

Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения Москвы  
Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава РФ

К ВОПРОСУ ОБ ИЗОЛИРОВАНИИ ПРОИЗВОДНЫХ  
БАРБИТУРОВОЙ КИСЛОТЫ  
ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА



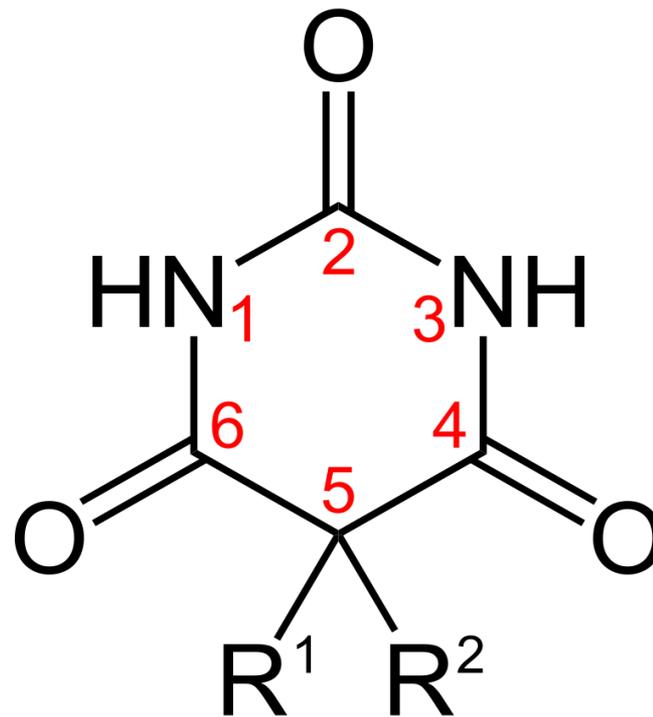
Судебный эксперт-химик Николаева Ольга Олеговна,  
судебный эксперт-химик Онищенко Марина Михайловна,  
д.м.н. зав. отделом специальных лабораторных исследований Асташкина Ольга Генриховна

# БАРБИТУРАТЫ

**Барбитураты** — группа лекарственных средств, производных барбитуровой кислоты, оказывающих угнетающее влияние на центральную нервную систему. В зависимости от дозы их эффект может проявляться от состояния лёгкого успокоения до стадии наркоза.

Ранее барбитураты широко назначались в качестве успокаивающих и снотворных средств. В настоящее время сфера их применения существенно ограничена, так как, во-первых, они имеют узкую терапевтическую широту, что может привести к передозировке и возникновению токсических эффектов, а во-вторых, при длительном приёме барбитуратов возможно развитие привыкания и лекарственной зависимости.

Барбитуровая кислота,  
производными которой  
являются барбитураты,  
была открыта немецким  
химиком Адольфом фон  
Байером 4 декабря 1864  
года, в праздник святой  
Варвары



Название	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	2
<a href="#">Барбитуровая кислота</a>	-H	-H	O
<a href="#">Аллобарбитал</a>	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>	O
<a href="#">Амобарбитал</a>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	O
<a href="#">Барбитал</a>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O
<a href="#">Бутабарбитал</a>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CH(CH <sub>3</sub> )-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O
<a href="#">Буталбитал</a>	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	O
<a href="#">Циклобарбитал</a>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> (Циклогексенил-1)	O
<a href="#">Гептабарбитал</a>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> (Циклогептенил-1)	O
<a href="#">Пентобарбитал</a>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CH(CH <sub>3</sub> )-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	O
<a href="#">Фенобарбитал</a>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> (Phenyl)	O
<a href="#">Секобарбитал</a>	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>	-CH(CH <sub>3</sub> )-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	O
<a href="#">Тиалбарбитал</a>	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub>	-C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> (Циклогексенил-1)	S
<a href="#">Тиобарбитал</a>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	S
<a href="#">Тиопентал</a>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CH(CH <sub>3</sub> )-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	S
<a href="#">Винилбитал</a>	-CH=CH <sub>2</sub>	-CH(CH <sub>3</sub> )-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	O

# ЭФФЕКТЫ БАРБИТУРАТОВ

Барбитураты оказывают дозозависимое угнетающее влияние на центральную нервную систему: от состояния легкой [седации](#) до [комы](#).

В настоящее время их применение ограничено: назначаются в качестве противосудорожных средств и средств для вводного наркоза.

В умеренных дозах барбитураты вызывают состояние эйфории, близкое к состоянию опьянения.

По аналогии с алкоголем, барбитураты могут вызывать потерю координации, нетвердую походку и невнятную речь.

Нарушение координации движений и [атаксия](#) связаны с угнетением спинальных полисинаптических [рефлексов](#) и супраспинальной регуляции.

Потеря контроля над [эмоциями](#) и неконтролируемое [поведение](#) также являются типичными последствиями применения барбитуратов и обусловлены их влиянием на [лимбическую систему](#).

# ЭФФЕКТЫ БАРБИТУРАТОВ

Противотревожный эффект и сон вызываются высокими дозами, ещё более высокие дозы вызывают хирургический наркоз.

Барбитураты нарушают концентрацию внимания, память и способность к обучению. Могут вызывать фиксационную амнезию.

Вегетотропные эффекты включают в себя повышение тонуса блуждающего нерва, приводящего к бронхоспазму, являющемуся причиной большинства смертельных исходов, связанных с употреблением барбитуратов.

В больших дозах барбитураты, также благодаря повышению тонуса блуждающего нерва, оказывают кардиодепрессивный эффект: замедляют частоту сердечных сокращений и атриовентрикулярную проводимость, понижают артериальное давление и нарушают деятельность желудочно-кишечного тракта.

# МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ БАРБИТУРАТОВ

В химико-токсикологическом анализе для выделения барбитуратов используются такие методы как изолирование подкисленным спиртом метод Стаса-Отто, подкисленной водой метод А.А. Васильевой, подщелоченной водой метод Валова и др

Все эти методы являются громоздкими, получаемые извлечения загрязнены примесями соэкстрактивных веществ, препятствующие идентификации и количественному определению производных барбитуровой кислоты.

# Сравнительная оценка методов изолирования

## метод Стаса-Отто:

- определяется 46-50% вещества
- для выполнения анализа требуется большая затрата времени (~ 14 дней),
- дополнительная очистка полученных извлечений,
- значительный расход (до 0,5 л) этанола.

# Сравнительная оценка методов изолирования

**метод Валова** – определяется 33-37% вещества

- При изолировании барбитуратов подщелоченной водой (метод Валова) исходят из того, что в щелочной среде фенобарбитал переходит в растворимую соль, что положительно влияет на его изолирование.
- Однако растворы некоторых белковых веществ в щелочной среде (рН ~12) часто превращаются в гели.
- Происходит более глубокая деструкция белковых веществ от прибавления щелочей, чем в присутствии кислот, что требует их дополнительной очистки. при рН=13 и выше некоторые барбитураты подвергаются частичному разложению

# Сравнительная оценка методов изолирования

**метод А.А. Васильевой - 28-30%**

Метод изолирования барбитуратов подкисленной щавелевой кислотой (метод А.А. Васильевой) не обеспечивает выделения достаточных для анализа количеств фенобарбитала. Видимо, это связано с тем, что полученные вытяжки загрязнены примесями и требуют дополнительной экстракционной очистки, что приводит к потерям.

# Цель исследования , материалы, методы

- разработать метод, позволяющий достоверно определять значимые показатели токсических и терапевтических концентраций фенобарбитала, имеющий хорошую доступность, воспроизводимость, доказательность, простоту пробоподготовки и позволяющего получить максимально очищенные экстракты.

Для достижения поставленной цели нами бы использован трупный биоматериал, взятый при судебно-медицинских исследованиях трупа при подозрении на отравление сильнодействующими веществами. В экспериментальных целях проведено 40 исследований биоматериала, в том числе 20 с гнилостными изменениями.

На первом этапе биоматериал исследовался стандартными методами извлечения. При обнаружении барбитуратов нами было проведено извлечение по разработанной нами методике.

# Результаты исследования

при обнаружении в трупном материале производных 1,4-бенздиазепина по их безофенонам кислотным гидролизом выявлена определённая закономерность: отдельные лекарственные вещества не подвергаются деструкции в процессе гидролиза и большинство из них образуют соли с сильными минеральными кислотами, имеющими высокую температуру плавления, либо сами являются веществами с выраженными кислыми свойствами и также имеющими высокую температуру плавления - свыше  $120^{\circ}\text{C}$ , то есть выше температуры глицириновой бани. Возможно, этот факт влияет на устойчивость этих веществ в процессе кислотного гидролиза (температура плавления фенобарбитала от  $174^{\circ}$  до  $178^{\circ}\text{C}$ ).

# Предлагаемый метод выделения и очистки фенобарбитала в биоматериале

- к навеске биологического материала (печень, почка, желудок – по 2 г; кровь моча, желчь – по 1 мл) добавляют последовательно растворы соляной кислоты и вольфрамата натрия (для осаждения белков);
- смесь тщательно перемешивают и помещают в сушильный шкаф при температуре 120°C, полученный гидролизат изолируют эфиром и испаряют;
- сухой остаток растворяют в растворе трифторуксусной кислоты в ацетонитриле, добавляют гептан (для очистки извлечения), помещают в пробирку «Эппендорф» и центрифугируют 2 мин при 12000 об/мин;
- центрифугат переносят в виалу и исследуют на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1200.
- Количественное определение фенобарбитала, выделенного с помощью предложенного выше метода, проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе с диодно-матричным детектором
- Условия хроматографирования стандартны.

# Результаты исследования

процент выхода вещества для печени - 39,7-40,0%, для крови - 49,4-50,0%, для мочи – 89,0-93,5%.

доказано, что данный метод может быть использован при работе с биоматериалом, взятого из трупов с выраженными гнилостными изменениями.

# Выводы

- метод прост в выполнении, не требует дополнительных финансовых затрат;
- на анализ (вместе с количественным определением) требуется не более 2-х часов рабочего времени, что позволяет существенно сократить сроки проведения экспертных исследований;
- получены максимально очищенные экстракты фенобарбитала по сравнению с другими методами;
- данный метод применима при исследовании трупного биоматериала, в том числе с выраженными гнилостными изменениями;
- метод предусматривает использование малого количества биологического материала (по 2 г внутренних органов, по 1 мл биологических жидкостей), что имеет важное значение при проведении химико-токсикологического анализа.

Спасибо за  
внимание!