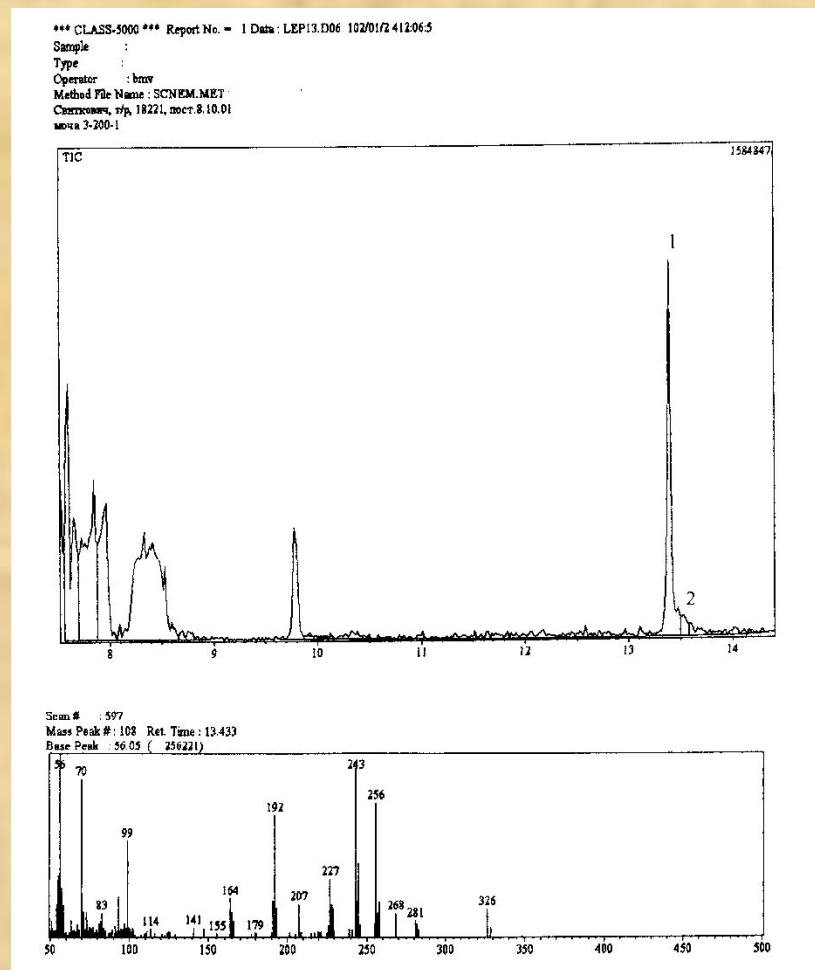
Идентификация клозапина

- Экстракция при $pH = 8 - 9$ хлороформом
- ТСХ в общих системах для веществ основного характера. Проявление:
в УФ-свете –поглощает = черный на светлом фоне,
капельно азотная кислота - оранжевое окрашивание
- ВЭЖХ, ГЖХ, ГХ-МС по общим схемам
- Масс-спектр клозапина: M 326(27%), 243(100%), 256(75%), 192(36%), 70 (30%). Определяется также N-дезметил-клозапин со спектром: M 312 (44%), 269 (22%), 256 (42%), 243 (100%), 192 (36%).
Рекомендована дериватизация анализируемых компонентов.

Определение клозапина в сыворотке крови больного с использованием ВЭЖХ-УФ (REMEDI) и GC-MS



Chromatogram of the serum : 10 - **clozapine**,
8 - **clozapine,N-desmetyl**, 7 – **clozapine metab.#2**



Chromatogram of the same serum & mass-spectra of clozapine : 1 - **clozapine**, 2 - **clozapine, N-desmetyl**;

Карбамазепин (финлепсин, тагретол)

Биодоступность при
пероральном приеме 60-85%

Связь с белками плазмы
65-95%

$T_{1/2}$ 30-40 час, при
хроническом приеме 8-17 час.

Индуктор микросомального
окисления

Особенность - широкая
вариабельность концентраций
при лечебном приеме и
близкие, порой

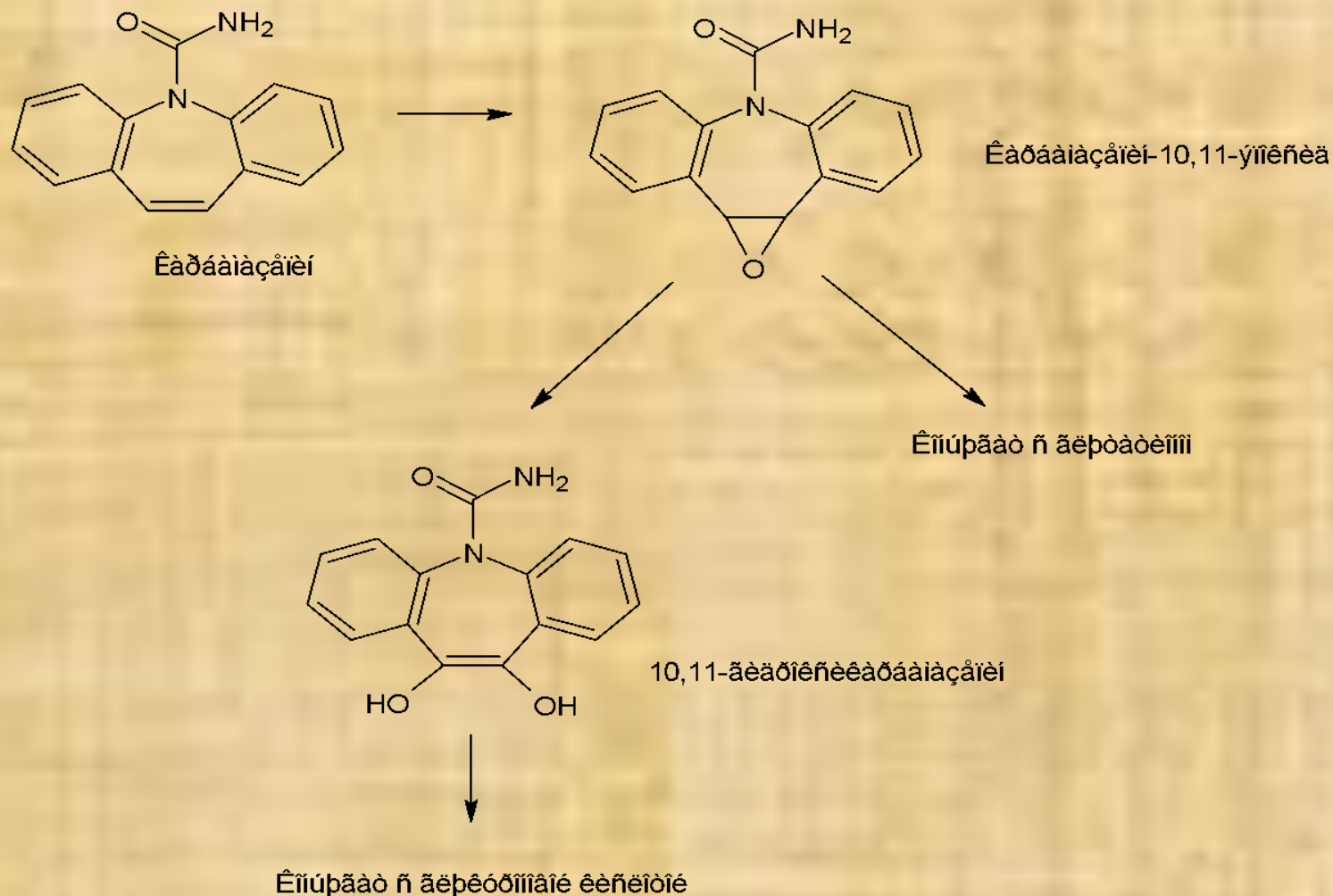
перекрывающиеся, значения
концентраций (мкг/мл):

терапевтические 4,5-9,0,

токсические 6,4—24,6

фатальные 19,0-67,4.

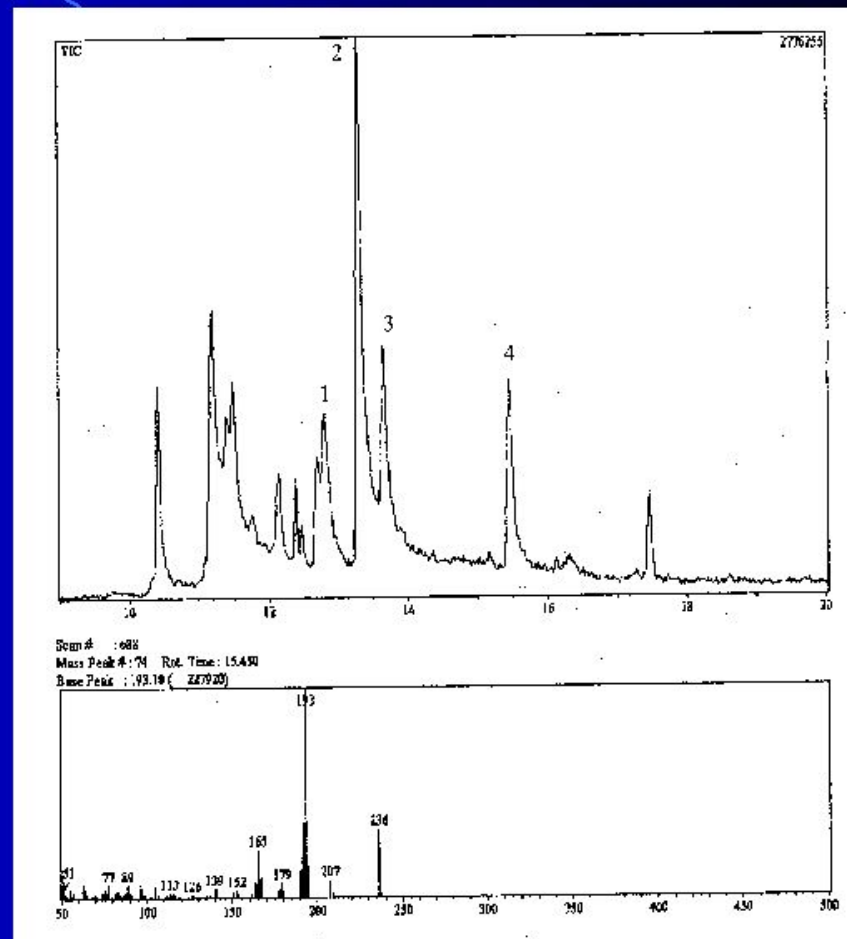
Метаболизм карбамазепина



Качественный и количественный анализ карбамазепина

- Экстракция при рН 8-9. Обнаруживается во фракциях веществ кислого и основного характера.
- **ТСХ** в общих системах растворителей. Проявление по собственной флюоресценции - голубая, метаболиты – зеленовато-голубая, усиливающееся после обработки раствором серной кислоты - «северное сияние»
- **ГЖХ** с различными детектирующими системами
- **ГХ-МС** Масс-спектр: 193(100%), М 236(85%), 165(30%).
- **ВЭЖХ**
- **ПФИА** в сыворотке (по сумме с метаболитами)

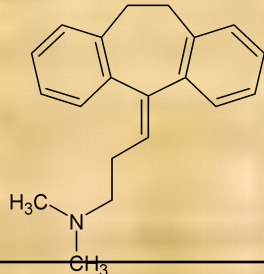
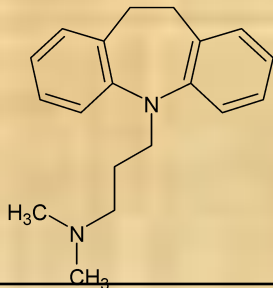
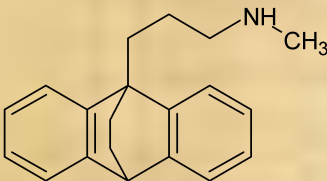
Диагностика Карбамазепина в сыворотке крови больного с помощью REMEDI HS and GC-MS

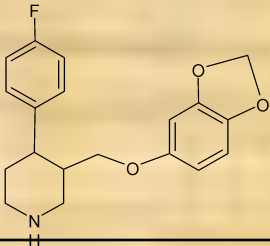
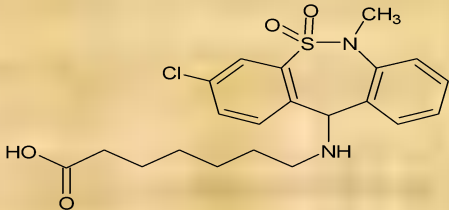
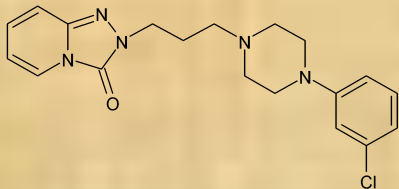
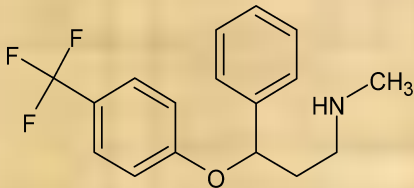


Chromatogram of the serum : 4 – carbamazepine
RT 1.88; 3 - carbamazepine-10,11-epoxide RT 1,64

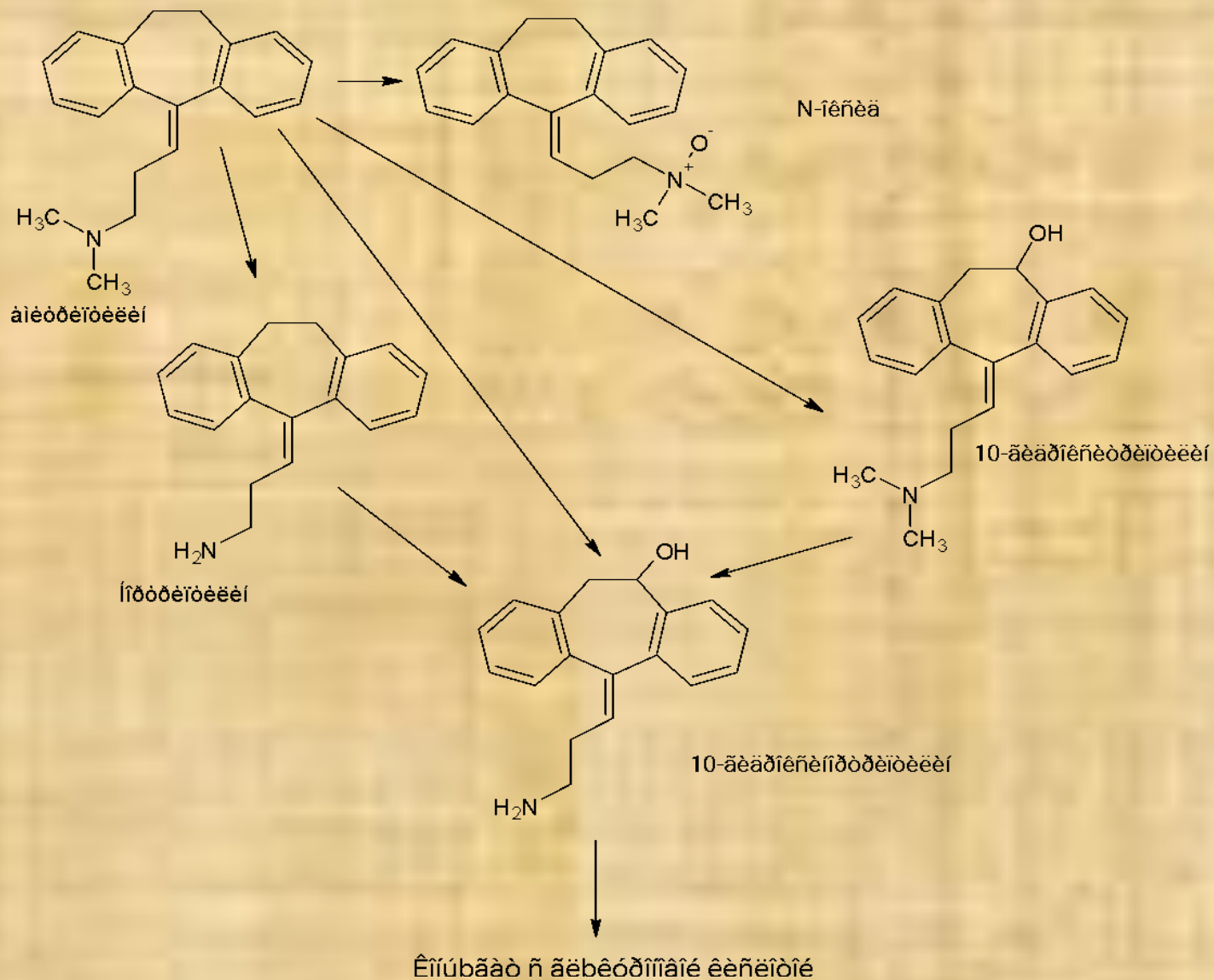
Chromatogram & mass-spectra of carbamazepine
of the same serum: 4 – carbamazepine RT 15.45

Антидепрессанты трициклические

антидепрессант	pKa	T $\frac{1}{2}$, ч	Vd	Связь с белком, %	Выведение неизмен. %
Амитриптилин 	9,4	8-51	6 - 10	95 - 98	менее 8
Имипрамин 	9,5	9-20	20 – 40	85 - 90	Менее 10
Мапротилин 	10,5	20-70	14 - 22	90	Менее 10

Пароксетин 	9,9	7-37	3 - 28	95	Менее 10
Тианептин 	6,3 9,8	2,5 - 4	0,5 – 0,8	95	Менее 3
Тразодон 	6,1	4 - 7	0,9 – 1,5	90	Менее 1
Флуоксетин 	9,5	24 - 72	28 - 42	95	Менее 10

Метаболизм амитриптилина



Терапевтические , токсические и летальные концентрации трициклических антидепрессантов в крови

Название вещества	Концентрация, мкг/мл		
	Терапевтическая	токсическая	летальная
Амитриптилин	0,035- <u>0,092</u> -0,2 02	0,046- <u>0,168</u> -0,42 7 0,27-5,0	0,55- <u>3,3</u> -16,7
Нортиптилин	0,046- <u>0,186</u> -0,2 53	0,5- <u>0,8</u> -1,2	10- <u>10,78</u> -13,26
Имизин	0,009- <u>0,035</u> -0,1 26	0,1- <u>0,41</u> -3,2	0,85- <u>4,52</u> -13,1
Дезипрамин	0,011- <u>0,032</u> -0,11	0,40-1,5	3,8- <u>10,0</u> -16,8

Качественное исследование амитриптилина

- **ТСХ.**

- Экстракция из мочи при $\text{pH} = 9 - 10$ хлороформом или эфиром.
- Системы:
 - этилацетат – ацетон – этанольный аммиак (50:45:5),
 - бензол – диоксан – 25% раствор аммиак (60:35:5),
 - бензол – ацетон (80:20) или других подобных.
- Проявление капельно концентрированной серной кислотой – оранжево-кирпичная окраска.
- Чувствительность 0,1 мкг в пятне.

- **Иммуно-химические методы на ТАД (суммарно)**

Количественное определение амитриптилина

- **экстракционно-фотометрический** метод по комплексу с бромфеноловым синим после экстракционной и хроматографической очистки. Определяется сумма веществ. Чувствительность 1 мкг/мл (определение летальных, а не токсических концентраций)
- **ГЖХ с ДИП** (свободные основания). ПрО 1 мкг/мл. Дериваты - трифторацетатные производные Чувствительность 0,2 мкг/мл.
- **ГХ – ТИД и МСД** чувствительность 0,01-0,05 мкг/мл даже при анализе свободных оснований.
- **ПФИА и ИФА** (суммарно с метаболитами)

БЛАГОДАРЮ

ЗА ВНИМАНИЕ