

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

КАФЕДРА АНАЛІТИЧНОЇ ХІМІЇ



# Сучасні методи визначення 1,4-бензодиазепінів

*Виконала:*

*студентка групи ХАМАЛ*

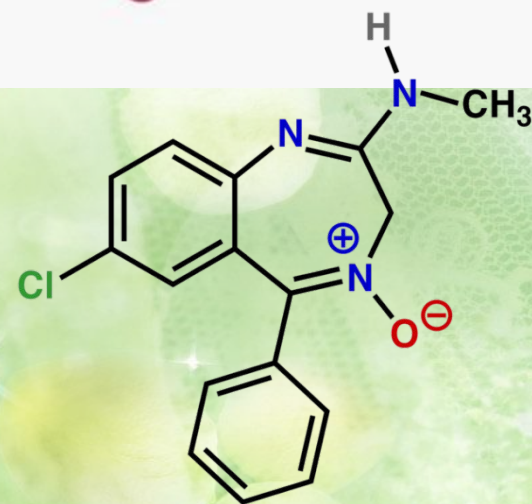
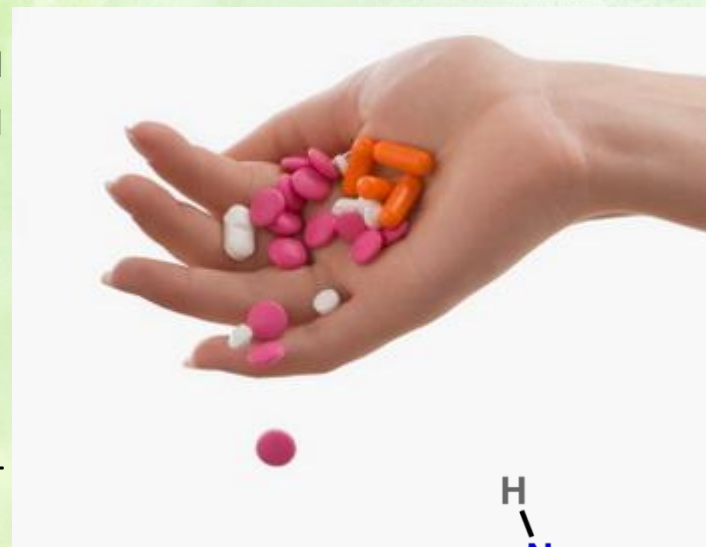
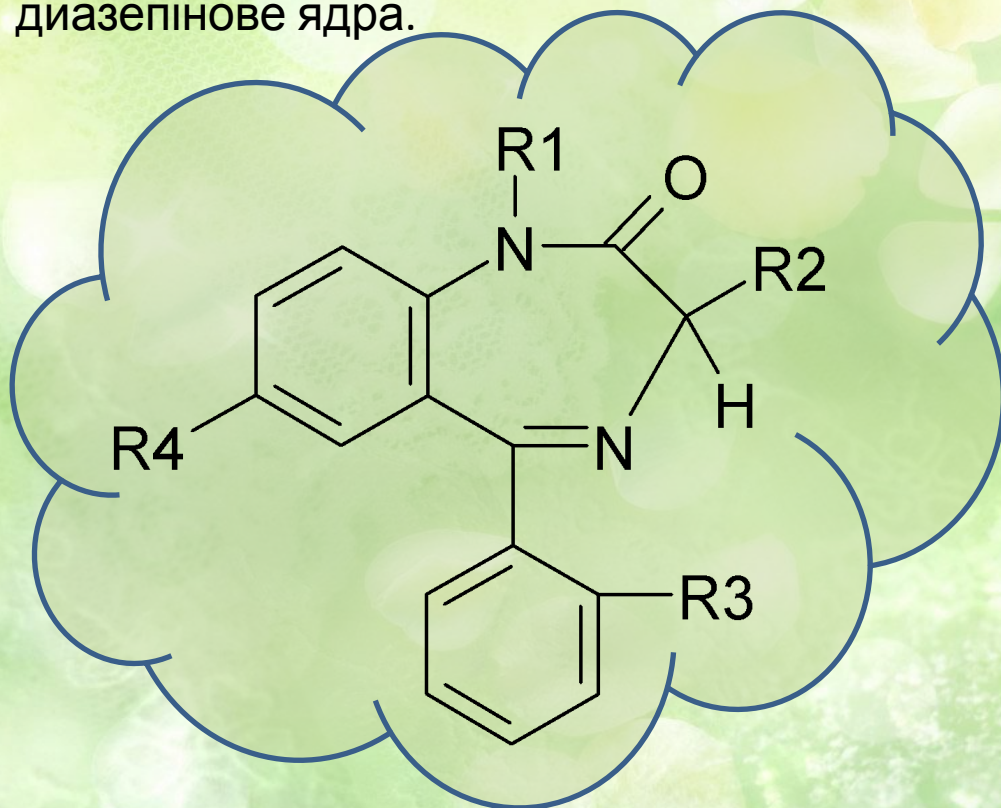
*І курсу ОКР магістр*

*Харченко Вікторія*

Київ, 2012

**Бензодіазепіни** – клас психоактивних речовин зі снодійним, седативним, анксиолітичним (зменшення відчуття тривоги), міорелаксуючим та протисудомним ефектом. Входять в групу речовин депресантів ЦНС.

Це конденсовані гетероциклічні системи, що мають у своєму складі бензольне та 1,4-діазепінове ядра.



Перший бензодіазепін, хлордіазепоксид, був синтезований в 1955 році, Лео Стернбахом під час розробки транквілізаторів.

# Екскурс в історію

Перший бензодіазепін, хлордіазепоксид, був синтезований в 1955 році, Лео Стернбахом під час роботи в Hoffmann-La Roche при розробці транквілізаторів. Фармакологічні властивості перших отриманих сполук не задовольняли всі вимоги і експеримент був припинений. Два роки потому, в квітні 1957 р. співробітник Ерл Рідер під час генерального прибирання в лабораторії помітив «гарну кристалічну речовину», що зосталася після закритого проекту. Були проведені дослідження на тваринах і в даній речовині були виявлені дуже сильні седативні та міорелаксуючі ефекти. Ці дані призвели до його швидкого впровадження в клінічну практику у всьому світі в 1960 році під торговою маркою «Лібіріум». В 1959 році був синтезований діазепам, який почав продаватися компанією Hoffmann-La Roche під торговою маркою «**Валіум**».

Нова група препаратів спочатку була прийнята медиками з оптимізмом, але поступово почали виникати проблеми, і в 1980 році був виявлений ризик залежності. Бензодіазепіни мають унікальну історію в тому, що через них був поданий найбільший груповий позов проти виробників лікарських препаратів у Великобританії з участю 14,000 пацієнтів та 1,800 юридичних фірм, які стверджували, що виробники знали, але приховували про здатність ліків викликати залежність. Вина виробника доведена не була.



# **Фармакокінетика 1,4-бензодиазепінів**

Всі бензодиазепіни добре всмоктуються з травного тракту, досягаючи максимального рівня в крові вже через 1 – 3 години, але спостерігаються деякі відмінності в їхній поведінці в організмі.

Бензодиазепіни активно зв'язуються з білками крові, проявляють високу спорідненість до жирових тканин, в яких накопичуються і вже з них виділяються в кров. Цим явищем в значній мірі забезпечується досить довгий період їхнього напіввиведення.

Бензодиазепіни виділяються найперше всього з сечею (вище 60% дози), інша частина виділяється через травний тракт.

Похідні бензодиазепінів піддаються біотрансформації в печінці, перетворюючись в декілька метаболітів, що проявляють, в свою чергу, більшу фармакологічну активність. Процеси трансформації включають в себе реакції окиснення, деметилування, дезамінування, гідроксилування, ацетилювання, відновлення, кон'югації з глюкороновною кислотою.

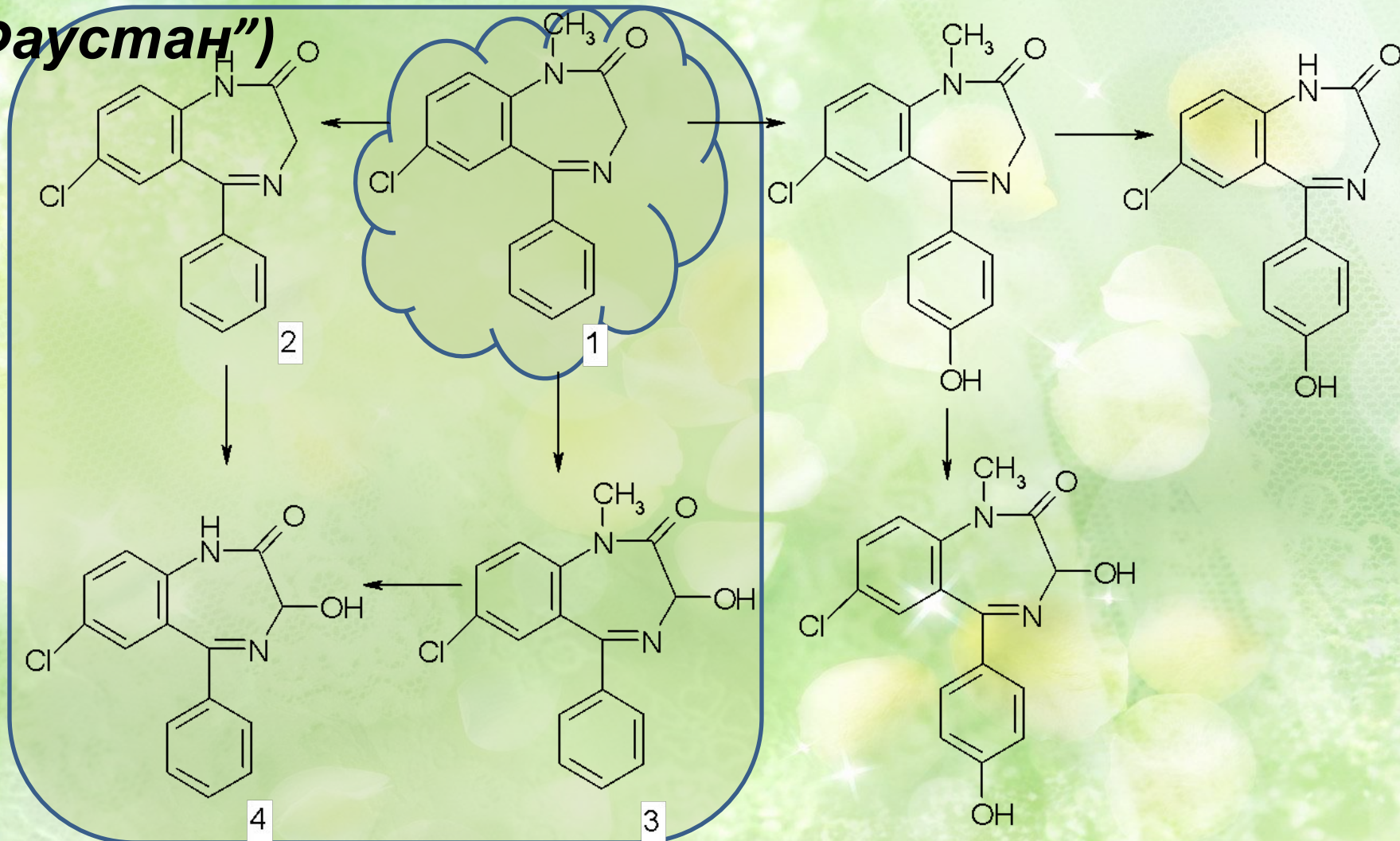
## **Табл. 1. Фармакокінетика 1,4-бензодиазепінів**

<b>Назва</b>	<b>Біодоступність %</b>	<b>Метаболізм</b>	<b>T<sub>1/2</sub> год</b>	<b>Екскреція</b>
Діазепам	93 – 97	Печінка CYP2C19	20 – 100	нирки
Нітразепам	85	Печінка	21 - 28	нирки
Феназепам	-	печінка	6 - 18	нирки
Медазипам	-	печінка	36 -150	нирки

**Табл. 2. Максимуми поглинання 1,4-бензодіазепінів**

Назва	λ <sub>max</sub> , нм		
	Етанол	0,1 н НСІ	0,1 н NaOH
Діазепам	228, 325	232, 282, 370	
Нітразепам	220, 258, 312	280	226, 258, 357
Феназепам	230	241	
Медазипам	231, 252, 360	254	

# Метаболізм діазепаму ("Валіум", "Седуксен", Фаустан")



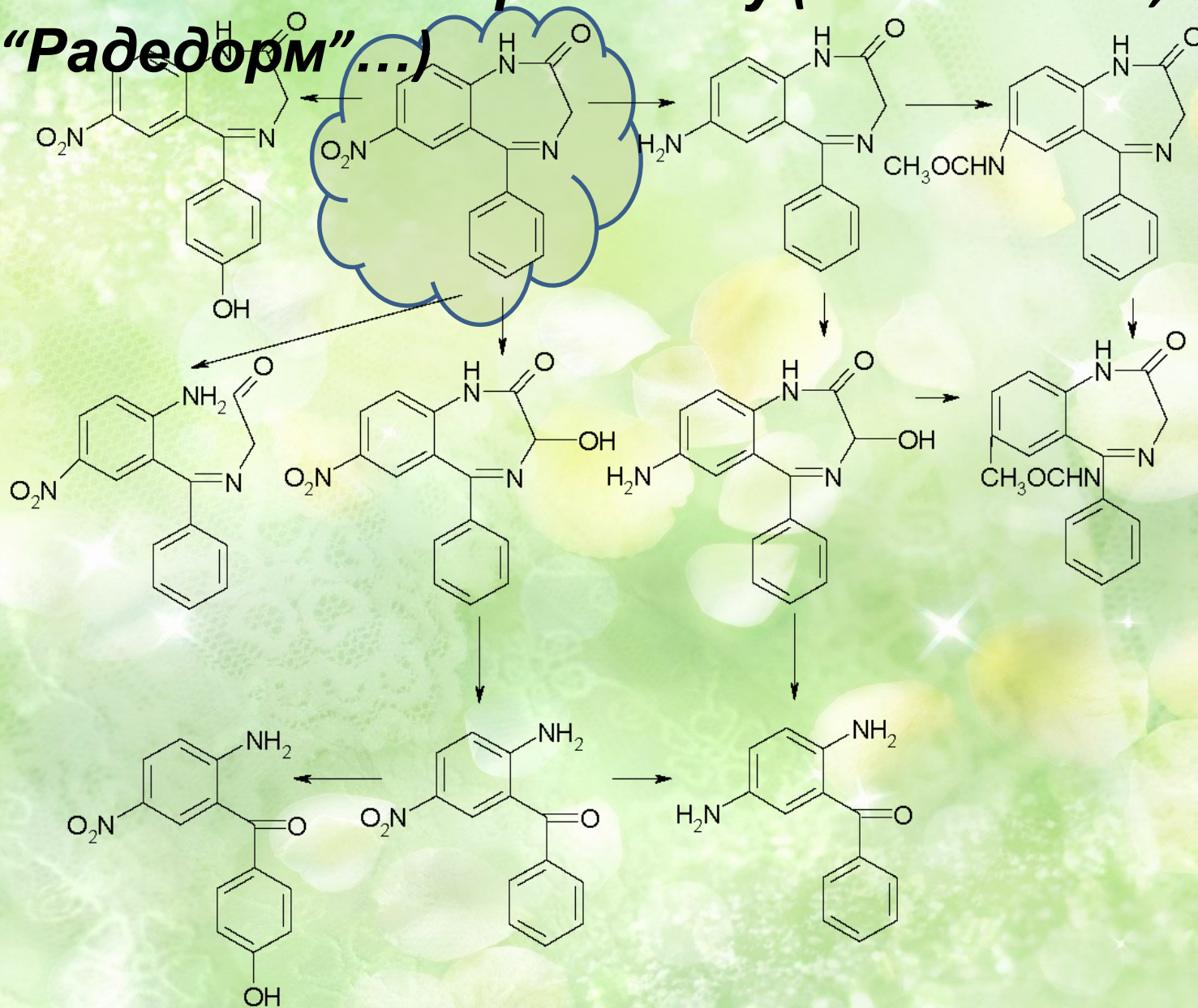
1 – діазепам

2 –

дезметилдіазепам

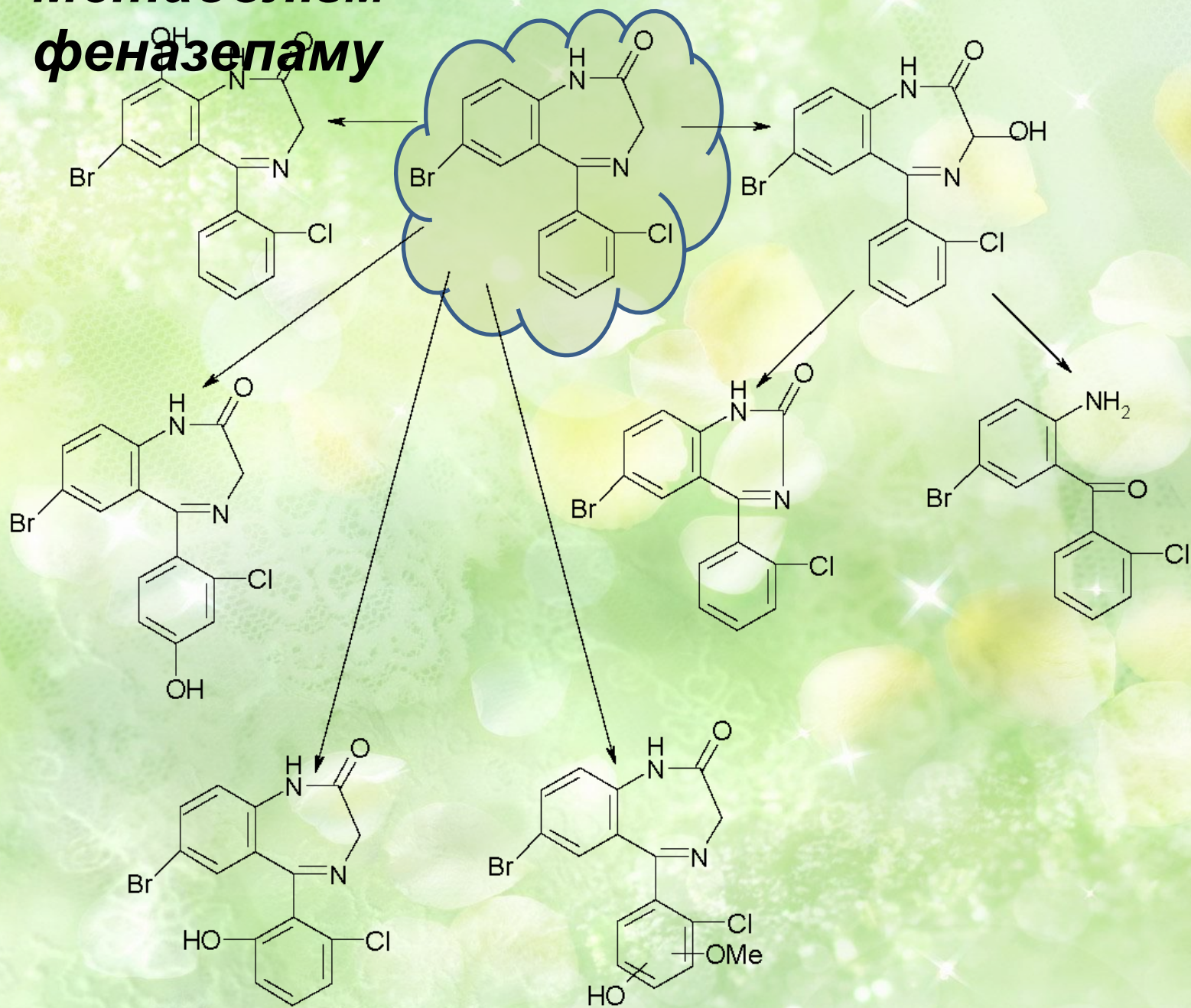
3 – метилоксазепам

# Метаболізм нітразепаму (“Неозепам”, “Радедорм”...)



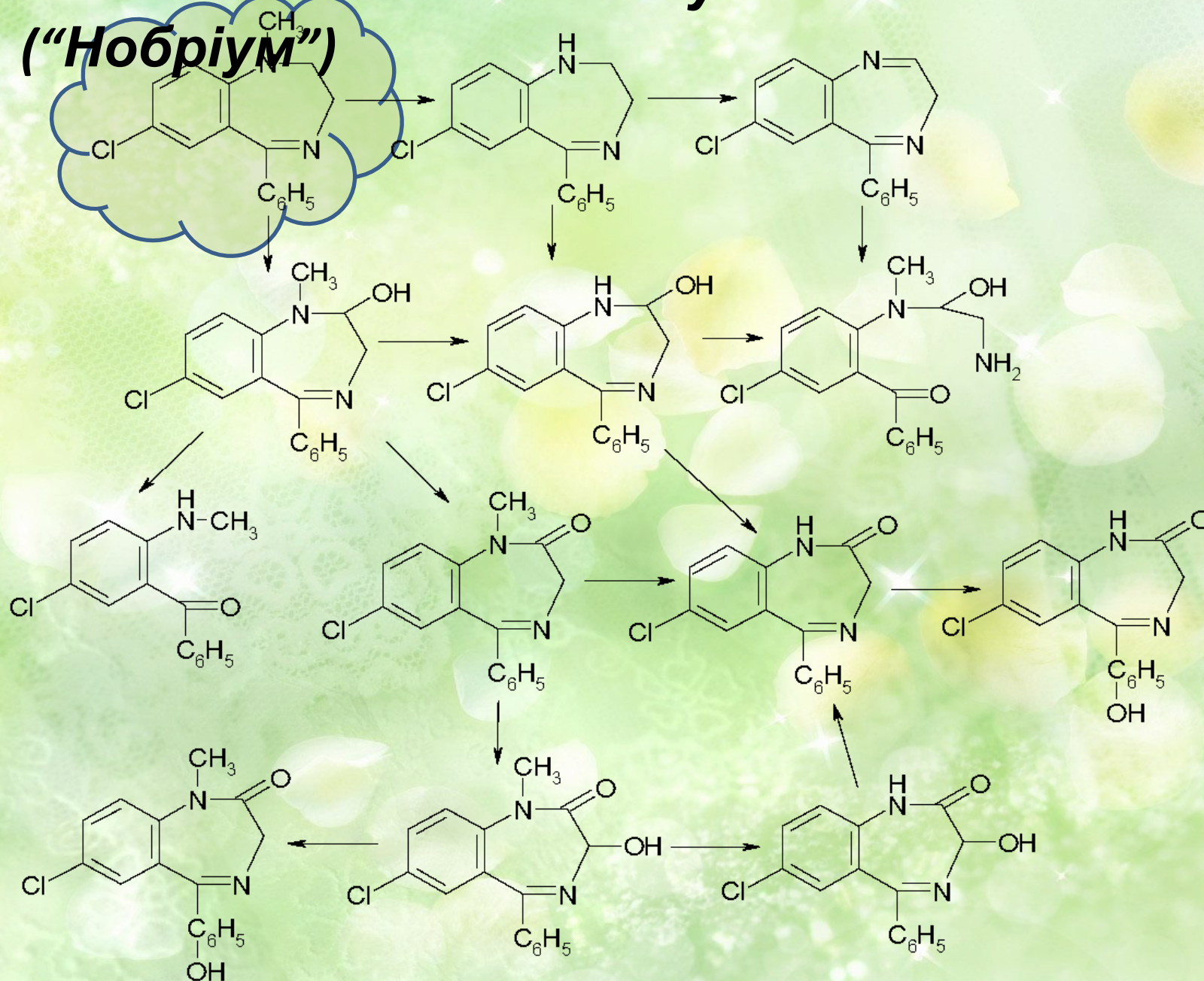


# Метаболізм феназепаму



# Метаболізм медазепаму

("Нобріум")



## **Об'єкти дослідження:**

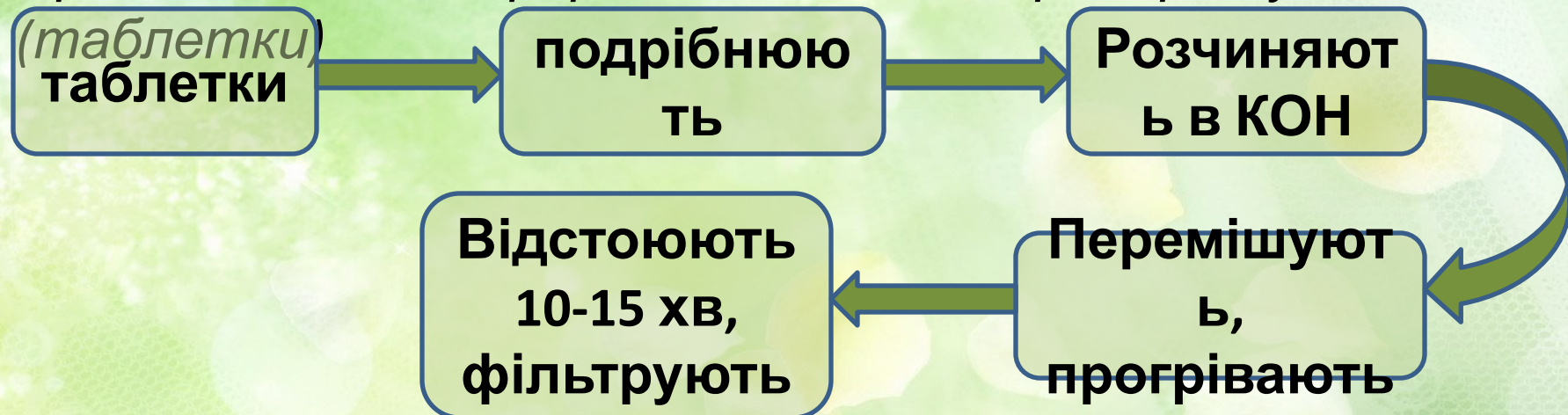
- Кров;
- Плазма;
- Сиворотка крові;
- Сеча ( $\geq 10$  мл);
- Тканини нирок, печінки ( $\geq 200$  г);
- Шлунок та тонкий кишківник з вмістом ( $\geq 200$ г);
- Таблетки.

Об'єкти заморожують.

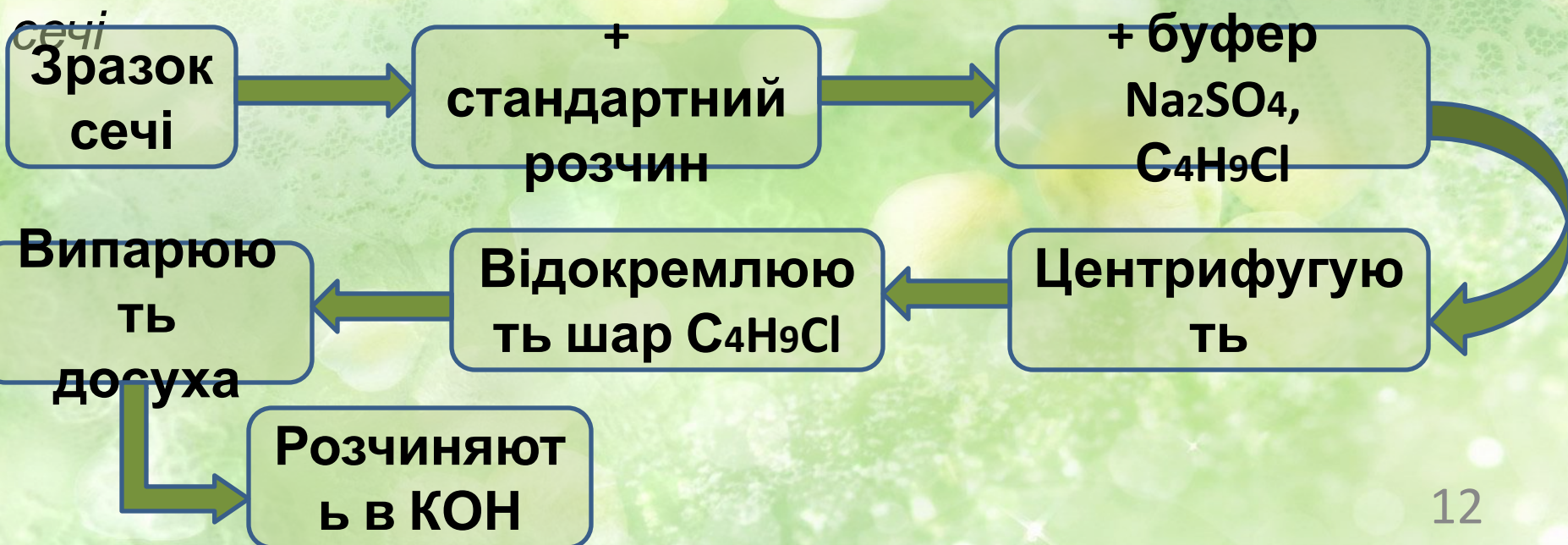
Проводити консервування не рекомендують!

Аналіз 1,4 –бензодиазепінів бажано проводити негайно.

## Пробопідготовка фармацевтичного препарату



## Пробопідготовка



*Пробопідготовка  
сечі*



# Тест-смужка "NARCOSCREEN" для виявлення бензодіазепіна

В



Визначення ґрунтується на принципі імунно-хроматографічного аналізу, при якому наркотик (чи його метаболіти), що знаходяться в пробі сечі або слюни, конкурують з реагентами, що іммобілізовані на пористій мембрані даної смужки за обмежену кількість антитіл.

## Переваги:

- ✓ точність: 99,9%;
- ✓ швидкість;
- ✓ результат аналізу неможливо змінити;
- ✓ простий в застосуванні;
- ✓ доступна вартість: 32 руб.

Виробник: InTec Products. Inc.





Изготовитель: ООО "ФАКТОР-МЕД", Россия, г. Москва  
e-mail: info@faktor.ru, www.faktor.ru

**ТЕСТ для выявления  
НАРКОТИКА БЕНЗОДИАЗЕПИНА  
в моче человека**

**ИХА-БЕНЗОДИАЗЕПИН-ФАКТОР**

Тест-смужка **иха-БЕНЗОДИАЗЕПИН-фактор** призначена для одноетапного швидкого якісного виявлення бензодіазепіна (та його метаболітів) в сечі людини методом імунохроматографічного аналізу.

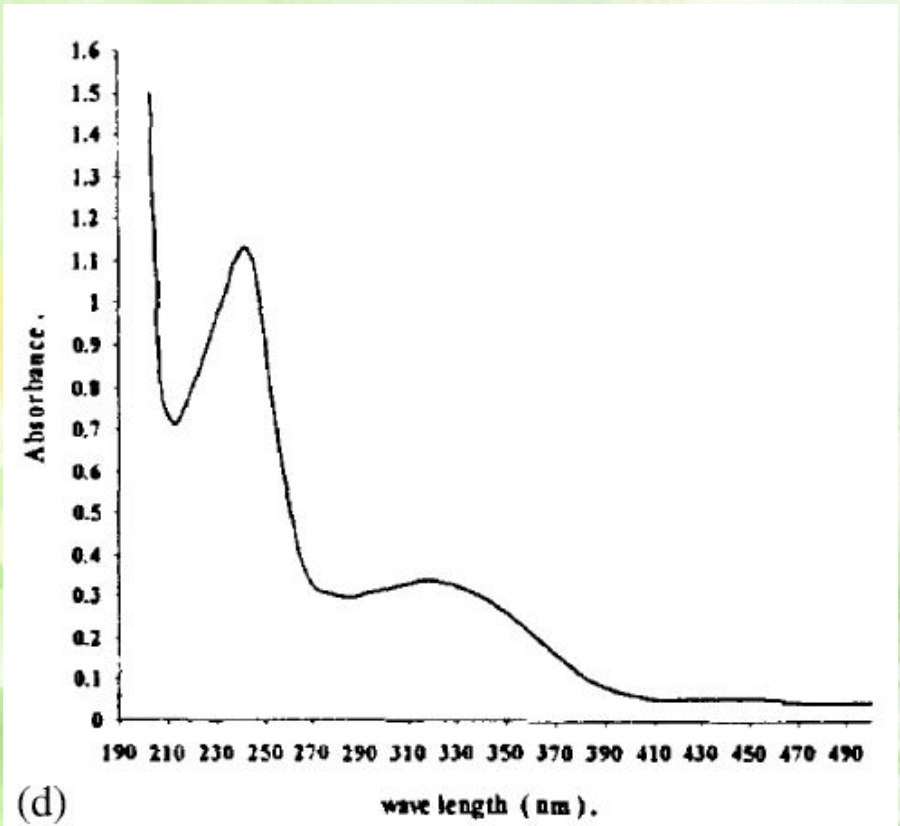
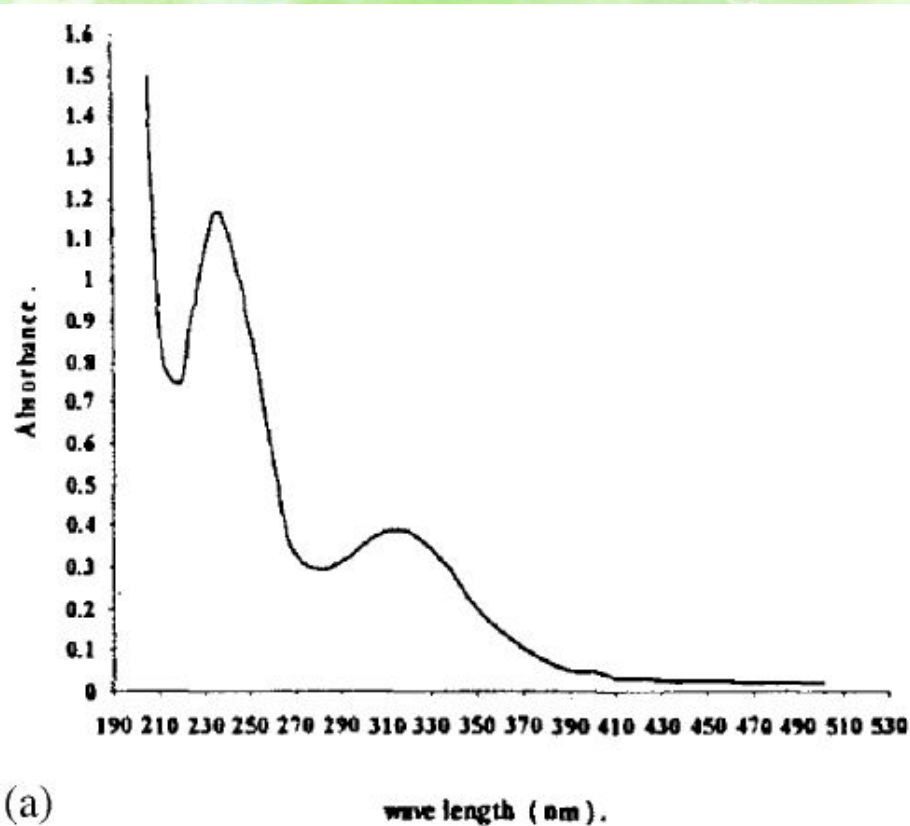
Чутливість: 300 нг/мл

Термін придатності: 18 місяців

Ціна: 33,00 руб. (8,43 UAH)



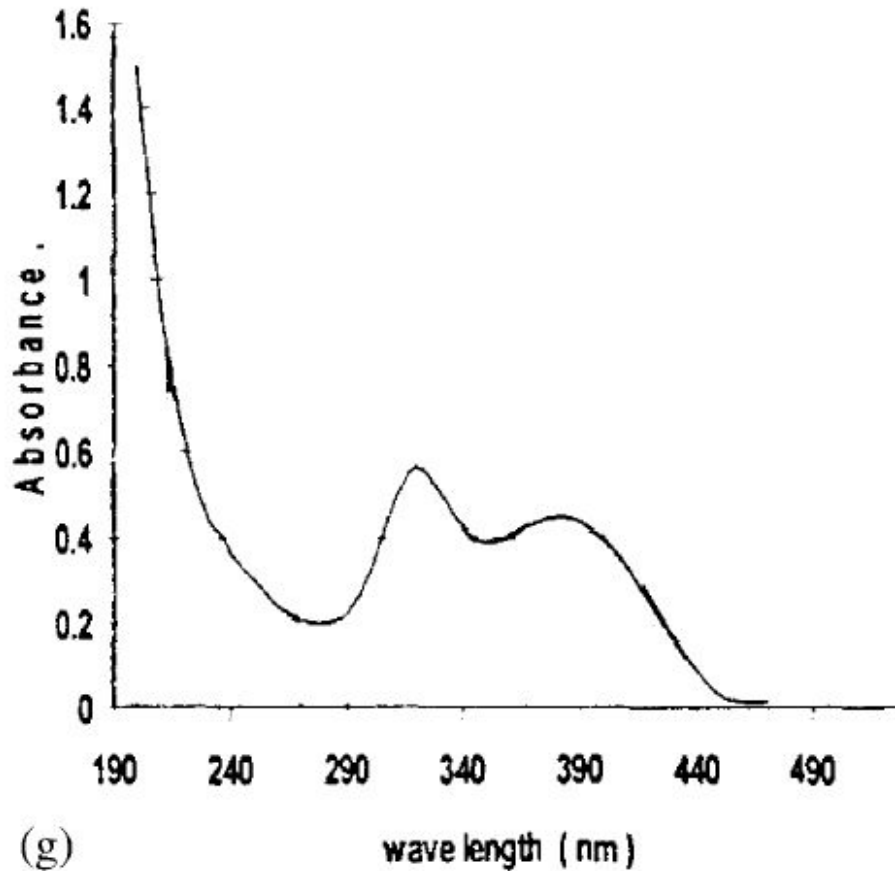
# Фотометричне та флюорометричне визначення



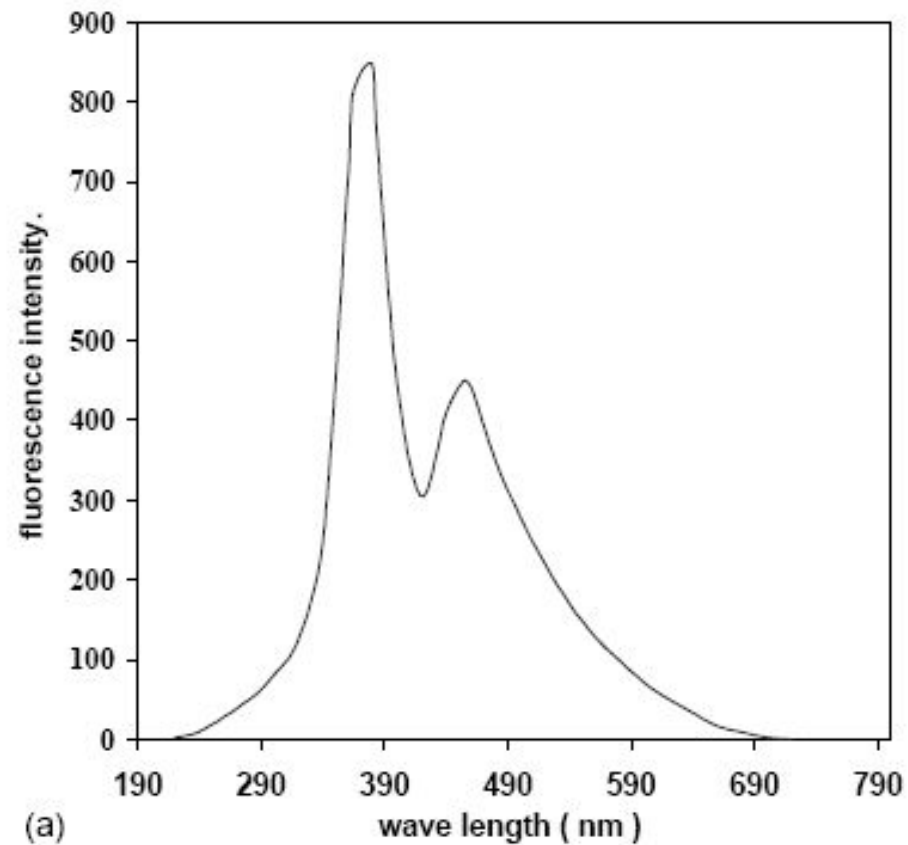
**Рис. 1. Спектри поглинання діазепаму в метанолі (a), 5% метанольному розчині оцтової кислоти (d)**  
(UV-VIS Lambda-20 Perkin-Elmer computerized spectrophotometer,  $l = 1,00$  cm)



# Фотометричне та флюорометричне визначення



**Рис. 2. Спектри поглинання діазепаму в 0,5% метальному розчині КОН(g)**  
(UV-VIS Lambda-20 Perkin-Elmer computerized spectrophotometer,  $I = 1,00$



**Рис. 3. Спектр флуоресценції діазепаму в метальному розчині КОН (Shimadzu RF-540 Spectrofluorimeter,  $\lambda = 240,0$  нм)**

# **Фотометричне та флюорометричне визначення**

□ лінійний діапазон:

фотометричне визначення: 0,13 – 1,3 нг/мл

флюорометричне визначення: 5,67 – 16,47 нг/мл

□ низькі МВ:

фотометричне визначення: 1,27 нг/мл

флюорометричне визначення: 7,13 нг/мл

(для діазепаму, бромазепаму, клоназепаму);

## ***Переваги:***

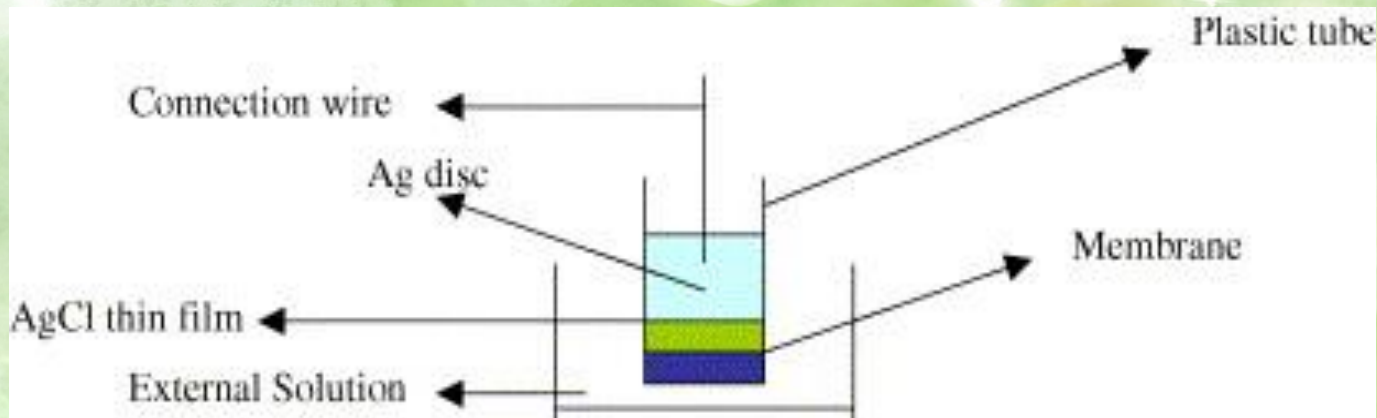
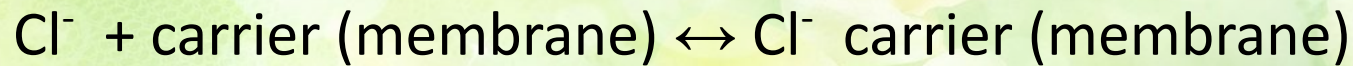
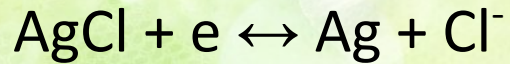
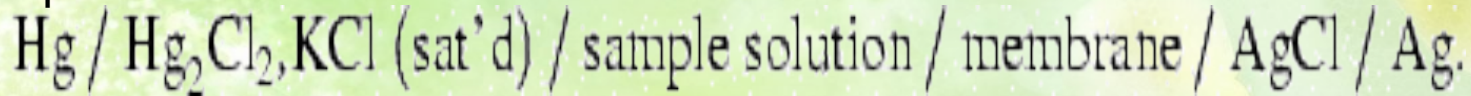
□ простота;

□ точність;

□ відсутність перешкод від ендогенних зразків в зразках сечі (окрім діазепаму).

# Потенціометричне визначення

Іон-селективний електрод з твердою мембраною

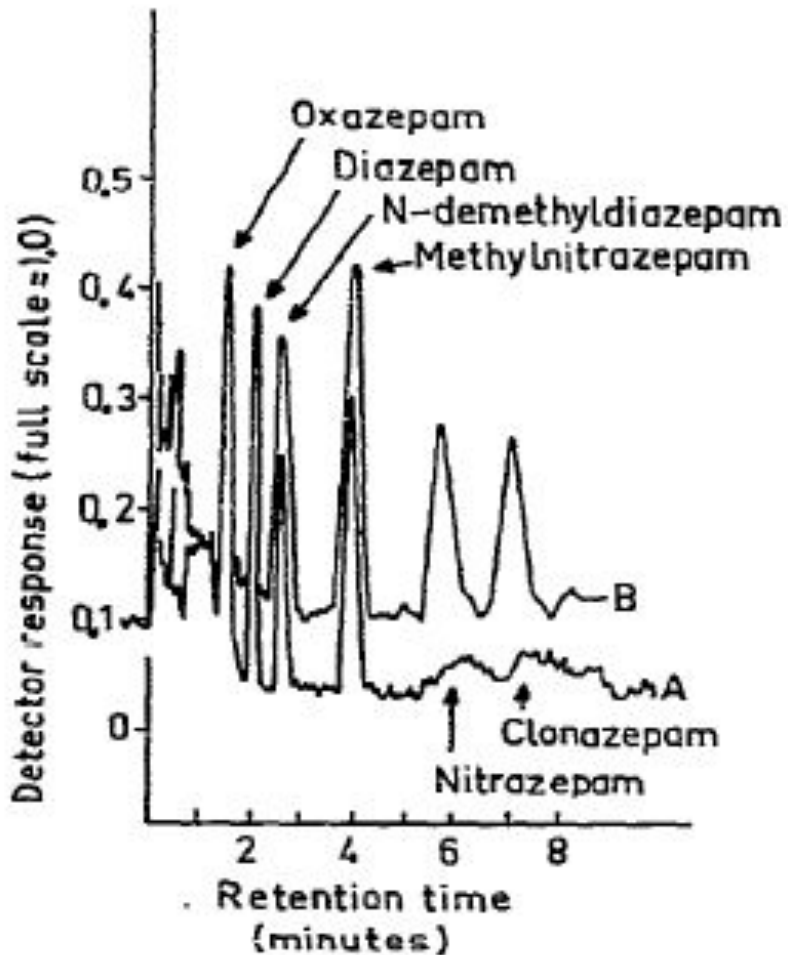


**Рис. 3.** Схема SC-ISE

**Табл. 3. Результати потенціометричного визначення діазепаму**

Polymer matrix	Electroactive material	Working range ( $\mu\text{g/ml}$ )	Working pH range	Detection limit ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>Diazepam</b>				
PVC	Tetraphnylborate	0.29–71.18	4–6	0.71
PVC	Phosphotungstic acid	0.29–71.18	4–7	0.71

# Газо-рідинна Хроматографія



**Рис.4.** Хроматограма суміші бензодіазепінів до (А) та після (В) стабілізації колонки

# Газо-рідинна Хроматографія

□МВ: 0,2 – 0,5 нг/мл

□лінійний діапазон:: 5 -200 нг/мл

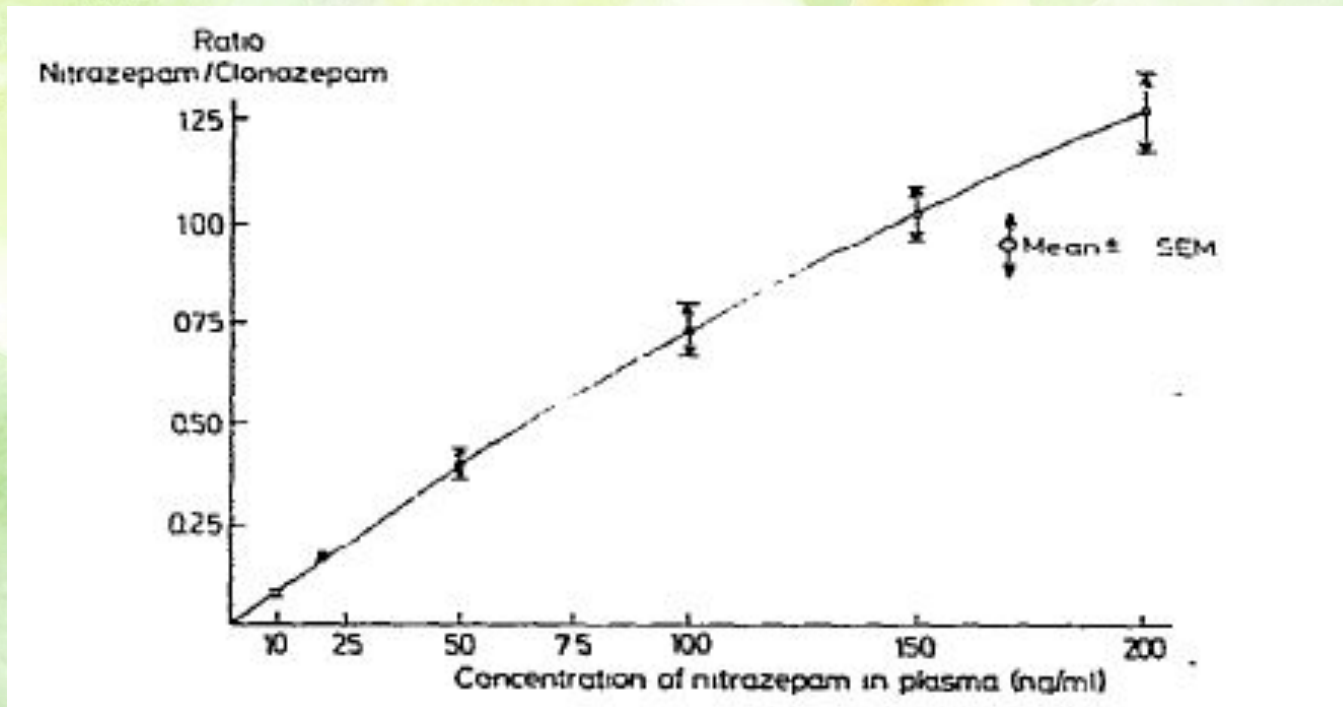
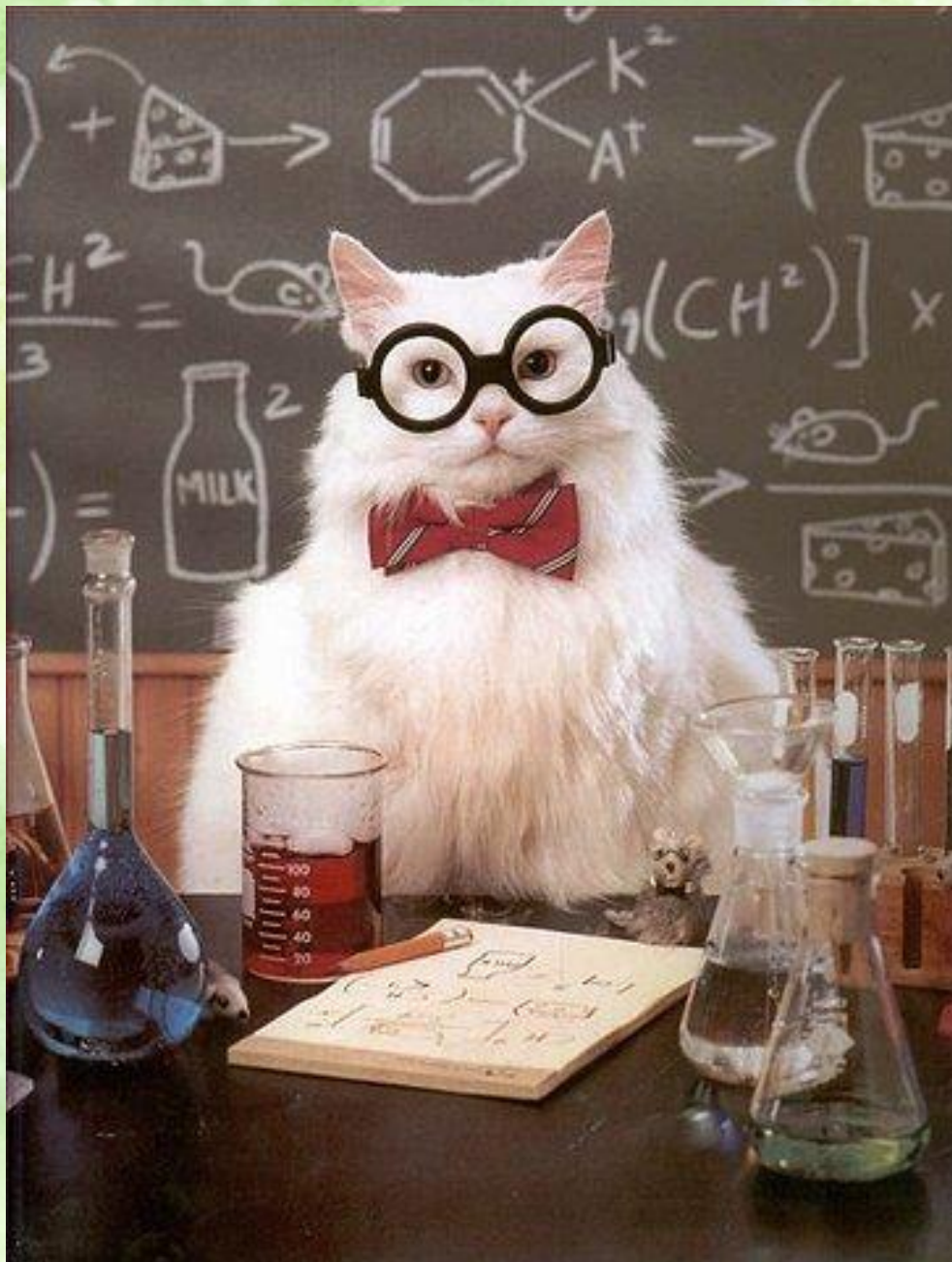


Рис.5. Стандартний графік для визначення нітразепаму в крові.  
(серія проведена в різні дні. Внутрішній стандарт: клоназепам , 150  
нг/мл)

## Таблиця 4

Порівняльна характеристика розглянутих сучасних методів визначення 1,4-бензодіазепаму

Метод	МВ	Лінійний діапазон
ГРХ	0,2-0,5 нг/мл	5 -200 нг/мл
Фотометрія	1,27 нг/мл	0,13 – 1,3 нг/мл
Флюорометрія	7,13 нг/мл	5,67 – 16,47 нг/мл
Потенціометрія	0.71 нг/мл	0.29–71.18 нг/мл
ГРХ	0,2 – 0,5 нг/мл	5 – 200 нг/мл



**Дякую за  
увагу!**