

OSCILOPOLAROGRAFICKÁ STUDIE BARBITURÁTŮ

J. PROKEŠ, F. VOREL

Laboratoř pro toxikologii a soudní chemii
Fakulty všeobecného lékařství Karlovy university v Praze

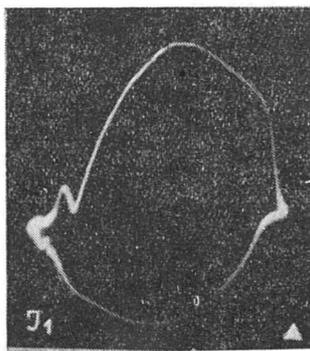
Barbituráty skýtají zářez v prostředí Na_2HPO_4 odpovídající tvorbě soli se rtuťí. Tohoto zářezu lze využít k důkazu a semikvantitativnímu stanovení barbiturátů v toxikologické analýse.

K této práci nás vedl nedostatek rychlé a dostatečně specifické metody důkazu barbiturátů pro zpřesnění diagnostiky otrav. Studovali jsme oscilopolarografické chování [funkce $dE/dt = f_1(E)$] derivátů kyseliny barbiturové v 0,2 M- Na_2HPO_4 . Byl sledován vliv látek povrchově aktivních (želatiny, aneurinu) a vliv výšky rezervoáru na hloubku zářezu, dále posun redukčního potenciálu a změna hloubky zářezu během růstu kapky. Byla vypracována oscilopolarografická metoda pro důkaz a semikvantitativní stanovení barbiturátů. Metoda byla uvedena do toxikologické praxe.

Klasická polarografie barbiturátů byla popsána v řadě prací [1—6]. V alkalickém pufru nebo v 0,05 M tetraboritanu sodném s 1 M dusičnanem draselným za použití tryskové elektrody je popisována anodická vlna, která přísluší tvorbě soli nebo komplexu zkoumaného barbiturátu se rtuťí. Oscilopolarografickým a polarografickým stanovením fenobarbitalu vedle barbitalu po nitraci se zabýval ve své práci R. Kalvoda [7]. Naším úkolem bylo vypracovat rychlou a dostatečně spolehlivou metodu pro toxikologii.

Experimentální část a výsledky

Jako standardu jsme použili sodné soli kyseliny diethylbarbiturové (výrobce Spofa), k přípravě roztoku 0,02 M- Na_2HPO_4 jako elektrolytu bylo použito redestilované vody a soli o čistotě „pro analýsi“.

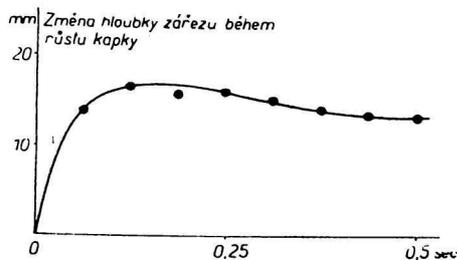
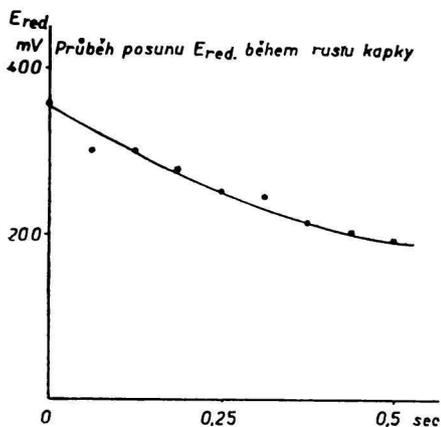


Oscilogram 1. Oscilopolarografická křivka $dE/dt = f_1(E)$ natriumveronalu v 0,2 M- Na_2HPO_4 .

Práce byla prováděna na osciloskopu Křížík T 531 spojeném s derivačním členem a polarizačním obvodem podle J. Heyrovského a J. Forejta [8]. Katodou byla rtuťová kapková elektroda, anodou buď hladina rtuťi v nádobce, nebo elektroda grafitová, jak popisují K. Habersberger a J. Zýka [9]. Záznamy jsme prováděli fotografováním křivek na stínítku osciloskopu nebo snímáním kamerou Paillard.

Barbituráty poskytují charakteristický katodický a při vyšších koncentracích i anodický zářez v prostředí 0,2 M- Na_2HPO_4 (oscilogram 1). Hloubka zářezu se zmenšuje prakticky lineárně s klesající výškou rezervoáru. Želatina potlačuje od určité koncentrace typický barbiturátový zářez. Podobně působí i aneurin. Koncentrace aneurinu, při níž dochází k vymizení zářezu barbiturátu, není závislá na koncentraci barbiturátu.

Pro oscilopolarografické chování barbiturátů je charakteristický posun redukčního potenciálu během růstu kapky. Průběh děje jsme zachytili na film a pod mikroskopem jsme proměřili redukční potenciál zářezu (vztaheno na Tl). Byl zjištěn posuv k pozitivním hodnotám (graf 1).



Graf 1. Průběh posunu E_{red} během růstu kapky.

Graf 2. Změna hloubky zářezu během růstu kapky.

Hloubka zářezu, který přísluší barbiturátům, prakticky se nemění až na rychlý vzestup krátce po odkápnutí, kdy zářez vzroste z nulové hodnoty na hodnotu měřenou (graf 2). Časový interval byl vypočítán z frekvence obrázků na proměřovaném filmu.

Obdobně jako barbituráty se chovají i látky typu Doridenu a v řádově vyšších koncentracích i deriváty hydantoinu. Metabolity barbiturátů rovněž poskytují shora popsaný zářez.

Jednotlivé deriváty kyseliny barbiturové se od sebe liší svou oscilopolarografickou aktivitou (tab. 1). S tím je nutno počítat při semikvantitativním stanovení. Jak vyplývá z tab. 1, nelze prakticky z biologického materiálu touto metodou stanovit hexobarbital.

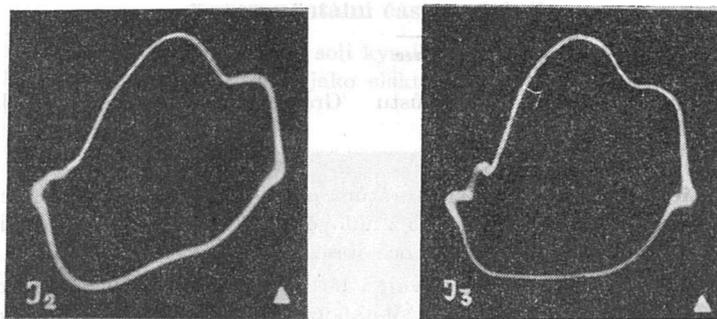
Stanovení ruší látky proteinového charakteru z moči, které musíme oddělit dále uvedenou papírovou chromatografií. Ruší i aneurin, který tímto postupem nelze oddělit.

Tabulka 1

Derivát	Hloubka zářezu v mm Koncentrace $1 \cdot 10^{-3}$ M
kyselina barbiturová	12
kyselina diethylbarbiturová	11
kyselina allylisopropylbarbiturová	9
kyselina fenylethylbarbiturová	6,5
kyselina ethylisoamylbarbiturová	6,5
kyselina ethylmethylbutylbarbiturová	5
kyselina dimethylcyklohexenylbarbiturová	1 až v koncentraci $1 \cdot 10^{-2}$ M

Metoda semikvantitativního stanovení barbiturátů v moči

Kyselý éterický extrakt z 10 ml moči odpaříme, odparek po rozpuštění v alkoholu a nanesení na chromatografický papír Whatman 3 vyvíjíme v acetonu asi 10 minut. Z papíru po vysušení vystříhneme čelo, se kterým barbituráty postupují, a eluujeme 5 minut do 2 ml 0,2 M- Na_2HPO_4 ve zkumavce na vodní lázni. Po ochlazení slijeme roztok do polarografické nádoby a po eventuálním zředění pozorujeme a proměříme zářez na stínítku osciloskopu (oscilogram 2 a 3).



Oscilogram 2. Oscilopolarografická křivka $dE/dt = f_1(E)$ extraktu z moči přímo bez přečištění v 0,2 M- Na_2HPO_4 . Oscilogram 3. Oscilopolarografická křivka $dE/dt = f_1(E)$ extraktu z moči přečištěné chromatografií v 0,2 M- Na_2HPO_4 .

Pro semikvantitativní stanovení se nejlépe hodí koncentrace barbiturátů v rozmezí $1 \cdot 10^{-4}$ M až $4 \cdot 10^{-4}$ M. Není-li zářez patrný, přesvědčíme se přidáním standardu natriumveronalu do konečné koncentrace $3 \cdot 10^{-4}$ M, nejsou-li přes všechno čištění přítomny látky rušící stanovení, tj. neobjeví-li se zářez. Tento případ je však velmi řídký. Množství

barbiturátů zjistíme pak z kalibrační křivky luminalu, neboť tento derivát nacházíme u většiny otrav.

Závěr

Popsaná metoda je rychlá a jednoduchá, její citlivost odpovídá praktickému použití pro klinické potřeby, kde jde o řádové zjištění barbiturátů vylučovaných v moči. V praxi se nám dobře osvědčila.

ОСЦИЛЛОПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БАРБИТУРАТОВ

Я. ПРОКЕШ, Ф. ВОРЕЛ

Лаборатория токсикологии и судебной химии
Медицинского факультета Карлова университета в Праге

Выводы

Барбитураты проявляются характеристическим зубцом при включении $dE/dt = f_1(E)$ в среде $0,2\text{ м-Na}_2\text{HPO}_4$. В ходе роста капли смещается потенциал восстановления к более положительным данным. Желатин подавляет, также как и анеурин, полярографическую активность барбитуратов. Глубина зубцов с понижением высоты ртутного резервуара понижается.

Приобретенные данные использовались к разработке метода качественного и количественного определения этих веществ прежде всего для целей токсикологических анализов.

OSZILLOPOLAROGRAPHISCHE STUDIE DER BARBITURATE

J. PROKEŠ, F. VOREL

Laboratorium für Toxikologie und gerichtliche Chemie
der Medizinischen Fakultät an der Karlsuniversität in Praha

Zusammenfassung

Die Barbiturate bieten in einer Grundlösung von $0,2\text{ м-Na}_2\text{HPO}_4$ an der Kurve $dE/dt = f_1(E)$ einen Einschnitt, dessen Reduktionspotential sich im Verlauf des Tropfenwachstums zu positiveren Werten verschiebt. Gelatine sowie auch Aneurin bedrücken die Aktivität des Barbiturates. Die Einschnitttiefe vermindert sich mit dem Erniedrigen des Quecksilberbehälters.

Es wurde eine Methode zur qualitativen und semiquantitativen Bestimmung dieser Verbindungen für die Zwecke der toxikologischen Analyse ausgearbeitet.

OSCILLOPOLAROGRAPHIC STUDY OF BARBITURATES

J. PROKEŠ, F. VOREL

Laboratory of Toxicology and Forensic Chemistry,
Faculty of General Medicine, The Charles University, Praha

Summary

Barbiturates yield a characteristic incision at the curves of dependence $dE/dt = f_1(E)$ in medium of $0,2\text{ м-Na}_2\text{HPO}_4$. During the growth of the drop the reduction potential

is shifted towards the more positive values. Gelatin, as well as aneurin exert a suppressive influence on the polarographic activity of barbiturates. The depth of the incision is decreased with decreasing height of the reservoir.

These findings were used in elaboration of a method for detection and semiquantitative determination of these substances for the purpose of toxicological analyses.

LITERATURA

1. Koryta J., Zuman P., Chem. listy 46, 389 (1952). — 2. Koryta J., Zuman P., Collection 18, 197 (1953). — 3. Zuman P., Koryta J., Kalvoda R., Chem. listy 47, 345 (1953). — 4. Zuman P., Koryta J., Kalvoda R., Collection 18, 350 (1953). — 5. Kalvoda R., Zýka J., Českoslov. farm. 2, 154 (1953). — 6. Kalvoda R., Zýka J., Sborník I. celostátní konference analytické chemie, Praha 1953, 224. — 7. Kalvoda R., Českoslov. farm. 3, 300 (1954). — 8. Heyrovský J., Forejt J., *Oscilografická polarografie*, Praha 1953, 85. — 9. Habersberger K., Zýka J., Českoslov. farm. 5, 264 (1956).

Adresa autorů:

PhMr. Jaroslav Prokeš, MUDr. František Vorel, Praha II, Kateřinská 32, Laboratoř pro toxikologii a soudní chemii Fakulty všeobecného lékařství Karlovy university.