**Анализ препаратов, производные азепина и бензодиазепина.**

**КОНДЕНСИРОВАННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ АЗЕПИНА И ДИАЗЕПИНА**

Азепин представляет собой семичленный гетероцикл с одним атомом азота (нумерация циклов начинается с атома азота). В зависимости от расположения атома азота за счет двойных связей азепин можно описать в нескольких изомерных формах, например:

H

b

f

1

0

f

5

6

7

1

1

1

2

3

4

1

N

H

4

3

9

2

g

6

7

8

N

H

5

6

7

1

2

3

4

N

H

a

b

c

d

e

 1H-азепин 3H-азепин 5H-дибенз[b,f]азепин

На состояние двойных связей указывают с помощью «внешних» атомов водорода (1Н, 2Н, 3Н и т. д.), которые соответствуют насыщенным атомам углерода или азота. Согласно принятому правилу, состояния, образованные ядрами в результате конденсации, обозначаются латинскими буквами.

Диазепин и тиазепин являются семичленными гетероциклами, но молекула диазепина имеет два атома азота, а молекула тиазепина имеет один атом азота и один атом серы. В молекулах диазепина и тиазепина атомы азота и серы обычно располагаются в 1, 4 или 1, 5 положениях друг относительно друга:



Производные азепина, диазепина и тиазепина представляют собой химически конденсированные системы с одним или двумя бензольными кольцами. По своему химическому строению и фармакологическому действию эти производные делятся на несколько групп.

Первыми противоэпилептическими препаратами являются $-$производные дибензазепина, производные 10,11-дигидробензциклогептена, близкие по химической структуре и фармакологическим эффектам к антидепрессантам, производным дибензазепина, и производные бенздиазепина, являющиеся высокоэффективными транквилизаторами:



Широко применяются в медицинской практике и производные дибенздиазепина, обладающие выраженным нейролептическим и седативным действием, и производные триазолбенздиазепина, являющиеся высокоэффективными транквилизаторами:



В отличие от диазепина наличие атома серы в молекуле тиазепина также изменяет его фармакологическую активность. Так, производные бензтиазепина используются в качестве антагонистов ионов кальция, гипотензивных и антиаритмических средств:



**10, 11–производные дигидродибензциклогептена**

**Имипрамин**

Препараты с производными 10,11-дигидробензциклогептена химически сходны с производными дигидробензазепина, отличаясь только отсутствием азота в семичленном кольце:



В 1957 году было обнаружено, что вещество, названное *нашим* (N-(3-диметиламинопропил)-иминидибензилгидрохлорид), обладает антидепрессивным действием. Позднее были синтезированы аналогичные активные вещества, сходные с этим веществом по химической структуре: дибензазепин, дигидродибензазепин и производные дибензциклогептен. Поскольку в молекуле этих веществ 3 цикла, эти вещества получили название *трициклических антидепрессантов* . К таким веществам относятся амитриптилин и имипрамин (наши).

**Амитриптилина гидрохлорид**

**(триптизол)**



5-(3-диметиламинопропилиден)-10,11-дигидробенз-[α, *d* ]-

1,4-циклогептадиен-гидрохлорид

**Синтез.** Амитриптилин получают методом синтеза на основе фталевого ангидрида и фенилуксусной кислоты по следующей схеме:



Fenilsirkə turşusu

 фталевый ангидрид 3-бензальфталид 2-(2-фенилэтил)бензойная кислота



 10,11-дигидродибенз-

[ $α,d$] циклогептен-5-он

Амитриптилина гидрохлорид представляет собой белый кристаллический порошок. Легко растворим в воде, этаноле и хлороформе, практически не растворим в эфире. Температура плавления 195-199 0 С.

**Определение подлинности.**

1. ИК-спектроскопия: ИК-спектр стандарта гидрохлорида амитриптилина должен быть таким же, как ИК-спектр стандартного образца.
2. УФ-спектрофотометрия: гидрохлорид амитриптилина в метаноле

раствор должен давать максимальное поглощение при 239 нм du.

1. Дает реакции на хлориды.

**Определение чистоты**

 Соединения дибензсуберона и цикобензприна (не более 0,25%) сравнивают со стандартными образцами методом NTX. Используют силикагельный сорбент и систему растворителей циклогексан-этилацетат-диэтиламин (85:12:3). Хроматограммы наблюдают в УФ-свете после обработки раствором формальдегида и серной кислоты (4:96).

 **Количественная оценка**

1. Алкалиметрию проводят с использованием этанола в качестве растворителя.

Проводят титрование 0,1 М раствором едкого натра, конечную точку определяют потенциометрически.

1. Определяют титрованием в безводной среде по Фармакопее США.

Определение проводят в среде ледяной уксусной кислоты (в присутствии 2-ацетата ртути). Титрант: 0,1 М раствор хлорной кислоты; индикатор: используется кристаллический фиолетовый.

 Амитриптилин - один из основных представителей антидепрессантов, обладает холинолитическим, противоэпилептическим и седативным действием. Назначается при депрессии, энурезе и эмоциональных расстройствах. В капсулах и таблетках по 0,025, 0,05 и 0,075 г выпускается 1% раствор для инъекций в количестве 2 мл.

 Препарат хранят в плотно закрытой таре при температуре не выше 25 0 С.

**Имипрамина гидрохлорид**

 **(Имизин, Мелипрамин, Прилеган)**

7

8

2

C

H

2

2

H

C

6

.

N

C

H

3

C

H

3

H

C

l

b

1

0

f

1

1

1

N

4

3

9

C

H

2

5-(3-диметиламинопропил)-10,11-дигидро-5Н-дибенз[b,f] гидрохлорид азепина или

3-(10,11-дигидро-5H-дибенз[b,f]азепин-5-ил)пропилдиметиламин-гидрохлорид

Это белый кристаллический порошок. Легко растворим в воде и спирте.

**Определение подлинности.**

1) Проверка основания азепина. К кристаллам препарата добавляют концентрированную HNO3; образуется интенсивный синий цвет; цвет меняется на грязно-зеленый, а затем становится коричневым.

2) Получениепикрата имипрамина: растворить 0,2 г препарата в 10 мл воды, добавить 2,5 мл насыщенного раствора пикриновой кислоты и выждать 1 час. Полученный осадок отделяют фильтрованием через стеклянный фильтр№3, промывают водой, сушат при температуре 100-105°С  Температура плавления имипрамина-пикрата должна быть 140-142°С.

3) 0,0025% раствор препарата в 0,01 М соляной кислоте дает максимальное поглощение при 251 нм.

4) Раствор препарата в воде подщелачивают раствором NaOH и фильтруют. Фильтрат реагирует с хлоридами.

**Определение чистоты.** Проверяют наличие иминдибензиловых и алифатических аминов.

**Количественная оценка.** Это делается несколькими способами.

1. Метод безводного титрования. Препарат растворяют в смеси ацетона и 2-ацетата ртути (30:5) и титруют 0,1 М хлорной кислотой до розового цвета (Т=0,03169 г/мл) в присутствии раствора метилового оранжевого в ацетоне.
2. Проводится методом нейтрализации (алкалиметрии). Препарат растворяют в спирте, нейтрализуют фенолфталеином и титруют 0,05 М раствором NaOH до розового окрашивания (индикатор-фенолфталеин; Т=0,01584 г/мл).

 Относится к циклическим антидепрессантам. Выпускается в таблетках по 0,075 г и 2 мл 1,25% раствора для инъекций.

**Карбамазепин - Карбамазепин**

**(Финлепсин, Тегретол)**



5-карбамоил-5H-дибенз [ b,f ] азепин

 **Синтез.**

 Карбамазепин синтезируют на основе *о- нитробензилхлорида.* Сначала из *0-* нитробензилхлорида получают дибензазепин, который затем обрабатывают хлорангидридом карбаминовой кислоты с получением карбамазепина:



 дибензазепин карбамазепин

 Белый кристаллический порошок.

**Определение подлинности**

 1) ИК-спектр препарата.

 2) УФ- спектрофотометрия : карбамазепин в этаноле который раствор с максимальным поглощением при 238 и 285 нм и минимальным поглощением при 257 нм

 3) Температура плавления 183-1930 С.

 **Определение чистоты.**

 Метод ТСХ.

**Количественная оценка. С**пектрофотометрия. Карбамазепина стандартный образец в этаноле 0,01 %-ный раствор имеет максимум поглощения при длине волны 285 нм ( $E\_{1sm}^{1\%}$490).

 Применяется при лечении судорог (эпилепсии) и депрессии. Выпускается в таблетках 0,2 и 0,4 гр

**Производные бензодиазепинов**

 Диазепины содержат в цикле два атома азота. В зависимости от расположения атомов азота имеются 1,2- диазепины , 1,3- диазепины и 1,4 – диазепины:



 1H-1,2-диазепин 1H-1,3-диазепин 1H-1,4-диазепин

 Бензодиазепины представляют собой гетероциклическую систему, состоящую из 1,4-диазепина с бензольным ядром и двух атомов азота (в положениях 1 и 4). В настоящее время возрастает медицинское значение бензодиазепинов и некоторых производных дибенздиазепинов.

 В бензазепиновой системе положение бензольного кольца по гетероатомам указано латинскими буквами по порядковому номеру:



1H-бенз [f]-1,4диазепин 5H-дибенз[ *b,e* ][1,4]диазепин

( 1,4-бензодиазепин)



 1,5-бензодиазепин 5H-2,3-бензодиазепин

 В 60-х годах 20 века было установлено, что вещества из этой группы обладают высокой транквилизирующей активностью. Так, первый препарат из этой группы - хлордиазепоксид - был синтезирован в 1962 г.

 В последующие периоды были синтезированы многочисленные производные бензодиазепина со следующей общей химической структурой (I и II):



 Хлордиазепоксид и медазепам широко используются в медицинской практике.

 Вещества, относящиеся к общей формуле II, называются производными 1H-бензодиазепина, потому что они имеют кетогруппу во 2-м положении. Хлордиазепоксид представляет собой 3Н-1,4-бензодиазепин, а остальные вещества представляют собой 1Н- или 2Н-производные. Из многочисленных производных бензодиазепинов в медицинской практике применяют оксазепам, феназепам, нитразепам и диазепам.

**Хлордиазепоксид (Хлорзепид, Хлозепил, Элениум)**

C

H

2

l

C

C

N

C

C

6

H

5

N

N

H

C

H

3

O

7

6

4

2

3

1

5

7-хлор-2-метиламин-5-фенил-3Н-1,4-бензодиазепин--4-оксид

Температура плавления 239-243 0 С.

**Диазепам (Сибазон, Реланиум, Седуксен, Валиум)**

C

H

2

l

C

C

N

C

C

6

H

5

N

C

H

3

O

7-хлор-2,3-дигидро-1-метил-5-фенил-1H-1,4-бензодиазепин-4-он

**Феназепам - Phenazepamum**

C

H

2

r

B

C

N

C

O

N

H

C

l

7-бром-5-(орто-хлорфенил)-2,3-дигидро-1H--1,4-бензодиазепин-2-он

Температура плавления 225-230 0 С.

**Нитразепам (Радедорм, Эунактин)**



7-нитро-1,3-дигидро-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепин-2-он

**Оксазепам – Оксазепам (Нозепам, Тазепам)**



7-хлор-2,3-дигидро-3-окси-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепин-2-он

**Медазепам (Мезапам)**



 Эти вещества представляют собой белый или светло-желтый (или светло-зеленовато-желтый) гранатовый кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, мало растворим в 95% спирте и эфире, умеренно растворим в хлороформе.

 Производные бензодиазепина являются амфотерными соединениями. Так, они проявляют слабоосновное свойство за счет гетероатома азота в 4-м положении в молекуле и слабое кислотное свойство за счет лактамной связи в 1-м, 2-м положении.

 **Синтез.**

 Производные бензодиазепина получают методом синтеза.

 **хлордиазепоксида** сначала получают хиназолин из 5-хлор-2-аминобензофенона, а затем препарат:



5-хлор-2-аминобензофенон 5-хлор-2-амино-2-хлорметил-6-хлор-3-оксид-4-

бензофеноноксим фенилхинозолин

 Синтез **феназепама** основан на С-ацилировании *п -броманилина бензоилхлоридом и N-ацилировании аминоуксусной кислоты хлорангидридом.* Ход реакции можно показать на основе следующей схемы:



*р* -броманилин



 Промышленный синтез **оксазепама** осуществляется на основе *п -нитрохлорбензола по следующей схеме:*





 Транквилизаторы – эффективные вещества (успокаивающие, снотворные, усиливающие действие анальгетиков, противосудорожных средств, применяемые в анестезиологии, в послеоперационном периоде).

 Хлордиазепоксид 0,005 г в таблетках, покрытых оболочкой, сибазон 0,001; 0,002; В таблетках по 0,005 г и 0,5% раствор для инъекций в количестве 2 мл, а также феназепам 0,0005; Выпускается в таблетках по 0,001 г. нитразепам в таблетках по 0,005 и 0,01 г и оксазепам по 0,01 г; Выпускается в таблетках по 0,015 и 0,03 г.

**Определение подлинности.**

При определении идентичности производных бензодиазепина широко применяют методы УФ-спектрофотометрии и ИК-спектроскопии. Кроме того, используются гидролиз, тройное определение азота, молекулярное расщепление, определение атома галогена и реакции окисления, основанные на химических свойствах производных бензодиазепина.

 1) УФ-спектрофотометрия: 0,002 % растворы хлордиазепоксида и 0,005 % растворы феназепама в хлороформе дают максимальное поглощение при 325 и 320 нм соответственно. 0,0005% раствор нитразепама в 1 М соляной кислоте и метиловом спирте (1:9) дает максимум поглощения при 280±2 нм и минимум при 240 нм. 0,005% раствор оксазепама в этаноле дает максимальное поглощение при 229 нм, а 0,005% раствор феназепама в этаноле дает максимальное поглощение при 231 нм дю. Раствор диазепама в смеси этанола и 0,1 М соляной кислоты дает три максимума поглощения при 240, 284 и 360 нм и минимумы при 262 и 330 нм. По показателям в УФ-спектре эти вещества можно отличить друг от друга.

 2) Реакция получения азокрасителя после кислотного гидролиза. 0,02 г препарата (кроме диазепама; здесь, поскольку он замещен по атому азота в 1-м положении, дает желтый 2-метиламин-5-хлорбензофенон, т. е. не диазотируется и не вступает в реакцию азокрасителя ) смесь твердой соляной кислоты и воды (5:10) и нагревают до кипения. К охлажденному раствору прибавляют 0,1% растворы NaNO 2 и 0,5% сульфамата аммония (1:1), а затем 0,1% дигидрохлорид N-1-нафтилэтилендиамина (используют также резорцин 2 в сильной щелочи для получения % растворов азокрасителя ) . решение; красная (при использовании резорцина), а при использовании N-фенил-1-(или α)-нафтилена образуется пурпурная окраска:

D

i

a

z

e

p

a

m

H

C

l

H

2

O

N

H

C

H

3

C

O

C

6

H

5

l

C

2-метиламин-5-хлорбензофенон

(не диазотирует и не вступает в реакцию азокрасителя)

F

e

n

a

z

e

p

a

m

+

2

H

O

H

(

H

C

l

)

-

N

H

2

-

C

H

2

-

C

O

O

H

r

B

N

H

2

C

O

C

6

H

4

C

l

+

(

N

a

N

O

2

+

2

H

C

l

)

-

(

N

a

C

l

+

2

H

2

O

)

r

B

N

C

O

C

6

H

4

C

l

N

+

Cl$¯\rightarrow $

2-амино-5- αбром- -хлорбензофенон



азокраситель

 Для получения азокрасителя можно использовать β-нафтол в оксазепаме, резорцин в феназепаме, N-(1-нафтил)-этилендиамин-дигидрохлорид, а также N-фенил-1-нафтиламин в оксазепаме и феназепаме. При использовании β-нафтола реакция протекает по следующей схеме:

 Несколько иначе происходит кислотный гидролиз хлордиазепоксида. Так, сначала к молекуле соединяется молекула воды за счет двойной связи в положении 1,2, затем отделяется метиламин и образуется амидная связь. Последний также гидролизуется с образованием 2-амино-5-хлорбензофенона. После этого проводят реакцию диазоизации и получения азокрасителя.

3) При растворении всех производных 1,4-бензодиазепина в одинаковом количестве щелочи выделяющиеся пары (аммиака или метиламина) окрашивают смоченную водой красную лакмусовую бумажку в синий цвет, а на стенке пробирки образуется окрашенный осадок. .

4) Для определения наличия галогена в производных бензодиазепина (хлордиазепоксид, сибазон, феназепам, нозепам и др.) их сжигают на медной проволоке; пламя становится зеленым (проба Бейльштейна). Причиной зеленого цвета пламени является образование галогенидов меди, которые являются летучими соединениями.

5) Производные бензодиазепина положительно реагируют с общими алкалоидными осаждающими реагентами (Драгендорф, Бушар, пикриновая кислота) благодаря тройному атому азота в их молекуле.

6) Температура плавления сибазона должна быть 128-134 0 С.

7) к раствору феназепама в смеси хлороформ-этанол (2:5) добавляют несколько капель 42% или 57% хлорной кислоты и перемешивают; раствор окрашен в зеленовато-желтый цвет. Под действием УФ-лучей наблюдается ярко-зеленая флуоресценция.

8) В нитразепаме в результате восстановления ароматической нитрогруппы в 7-м положении (Zn+HCl) превращается в аминогруппу, и тогда определение проводят по диазотированию и азотированию обеих групп:

C

H

2

N

2

O

C

N

C

O

N

H

C

6

H

5

Z

n

+

H

C

l

N

H

2

C

O

C

6

H

5

N

2

H

 нитразепам 2,5-диаминбензофенон

 9) Температура плавления нитразепама должна быть в пределах 225-230 ° С.

 10) 0,01 г оксазепама нагревают с 5 мл 95%-ного этилового спирта и 4 каплями серной кислоты на водяной бане до кипения в течение 5 мин и затем охлаждают. К полученному раствору добавляют 5 мл воды и 1 мл фуксина сульфитной кислоты; образуется пурпурная окраска (реакция, специфичная для формальдегида, полученного в результате гидролиза амидокарбинольной группы).



 фуксин-сульфитовая кислота (бесцветный) фиолетовый

 11) Измельченные таблетки Нозепама 0,07 г граната смешивают с 10 мл хлороформа и метилового спирта (1:1) в течение 5 минут и фильтруют. На пластину «Силуфол» наносят 0,01 мл (10 мкг) приготовленного выше раствора и 0,01 мл (10 мкг) раствора нозепама в хлороформе и метиловом спирте (1:1) на расстоянии 2 см друг от друга. . Выдержав пластину на открытом воздухе в течение 2 мин, ее помещают в камеру, содержащую смесь хлороформ-метиловый спирт (1:1) и проводят хроматографию восходящим методом. После того, как растворитель поднялся на дно пластины, его извлекают из камеры, сушат на воздухе и просматривают в ультрафиолетовом свете. Пятно испытуемого вещества должно быть на том же уровне, что и пятно стандартного образца. Этим методом также проводят определение медазепама в таблетках.

 12) Идентичность диазепама определяют по реакции с нингидрином. При кипячении смеси диазепама, нингидрина и этанола получается синяя окраска, а при добавлении к смеси раствора медного купороса синяя окраска становится красной или оранжево-красной. Хлордиазепоксид дает в этих условиях коричневую окраску, а нитразепам — желто-коричневую окраску.

 **Определение чистоты**

 Посторонние примеси (производные 2-аминобензофенона) проверяют методом НТХ. Хроматографию проводят с эталонными образцами на пластинах «Силуфол».

 Добавки остаточных растворителей (изопропиловый спирт не должен превышать 0,2%) определяют методом QMX.

 **Количественное определение** производных бензодиазепина проводят несколькими методами.

 Титрование производных бензодиазепина в водных или спиртовых растворах невозможно, так как основность азота в 4-м положении в молекуле сильно ослаблена из-за его соединения с ароматическим ядром:



 1) Водный метод титрования. Хлордиазепоксид, нитразепам и феназепам растворяют в смеси ледяной уксусной кислоты и уксусного ангидрида (20:10) и титруют 0,1 М HClO 4 (индикатор - пурпурный кристалл; Т=0,02998 г/мл для хлордиазепоксида; Т=0,02998 г/мл). для феназепама) 03406 г/мл, а для нитразепама Т=0,02813 г/мл).

 Параллельно проводится контрольный опыт.

 По указанной методике назначают также диазепам и оксазепам. При определении оксазепама в качестве растворителей берут муравьиную и уксусную кислоты.

N

H

2

O

N

C

N

C

+

C

H

2

H

C

6

H

5

O

C

l

O

4

N

i

t

r

a

z

e

p

a

m

+

H

C

l

O

4

 2) Метод спектрофотометрии основан на 1-м определении идентичности. Количество производных бензодиазепина можно определить в различных лекарственных формах.

 3) Метод фотоколориметрии. Определение нозепама этим методом показано во 2-м и 8-м идентичных определениях.

 4) Фармакопея США рекомендует количественное определение хлордиазепоксида методом YEMX. В качестве подвижной фазы используется метанол-вода (60:40).

 5) Метод полярографии.

 В основе определения количества феназепа методом полярографии лежит его снижение:



 Лекарственные формы производных бензодиазепина хранят в сухом, защищенном от света месте.