

Министерство здравоохранения Украины
Запорожский государственный медицинский университет
Кафедра токсикологической и неорганической химии

**Химико-токсикологический анализ
производных 1,4-бензодиазепина**

Учебно-методическое пособие

Запорожье

2015

Учебно-методические указания обсуждены на заседании кафедры от «__» _____ 2015 года (протокол №), рассмотрены и рекомендованы цикловой методической комиссией по физико-химическим дисциплинам для утверждения от «__» _____ 2015 г. (протокол №). Утверждено на заседании Центрального методического совета ЗГМУ, протокол № 6 от 20.05.2015 г

Методическое пособие составлено коллективом Запорожского государственного медицинского университета: д. фарм. н., профессором Панасенко А. И., к. фарм. н., доцентом Кремзером А.А., к. фарм. н., доцентом Мельником И. В., к. фарм. н., д. фарм. н., доцентом Парченко В. В., к. фарм. н., ст. препод. Постол Н.А., к. фарм. н., ст. препод. Кулишом С.Н., к. фарм. н., ст. препод. Гоцулей А. С., к. фарм. н., ст. препод. Щербиной Р. А., к. фарм. н., ассистентом Сафоновым А. А., ассистентом Салионовым В. А. под общим руководством заведующего кафедрой, д. фарм.н., профессора Панасенко А.И.

Бензодиазепины

Бензодиазепины – общее название для группы снотворно-седативных препаратов.

Химическое название: 2-амино-1,4-бензодиазепин-4-оксиды с различными замещающими в исходной химической структуре.

Бензодиазепины применяются в медицине, как успокаивающее и гипнотическое средство, а также для снятия мышечных спазмов. В целом, бензодиазепины действуют в малых терапевтических дозах, как успокоительное, в умеренных как противотревожное (*анксиолитическое*) средство, а в больших дозах – как мощное средство от бессонницы. В настоящее время препараты этой группы являются наиболее часто прописываемыми, и, соответственно, наиболее часто употребляемыми из всех легальных средств, влияющих на функции ЦНС.

История бензодиазепинов

Первый бензодиазепин, хлордiazепоксид, был синтезирован в 1955 году Лео Стернбахом во время работы в Hoffmann – La Roche по разработке транквилизаторов. Фармакологические свойства первоначально полученных соединений были неутешительными и Стернбах прекратил проект. Два года спустя, в апреле 1957 года сотрудник Эрл Ридер во время генеральной уборки в лаборатории заметил «красивое кристаллическое» соединение, оставшееся после закрытого проекта. Тесты с этим препаратом на животных показали успокаивающие и расслабляющие эффекты, похожие на эффекты от барбитуратов. Дополнительной чертой группы соединений был эффект "укрощения", наблюдавшийся у обезьян. Кроме того, интригующим моментом была низкая токсичность препаратов: смертельная доза была настолько велика, что ее трудно было достигнуть. Таким образом, первое производное бензодиазепина – *хлордiazепоксид* – было открыто доктором Эрлом Ридером. Патент на препарат был получен в 1959 году. А в 1960 году, после

многообещающих клинических испытаний, препарат поступил в широкую продажу под торговой маркой «*Либриум*». В 1959 году был синтезирован диазепам, который стал продаваться компанией Hoffmann-La Roche под торговой маркой «*Валиум*» в 1963 году. Эти два препарата быстро заняли лидирующее место на рынке лекарств от беспокойства и бессонницы. К 1970-му году они были среди медицинских "бестселлеров" в Америке. Более ста миллионов рецептов было выписано только на одни бензодиазепины в 1975 году.

Но на этом исследования не прекратились. Оксазепам, метаболит диазепама, был синтезирован в 1961 году Беллом. В 1971 году синтезировали лоразепам, производное оксазепама, с целью создания более сильного бензодиазепаина. В 1976 году был создан мидазолам, первый водорастворимый бензодиазепин, применяемый на практике. Внедрение бензодиазепинов привело к уменьшению назначений барбитуратов и в 1970-х годах они в значительной степени заменили старые препараты для седативного и снотворного применения.

Новая группа препаратов первоначально была встречена медиками с оптимизмом, но постепенно стали возникать проблемы, в частности, в 1980-х годах обнаружился риск зависимости. Бензодиазепины имеют уникальную историю: из-за них был подан крупнейший в истории групповой иск против производителей лекарственных препаратов в Великобритании, с участием 14000 пациентов и 1800 юридических фирм, которые утверждали, что производители знали о способности вызывать зависимость, но намеренно скрывали эту информацию от врачей. В то же время, 117 врачей общей практики и 50 органов здравоохранения получили иски от пациентов на возмещение ущерба за вредные последствия зависимости и отмены препаратов. Это привело к тому, что врачи стали требовать юридически оформленное согласие своих пациентов на лечение препаратом и адекватно предупреждали

их о рисках зависимости и отмены до начала лечения бензодиазепинами. Вина производителей лекарственных средств доказана не была.

В 2010 году, ранее секретные документы совещания экспертов Медицинского Исследовательского Совета (MRC, Великобритания) показали, что MRC было известно об исследовании, проведённом 30 лет назад, в котором предполагалось, что бензодиазепины могут вызывать повреждения головного мозга у некоторых людей, подобные тому, которые возникают при алкоголизме, но несмотря на это дальнейшие крупные клинические исследования по этой проблеме не проводились. MRC отклонил предложения о проведении исследований в 1980-х годах выдвинутые профессором Лэйдером (Lader), а также предложения профессора Эштона в 1995 году, направленные на изучение постоянного воздействия бензодиазепинов на головной мозг.

Сегодня, по причине широко распространённого беспокойства, связанного с зависимостью от этих препаратов, их потребление заметно упало. Тем не менее, существует ряд новых бензодиазепинов, которые находят активное применение.

История синтеза производных бензодиазепина

История применения противотревожных (анксиолитических) средств насчитывает более 6000 лет. В качестве первых анксиолитиков, по всей видимости, использовались алкоголь и опиаты, медицинское применение которых в указанных целях установлено в минойской (XV век до н. э.) и микенской (XIV-XIII века до н. э.) культурах, а также Древнем Египте. Еще Теофраст, врач, практиковавший в Древней Элладе, назначал опиум психически больным людям в качестве снотворного и успокаивающего средства (книга 3, гл. 19 "О лечении сумасшедших").

В начале XIX века в качестве противотревожных препаратов стали применять бромиды, а в начале XX столетия – соли барбитуровой кислоты – барбитураты. Барбитуровая кислота была синтезирована профессором органической химии Берлинской промышленной академии Адольфом Байером в 1863 г. и названа в честь Барбары – подруги ученого. В дальнейшем, в 1904 г. Эмиль Фишер и Иосиф Меринг открыли соли барбитуровой кислоты – соответственно барбитал и фенобарбитал. Барбитал в дальнейшем получил название "веранал" в честь города Верона (северная Италия), где разыгралась трагедия Ромео и Джульетты – так назывался сонный напиток, который монах дал Джульетте (Вотчал Б. Е. "Очерки клинической фармакологии", М., 1963, с. 145).

Арсенал анксиолитиков пополнился в середине века небарбитуровыми седативными препаратами (резерпин). Однако использование перечисленных медикаментов сопровождалось затруднениями, связанными с отсутствием у рассматриваемых средств селективного (избирательного) противотревожного действия. Положение существенным образом изменилось после синтеза первых транквилизаторов (мепробамат). Так как мепробамат представлялся по тем временам весьма перспективным анксиолитиком с более избирательным противотревожным действием в сравнении с барбитуратами, швейцарская

фармацевтическая компания "F. Hoffmann La Roche" в начале 50-х годов приняла решение о начале исследований с целью поиска новых субстанций того же типа. Как вспоминает возглавивший научную программу L. H. Sternbach, знания о биохимических процессах, происходящих в мозге, были в то время достаточно ограниченными, поэтому работу предполагалось проводить в чисто эмпирическом ключе. Был предпринят поиск веществ, которые позволили бы синтезировать наибольшее количество новых представителей определенного химического класса за относительно короткое время. В качестве таких химических соединений, по мнению исследователей, наиболее подходила группа гетероциклов (бензептоксидиазины), которые активно изучались еще с начала 30-х годов. Был синтезирован целый ряд веществ рассматриваемого типа, которые хорошо поддавались кристаллизации, легко образовывали водорастворимые соли, но, к сожалению, не обладали нужными биологическими свойствами. Однако в ходе этих исследований была уточнена химическая структура веществ, которые в дальнейшем идентифицировались как квиназолин 3-оксиды. Вскоре после этого, как далее вспоминает L. H. Sternbach, работа по синтезированию новых квиназолинов была прекращена из-за того, "что другие проблемы, казавшиеся более важными, потребовали использования всех лабораторных ресурсов". В апреле 1957 г. во время генеральной уборки лабораторных помещений один из сотрудников L. H. Sternbach доктор Earl Reeder случайно обратил внимание на несколько сотен миллиграммов двух веществ: кристаллизованного соединения квиназолина 3-оксида с метиламином и его гидрохлорида. Фармакологические испытания обнаружили у первого из них выраженные свойства, характерные для транквилизаторов и седативных препаратов, но, в отличие от хлорпромазина, резерпина и фенобарбитала, более селективное противотревожное действие. Уточнение химической структуры соединения квиназолина-3-оксида с метиламином показало, что данное соединение уже не являлось квиназолин-N-оксидом и содержало 7-членное diaзепиновое кольцо.

Обнаруженные факты позволили в мае 1958 г. подать заявку на открытие 2-амино-1, 4-бензодиазепин-4-оксидов с различными замещающими в исходной химической структуре. Новизна синтезированных веществ позволила получить патент без каких бы то ни было затруднений уже к июлю 1959 г.

Все первые синтезированные бензодиазепиновые производные обладали одинаковыми биологическими свойствами и ни одно из них заметно не отличалось от исходного вещества и не превосходило его по эффективности. Именно первое производное бензодиазепина - хлордиазепоксид (рис. 1) было избрано в качестве предмета более детального клинико-фармакологического изучения.

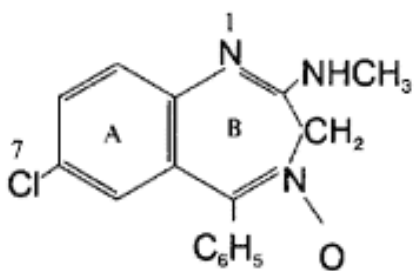


Рис. 1. Химическая структура хлордиазепоксида (либриум).

В длительных исследованиях токсичности были получены блестящие результаты, а данные клинических испытаний выглядели многообещающими. Интерес клиницистов к новым препаратам возрастал с невероятной скоростью – относительно быстро число пациентов, принимавших производные бензодиазепина в рамках различных исследований, достигло 16 000. Заявка в NDA (National Drug Administration) была принята без каких-либо осложнений и благодаря положительному отношению FDA (Food and Drug Administration) была одобрена в рекордно короткие сроки. Уже в 1960 г. (через 2.5 года после начала фармакологических исследований) первый из 1,4-бензодиазепинов центрального действия – хлордиазепоксид под торговым названием "*Либриум*" (Libre - свободный, франц.; Liber - свобода, лат.) поступил в аптечную сеть (Синтез производных бензодиазепина явился по существу завершающим,

"великим" этапом развития психофармакологии. Ранее в клиническую практику поступили нейролептики (в 1952 г. – хлорпромазин, в 1957 г. – перфеназин, в 1958 г. – трифлуоперазин, в 1958 г. – тиоксантен) и антидепрессанты (в 1957 г. – ипрониазид, в 1958 г. – имипрамин).

Параллельно проводились экспериментальные исследования на диких животных в зоопарке Сан Диего и в лабораториях компании "Roche", инициатором которых был доктор Leonard Hines. На основании новых данных были разработаны дополнительные методы синтеза производных бензодиазепина, наиболее важным из которых оказался процесс алкилирования в позиции 1. Был получен ряд производных бензодиазепина, которые подвергли интенсивному фармакологическому исследованию. Появление новых веществ совпало с завершением клинических испытаний либриума. Их блестящие результаты вдохновили исследователей на поиск еще более эффективного средства, которое могло бы найти более широкое применение в клинической практике. Сравнение либриума с имевшимися на тот момент другими производными бензодиазепина не обнаружило существенных различий в спектре клинической активности. Из всех тестируемых веществ было выделено наиболее активное – 1-метил производное хлордiazепоксиды.

Углубленные исследования фармакологических свойств и токсичности, а также широкие клинические испытания нового вещества завершились исключительно благоприятными результатами. Было принято решение о подготовке внедрения нового препарата, который получил генерическое название diaзепам. В 1963 г. состоялось внедрение diaзепамы под торговым названием "*Валиум*" (рис. 2). В сравнении с либриумом валиум действительно обнаружил более широкий спектр клинической активности, в первую очередь более выраженное миорелаксирующее действие. Токсичность нового препарата оказалась крайне низкой.

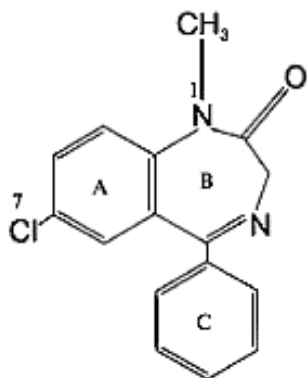


Рис. 2. Химическая структура диазепама (валиум).

Уже в ходе первых исследований была установлена важная роль замещения химических элементов в структуре хлордиазепоксида и прежде всего в 7-й позиции (кольцо А), а также в кольце С. В результате было синтезировано вещество с максимально активной комбинацией элементов: группа CH_3 в позиции 1, азотная группа в позиции 7 и флюорин в позиции 2.

Как и ожидалось, полученное вещество оказалось одним из наиболее фармакологически активных препаратов. Новый препарат с генерическим названием "флунитразепам" и торговым названием "*Рогипнол*" был внедрен в Швейцарии и других странах в 1975 г. в качестве мощного гипнотического средства, терапевтически активная доза которого составляла 1-2 мг (рис. 3).

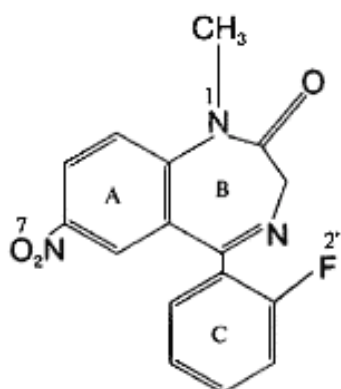


Рис. 3. Химическая структура флунитразепама (рогипнол).

Интенсивный поиск новых производных бензодиазепаина продолжался, и через несколько лет число 1, 4-бензо- и гетеродиазепинов перевалило за 300, а всего было получено, идентифицировано и исследовано около 4000 промежуточных и побочных продуктов.

С появлением производных бензодиазепаина началась новая эра в лечении тревожных расстройств. В настоящее время бензодиазепиновые производные – самая большая группа анксиолитических препаратов, насчитывающая более 100 активных субстанций (табл. 1), зарегистрированных в различных странах в качестве лекарственных средств.

Таблица 1

Транквилизаторы — производные бензодиазепаина, нашедшие наиболее широкое применение в клинической практике

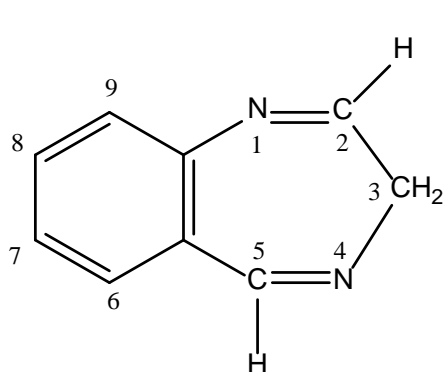
Генерическое, торговое (в скобках) название препарата	Путь введения, суточная доза (мг)	
	средняя	максимальная
Алпразолам (алзам, алзолам, алпракс, зенакс, кассапан, ксанакс, ксанаксретард, ламоз, неурол, трайка, хелекс)	1-2 внутрь	10 внутрь
Бромазепам (бромазепам ланнахер, калмипам, лексилиум, лексотанил, лексотан Рош, нормок)	4-6 внутрь	36 внутрь
Бротизолам (лендормин)	0.25 внутрь	0,5 внутрь
Гидазепам	60-200 внутрь	500 внутрь

Диазепам (апаурин, апо-дiazепам, валиум Рош, diaзeпaбeнe, diaзeпaм рaтиoфaрм, diaзeпaм ривoфaрм, diaзeпaм-тeвa, diaзeпeкc, диaпaм 5, кaлмпoуз, рeлaниум, ceдyкceн, cибaзoн, cикoтpин, фaуcтaн, фaуcтaн 5)	15-45 внyтpь, 20 внyтpивeннo	60 внyтpь, 80 внyтpивeннo
Клoбaзaм (фpизиyм)	20-40 внyтpь	80 внyтpь
Клoнaзeпaм (aнтeлeпcин, ривoтpил Рoш)	4-6 внyтpь, 1 внyтpивeннo	8 внyтpь, 2 внyтpивeннo
Дикaлий клoрaзeпaт (aпo-клoрaзeпaт, тpaнeкc, тpaнкceн)	20 внyтpь	60 внyтpь
Лoрaзeпaм (aпo-лoрaзeпaм, aтивaи, лoрaкc, лoрaм, лoрaтил, мepлит, тaвop, тeмeстa, тpaпeкc, ю-пaн)	6-9 внyтpь, 2 внyтpивeннo	12 внyтpь, 6 внyтpивeннo
Мeдaзeпaм (aнкcитoл, бeнзoл, имaзeпaм, мeдaypин, мeзaпaм, нoбpитeм, нoбpиyм, pyдoтeль)	30-40 внyтpь	70 внyтpь
Мидaзoлaм (дopмикyм Рoш, флopмидaл)	7.5-15 внyтpь	15 внyтpь
Нитpазeпaм (бeнзaлин, бepлидopм 5/10, мaгaдoн, нeoзeпaм, нитpaм, нитpocaн, paдeдopм, coнeбoн, эyнoктин)	5-10 внyтpь	25 внyтpь
Oкcaзeпaм (aдyмбpaн, aпo-oкcaзeпaм,	30-50 внyтpь	180 внyтpь

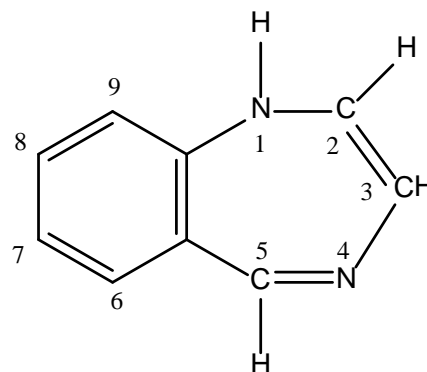
бензотран, нозепам, оксазепам ратиофарм, тазепам, сереста)		
Празепам (деметрил)	20 внутрь	60 внутрь
Темазепам (леванкол, сигнопам)	40-50 внутрь	60 внутрь
Тофизопам (грандаксин)	50 внутрь	300 внутрь
Триазолам (хальцион)	0,25 внутрь	1 внутрь
Феназепам	2-3 внутрь	10 внутрь
Флуразепам (апо-флуразепам, долмадорм, далман)	30 внутрь	60 внутрь
Флунитразепам (рогипнол Рош, сомнубене, флунитразепамтева)	1-2 внутрь	4 внутрь
Хлордiazепоксид (анксиал, апо-хлордiazепоксид, дроксол, напотон, радепур, сонимен, тимозин, хлозепид, элениум)	30-50 внутрь	100 внутрь
Эстазолам (домнамид, нукталон)	2 внутрь	4 внутрь
Комбинированные препараты		
Хлордiazепоксид и амитриптилин (лимбитрол, амиксид-5, амиксид-Н)	3 таблетка	6 таблеток
Хлордiazепоксид и клидиния бромид (либракс Рош)	1-3 драже	4 драже
Дiazепам и циклобарбитал (реладорм)	1 таблетка	2 таблетки

Производные 1,4-бензодиазепина

В основе структуры данных лекарственных веществ лежит структура 1,4-бензодиазепина двух типов (3Н-... и 1Н-...):

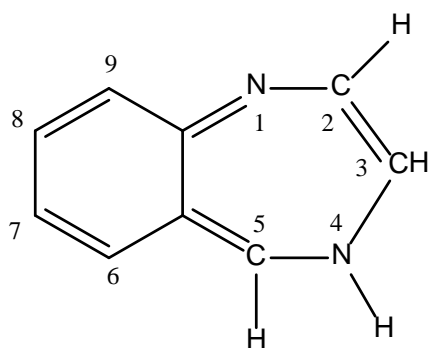


3Н-1,4-бензодиазепин

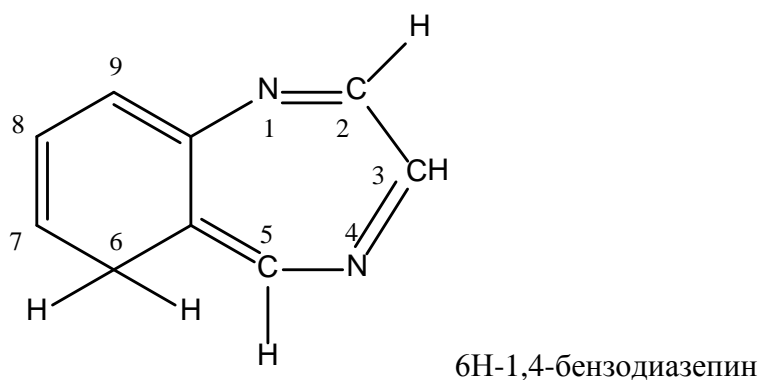
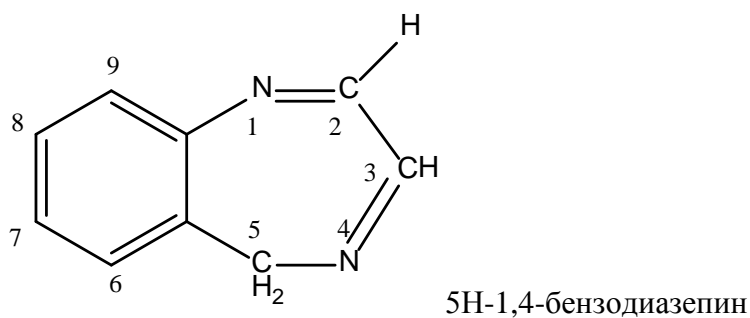


1Н-1,4-бензодиазепин

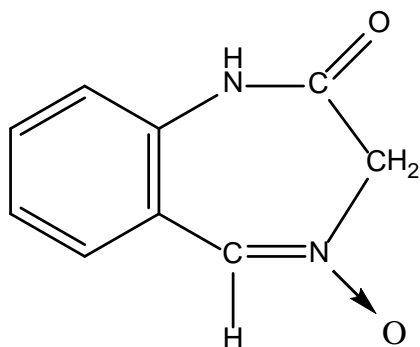
Дело в том, что данные структуры являются примером циклических соединений с т.н. "обозначенным водородом", в которых после распределения максимального числа сопряженных двойных связей остается звено $-CH_2-$ или $-NH-$ с т.н. лишним ("обозначенным") водородом, символ которого изображается курсивом. Для незамещенных гипотетических структур обозначение типа 1Н- или 3Н- носит в основном условный характер, однако для замещенных соединений указанные и возможные другие структуры становятся реальными и различными изомерами, которые необходимо различать. Так, кроме указанных, возможны 4Н-, 5Н- и другие 1,4-бензодиазепины:



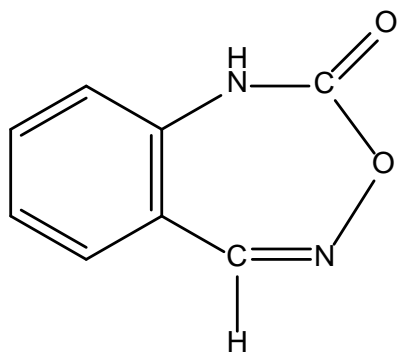
4Н-1,4-бензодиазепин



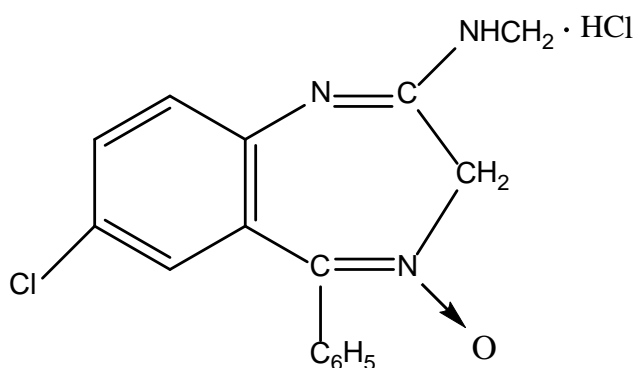
Сложность строения обусловила даже ошибку в определении строения первого из производных 1,4-бензодиазепина, полученного в 1926 году Ауверсом и Фрезе – 1H-1,4- бензодиазепин-4-N-оксида (установлено лишь в 1968 г. Л. Штернбахом и сотрудниками):



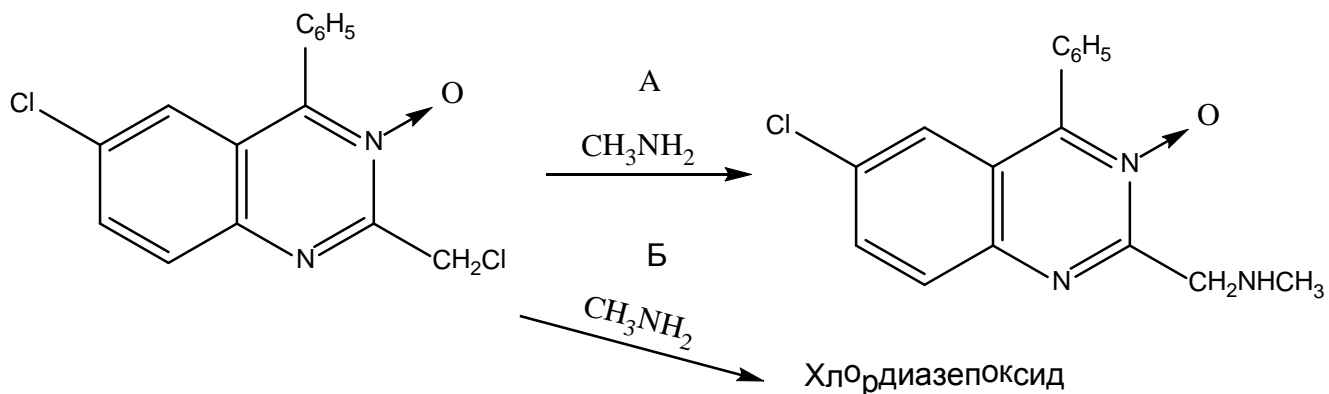
Первооткрыватели же приписали ему структуру 1,2,3,4-тетрагидро-4,1,5- бензоксадиазоцин-2-она:



В последующие годы появлялись отдельные сообщения о синтезе представителей данного класса. В 60-е годы начинается расцвет химии 1,4-бензодиазепинов в связи с созданием исследователями фирмы "Гоффман ля Рош" (Л. Штернбах, Л. Ронделл и др.) первого высокоэффективного транквилизатора данной группы – хлордiazепоксида (элениума, хлозепада):

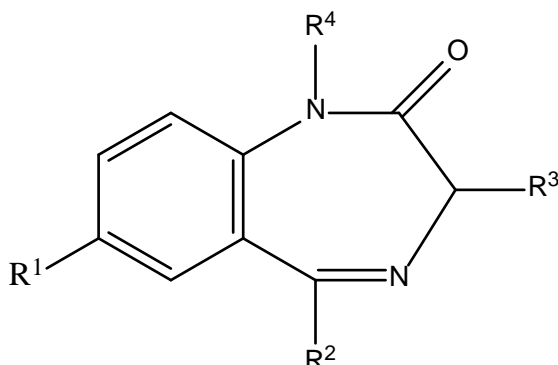


Поучительно, что последний был синтезирован случайно при попытке синтеза 2- алкиламинометильных производных 4-фенил-6-хлорхиназолин-3-N-окиси по схеме (А):



Однако, реакция привела к образованию хлордiazепоксида (схема Б) в результате ряда сложных химических превращений, приведших к перегруппировке с расширением 6- членного пиримидинового цикла до 7-

членного 1,4-бензодиазепинового. Вслед за хлордиазепоксидом были синтезированы и нашли применение более активные и интересные в фармакологическом отношении препараты общей структуры:



диазепам: $R_1 = \text{Cl}$, $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$, $R_3 = \text{H}$, $R_4 = \text{CH}_3$;

оксазепам: $R_1 = \text{Cl}$, $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{H}$;

нитразепам: $R_1 = \text{NO}_2$, $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$, $R_3 = R_4 = \text{H}$;

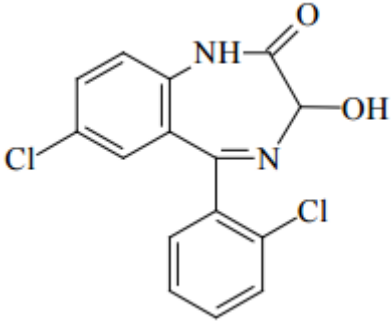
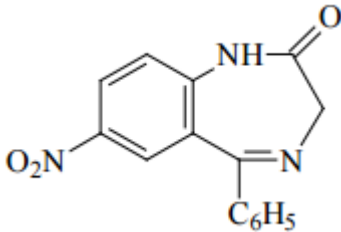
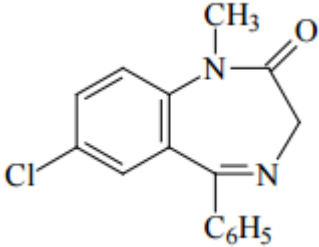
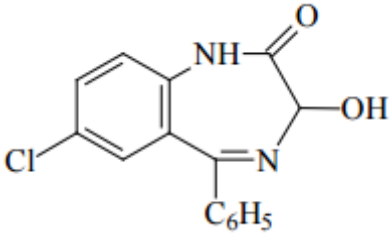
клоназепам: $R_1 = \text{NO}_2$, $R_2 = 2\text{-ClC}_6\text{H}_4$, $R_3 = R_4 = \text{H}$; и другие производные дигидро-1(3)*H*-1,4-бензодиазепин-2-она.

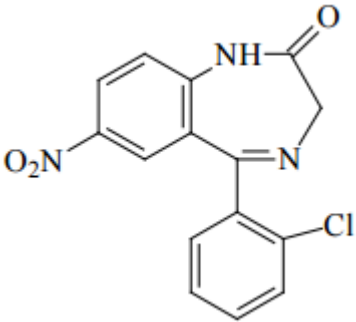
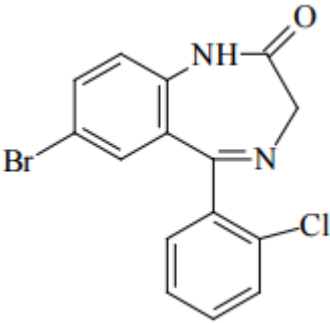
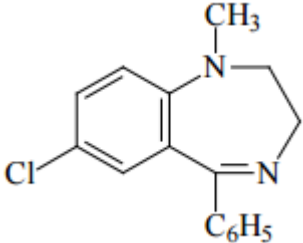
В 70-х годах широкие исследования транквилизаторов данной химической группы были предприняты в АН УССР и Государственном Университете им. Мечникова (Одесса) С. А. Андронати, А. В. Богатским и др. Большинство важных в практическом отношении производных 1,4-бензодиазепина имеют общие структурные фрагменты – оксогруппу в 2-положении, фенил- или замещенный фенил– в 5-положении и заместитель в 7-положении (Cl, Br, NO₂). Важнейшие представители, применяемые в Украине, приведены в таблице:

Таблица 2

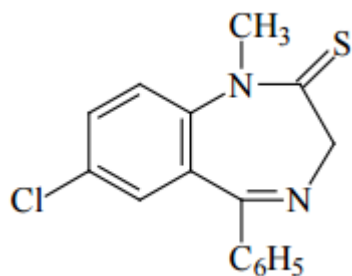
Важнейшие 1,4-бензодиазепины, применяемые в Украине

№ п/п	Формула, химическое номенклатурное название	Название препарата (синоним)

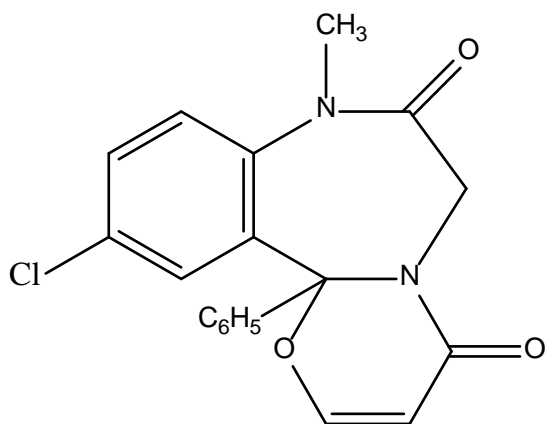
1.	 <p>7-хлор-5-(о-хлорфенил)-2,3-дигидро-3-гидрокси-1Н-1,4-бензодиазепин-2-он</p>	Лоразепам (тавор, ативан)
2.	 <p>7-нитро-1,2-дигидро-5-фенил-3Н-1,4-бензодиазепин-2-он</p>	Нитразепам (эуноктин, радедорм)
3.	 <p>7-хлор-1,2-дигидро-1-метил-5-фенил-3Н-1,4-бензодиазепин-2-он</p>	Сибазон (дiazepam, реланиум, седуксен)
4.	 <p>7-хлор-2,3-дигидро-3-гидрокси-5-фенил-1Н-1,4-бензодиазепин-2-он</p>	Нозепам (оксазепам, тазепам)

5.	 <p>7-нитро-5-(о-хлорфенил)-1,2-дигидро-3H-1,4-бензодиазепин-2-он</p>	Клоназепам
6.	 <p>7-бром-5-(о-хлорфенил)-2,3-дигидро-1H-1,4-бензодиазепин-2-он</p>	Феназепам (оригинальный отечественный препарат)
7.	 <p>7-хлор-2,3-дигидро-1-метил-5-фенил-1H-1,4-бензодиазепин</p>	Мезапам (медазепам, нобриум, рудотель)

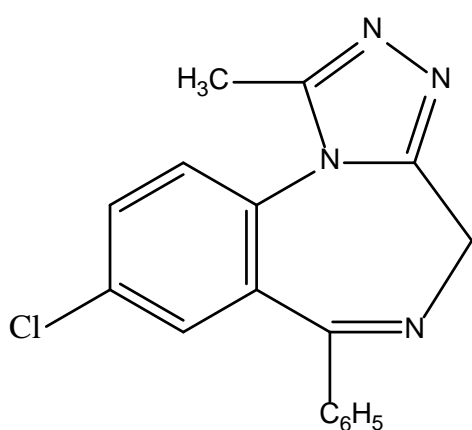
В настоящее время создано свыше 30 различных препаратов с транквилизирующей, противосудорожной, миорелаксантной и снотворной активностью. Среди них, например, сулазепам - 2-тиоаналог сибазона:



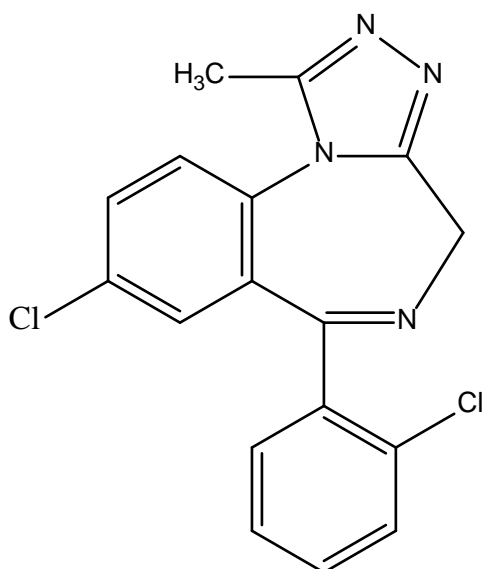
Установлено, что он в процессе метаболизма превращается в сибазон, далее – в нозепам. В последние годы интенсивно изучаются 1,4-бензодиазепины с аннелированными в различных положениях (например, 1,2-или 4,5-) гетероциклами. Наиболее интересны из них разрешенные к применению в зарубежной медицинской практике в качестве психотропных средств кетазолам, алипразолам и триазолам:



Кетазолам



Алипразолам



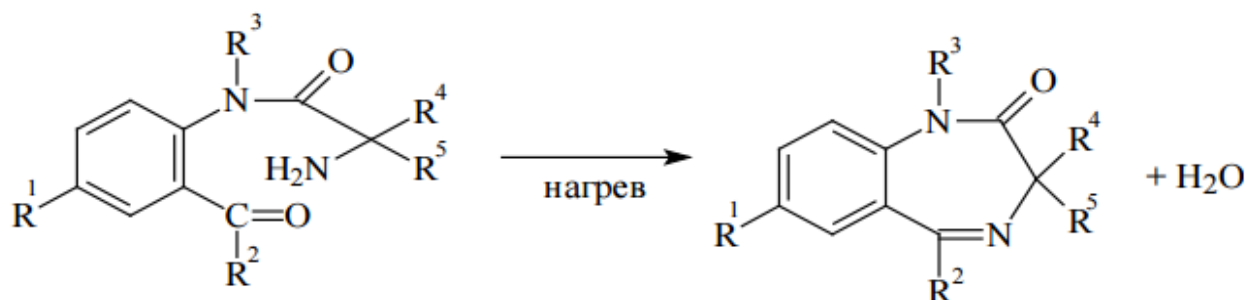
Триазолам

Следует отметить, что большинство препаратов этого ряда являются производными 1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепина.

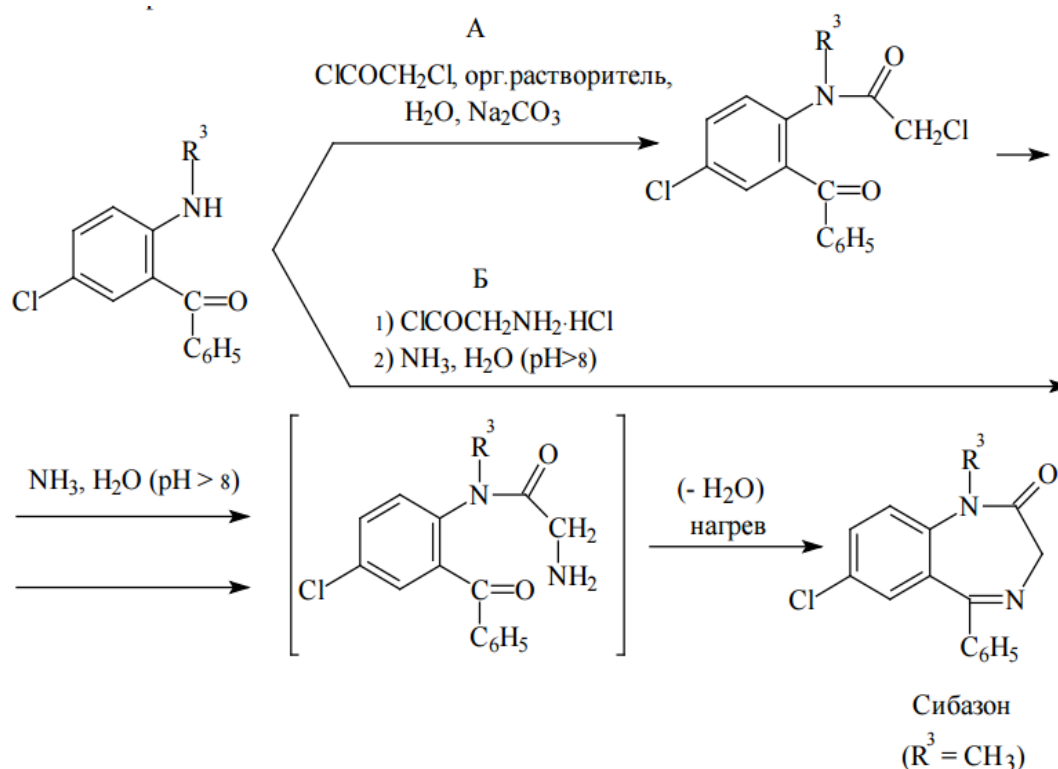
Химия и технология получения производных 1,4-бензодиазепина

В настоящее время целый ряд известных препаратов рассматриваемой группы производится отечественной промышленностью – феназепам, нозепам (с 1978 г.), сибазон – с 1979 г. Позже было освоено производство нитразепама, мезапама, хлозепада. Естественно, что более глубоко разработаны способы получения наиболее важных представителей – прежде всего 1,2-дигидро-3Н- или 2,3-дигидро-1Н-1,4-бензодиазепинов. Способ получения хлордiazепоксид (хлозепада) взаимодействием 3-окиси 2-хлорметил- 4-фенил-6-хлорхиназолина с метиламином, протекающим с расширением 6-членного пиримидинового цикла до diaзепинового, был показан выше и является типичным только для синтеза 4-N-окисей 3Н-1,4-бензодиазепинов. Основные методы синтеза 1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепин-2-онов сводятся в конечном счете к получению 2-[(N-аминоацил)-амино]-бензофенонов (содержащих в кольце, а также при атомах азота и углерода ацильной группы соответствующие требуемой

структуре заместители), легко циклизирующихся далее в бензодиазепиноны с образованием азометиновой связи по схеме:

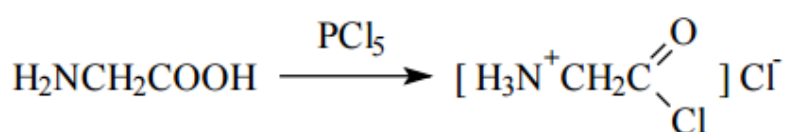


Однако, в качестве ключевых соединений при получении 1,4-бензодиазепинов используются и многие другие вещества. Следует обратить внимание и на выбор метода синтеза производных 2-[(N-аминоацил)-амино]-бензофенонов, которые, например, могут быть получены по следующим двум принципиальным схемам (А и Б) из соответствующих производных 2-аминобензофенона:

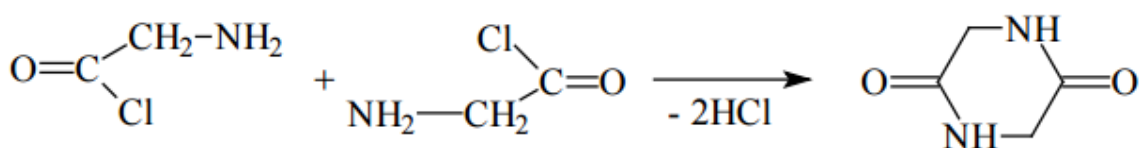


Несмотря на то, что путь Б короче, необходимо учитывать большую труднодоступность и стоимость гидрохлорида хлорангидрида аминоксусной

кислоты по сравнению с хлорангидридом монохлоруксусной кислоты. К тому же путь А и более технологичен, т.к. применение органического растворителя и воды на стадии ацилирования по видоизмененному методу Шоттена-Баумана обеспечивает гомогенность реакционной массы в соответствующих фазах и высокую скорость процесса, причем в более мягких условиях. Тем не менее, путь Б также нашел применение, например, в производстве феназепам. При этом гидрохлорид хлорангидрида аминоксусной кислоты получают взаимодействием глицина (аминоксусной кислоты) с наиболее активным из соответствующих реагентов - пентахлоридом фосфора в сухом хлороформе:

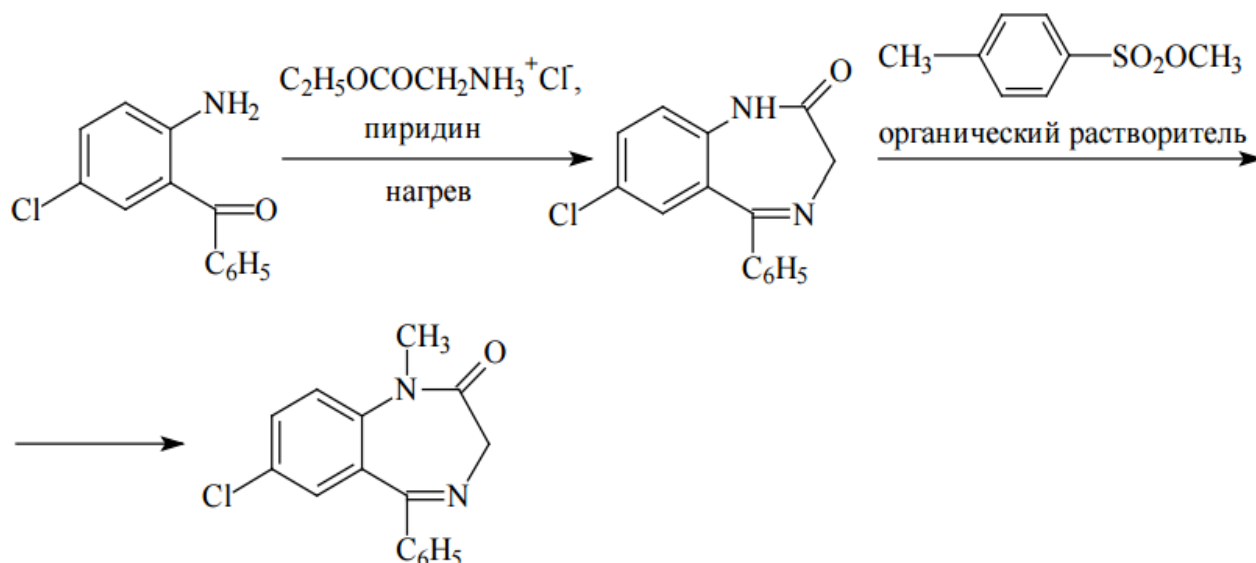


Очевидно, что соль не растворится в хлороформе и других органических растворителях, что осложняет последующее N-ацилирование. Попытки же выделения основания хлорангидрида аминоксусной кислоты предварительно или в ходе N-ацилирования приводят к побочным реакциям, например, к образованию 2,5-дикетопиперазина в результате легкой самоконденсации двух молекул основания:

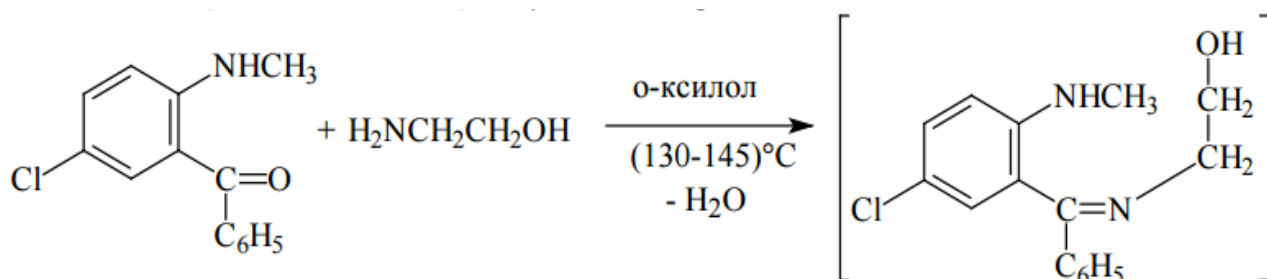


В связи с этим, более предпочтительным является путь А, который используется не только в производстве сибазона, нитразепам, но и в производстве нозепам и хлзепида. Кроме хлорангидридов соответствующих карбоновых кислот для ацилирования ароматической аминогруппы 2-аминобензофенонов возможно применение также соответствующих сложных эфиров. Так, для синтеза диазепам (сибазона) предложена следующая одностадийная схема конденсации с использованием гидрохлорида этилового

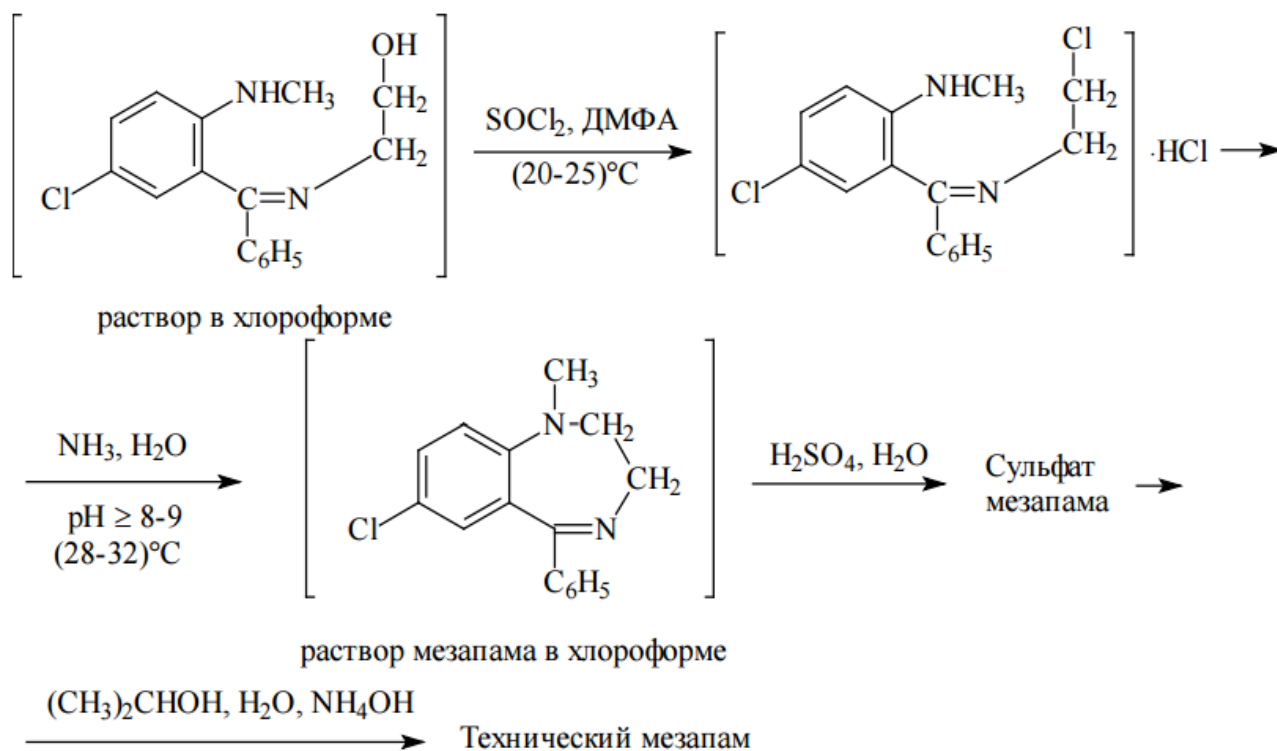
эфира аминокислоты нагреванием в пиридине с последующим метилированием промежуточного 7-хлор-1,2-дигидро-5-фенил-3Н-1,4-бензодиазепин-2-она метилтозилатом по схеме:



В связи с этой схемой излишне говорить о серьезных экологических проблемах широкого применения пиридина. Известно, что и получение гидрохлорида этилового эфира аминокислоты связано со значительными технологическими трудностями. На стадии же метилирования необходимо также решение проблемы отхода – пара-толуол-сульфокислоты. Таким образом, последний путь построения структуры бензодиазепина (конкретно, сибазона) явно уступает двум предыдущим. Как видно, во всех обсужденных вариантах образования 1,4-бензодиазепиновой структуры, последней ступенью является образование азометиновой связи. Однако, в синтезе мезапама легко реализуется альтернативный путь, по которому, наоборот, соответствующий "азометин" 2-метиламино-5-хлорбензофенона и 2-аминоэтанола (моноэтанолamina) получают на первой стадии схемы:



Конденсацию ведут при (130-145)°C в орто-ксилоле с отгонкой выделяющейся воды в виде тройной азеотропной смеси (о-ксилол-моноэтаноламин-вода) до прекращения водоотделения. После отгонки орто-ксилола полученный вполне устойчивый "азометин" растворяют в сухом хлороформе и передают на следующую стадию. Выход высокий – 90,5% от теории. Очевидно, что получение подобного "азометина" из основания хлорангида аминокислоты и соответствующего строения 2-аминобензофенона практически невозможно из-за трудности выделения основания хлорангида и высокой реакционной способности его как ацилирующего агента. Дальнейшая схема промышленного получения мезапама представлена ниже:



Азометин (Шиффово основание) хлорируют избытком хлористого тионила в хлороформе в присутствии каталитических количеств

диметилформамида. К полученной суспензии гидрохлорида азометина 2-хлорэтиламина и соответствующего бензофенона добавляют 25% водный аммиак до $\text{pH} \geq 8-9$, и ведут внутримолекулярное N-алкилирование (циклизацию) с образованием мезапама. Осадок хлористого аммония отфильтровывают. Выход мезапама в растворе до 82-84% от теории. Далее действием 50% серной кислоты осаждают сульфат мезапама и отфильтровывают (выход около 61%). Сульфат мезапама растворяют в (36-40)%-ном изопропанол, нейтрализуют (8-9)% водным аммиаком, кристаллизуют и отфильтровывают технический мезапам с выходом около 88%. Очистку ведут перекристаллизацией из 70% изопропанола с выходом 66-68% от технического продукта.

Таблица 3

Структурные различия некоторых производных 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	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---C---C---NH---NH}_2 \\ \text{H}_2 \end{array}$	-H	-H	-Br
Медазепам (мезапам)*	-CH ₃	-H	-H	-Cl
Хлордiazепоксид (хлозепид)**	-H	-H	-H	-Cl

*Отсутствует карбонильная группа.

**Между N₁ и C₂ — двойная связь (N₁=C₂); при C₂ стоит заместитель -NH(CH₃); в положении 4: N → O.

Физико-химические свойства

Производные 1,4-бензодиазепинов — бесцветные кристаллические вещества, практически нерастворимые в воде. Их соли (по амино- или карбоксильной группе) растворимы в воде.

Растворимость в органических растворителях зависит от химической природы вещества. Лучше всего они растворяются в апротонных растворителях.

Липофильность ($\lg K_p$) производных бензодиазепинов находится в диапазоне 2,16—2,98.

Структура веществ этой группы определяет характер поглощения в УФ-области.

В УФ-спектрах имеются три полосы поглощения с λ_{\max} в областях 200—215, 220—240 и 290—330 нм. Две первые полосы отвечают возбуждению ароматических хромофоров, а третью полосу связывают с колебательным возбуждением азометиновой группы.

Абсорбция производных 1,4-бензодиазепинов в УФ-области изменяется в зависимости от pH их растворов:

- в кислой среде — за счет протонирования атома азота в положении 1 или 4;
- в щелочной среде возможно изменение хромофорной системы (увеличение сопряжения за счет лактим-лактамной таутомерии азометиновой связи в положении 1, 2).

Это свойство положено в основу идентификации соединений данной группы по электронным спектрам поглощения.

Производные 1,4-бензодиазепинов являются слабыми основаниями, склонными к гидролизу в кислой и щелочной средах, в результате которого образуются аминокбензофеноны.

В табл. 4 приведены названия некоторых бензодиазепинов и соответствующих им аминокбензофенонов.

Некоторые бензодиазепины и соответствующие им аминокбензофеноны

Бензодиазепин	Продукт гидролиза — аминокбензофенон	
	Название	Сокращение
Оксазепам	2-амино-5-хлоробензофенон	АХБ
Хлордiazепоксид	2-амино-5-хлоробензофенон	АХБ
Диазепам	2-метиламино-5-хлоробензофенон	МАХБ
Нитразепам	2-амино-5-нитробензофенон	АНБ
Феназепам	2-амино, 5-бром, 2-хлоробензофенон	АБХБ
Медазепам	2-метиламино-5-хлоробензофенон	МАХБ

Другие испытания на подлинность производных бензодиазепина основаны на использовании химических реакций гидролиза, обнаружения третичного азота, декструкции молекул, обнаружения галогенов.

Общей на производные бензодиазепина, в т.ч. хлордiazепоксид, является реакция диазотирования и азосочетания первичной ароматической аминогруппы, образующейся после предварительного гидролиза при кипячении в растворе хлороводородной кислоты. При этом в результате кислотного гидролиза, образуется 2-амино-5-хлоробензофенон, который затем диазотируют. Реакция диазотирования лежит в основе нитритометрического определения производных бензодиазепина. В качестве азосоставляющих при получении азокрасителей используют β -нафтол (оксазепам), резорцин (феназепам), N-(1-нафтол) – этилендиамин дигидрохлорид, N-фенил-1 нафтиламин (оксазепам, феназепам).

Реакцию диазотирования и азосочетания после гидролиза дают только производные бензодиазепина, не содержащие заместителей в положении 1 (оксазепам, нитразепам, феназепам). Имеющие заместитель в этом положении

(диазепам) после гидролиза превращаются в окрашенные производные бензофенона. Диазепам образует 2–метиламино–5–хлорбензофенон, имеющий желтую окраску.

Гидролиз хлордиазепоксида при нагревании до кипения в хлороводородной кислоте протекает несколько иначе. Вначале происходит присоединение молекулы воды по двойной связи 1-2, затем отщепляется метиламин и образуется амидная связь. Последняя гидролизуется с выделением 2–амино–5–хлорбензофенона. После охлаждения раствора выполняют реакцию диазотинирования и азосочетания. При использовании в качестве реактива дигидрохлорида α –нафтилэтилендиамина возникает интенсивное красно – фиолетовое окрашивание (максимум поглощения при 514 нм).

Идентифицировать производные бензодиазепина можно с помощью реакции пиролиза. При нагревании около 0,01 г. лекарственного вещества в сухой пробирке над пламенем горелки образуются окрашенные в зеленый цвет плавы, сохраняющие окраску после добавления этанола вне зависимости от pH среды. Исключение представляет феназепам, образующий плавы фиолетового цвета или красно – фиолетового цвета, который меняется в зависимости от pH среды. После добавления этанола и раствора гидроксида натрия плавы приобретает сине – фиолетовую окраску, а при добавлении разведенной серной кислоты – сине-зеленую, переходящую в желтую. Это позволяет отличить феназепам от других производных бензодиазепина.

Воздействие щелочами в жестких условиях (сплавление с гидроксидом натрия) приводит к декструкции молекул производных бензодиазепина и выделению из амидной группы аммиака или метиламина (диазепам), обнаруживаемых с помощью лакмусовой бумаги. Оксазепам в этих условиях образует на стенках пробирки налет изумрудно – зеленого цвета.

Органически связанные атомы хлора (оксазепам, диазепам) и брома (феназепам) обнаруживают с помощью пробы Бельштейна. Сущность этой пробы заключается в том, что крупинка вещества, внесенная на медной проволоке в бесцветное пламя горелки, окрашивает его в зеленый цвет. Окраска обусловлена образованием летучих галогенидов меди.

Атомы галогенов можно обнаруживать также путем сжигания в колбе с кислородом, используя в качестве поглощающей жидкости раствор гидроксида натрия. Затем подкисляют полученный раствор серной кислотой и выполняют реакцию на хлориды или бромиды.

Идентифицировать производные бензодиазепина можно по образованию окрашенных флуоресцирующих продуктов в результате воздействия хлорной, серной и другими кислотами. Так, феназепам можно обнаружить по зеленовато – желтой окраске и флуоресценции в УФ–свете (при длине волны 254 нм) его раствора в смеси хлороформа, этанола и 2 -х капель раствора хлорной кислоты.

Ввиду наличия в молекулах третичных атомов азота производные бензодиазепина дают положительные реакции с осадительными (общеалкалоидными) реактивами (Драгендорфа, Бушарда, пикриновой кислотой), а также солью Рейнеке. Так, например, из раствора диазепама в разведенной хлороводородной кислоте при добавлении рейнеката аммония выпадает розовый осадок, растворимый в ацетоне.

Для идентификации оксазепама выполняют реакцию на амидокарбинольную часть молекулы. После нагревания спиртового раствора оксазепама с концентрированной фосфорной кислотой и добавления фуксинсернистой кислоты появляется фиолетовое окрашивание. Реакция основана на гидролизе амидокарбинольной группы с образованием формальдегида, который связывается фуксинсернистой кислотой,

восстанавливая при этом хиноидную структуру красителя (в присутствии сернистой кислоты).

При кипячении феназепама в растворе гидроксида натрия выделяется аммиак, который обнаруживают по посинению влажной красной лакмусовой бумаги, а раствор после подкисления хлороводородной кислотой и фильтрования дает положительную реакцию на бромиды.

Насыщенный раствор нитразепама в метаноле после добавления раствора гидроксида натрия и нагревания приобретает интенсивное желтое окрашивание. Нитрогруппу в нитразепаме можно обнаружить по реакции его спиртового раствора с раствором гидроксида натрия. Появляется желтое окрашивание, вызванное образованием аци-соли. Нитразепам можно также гидрировать цинковой пылью в присутствии хлороводородной кислоты. Происходит гидролиз и гидрирование ароматической нитрогруппы до аминогруппы с образованием 2,5-диаминобензофенона.

Обе аминогруппы с деазореактивом образуют бис-азосоединение (темно – красное окрашивание). Подлинность диазепама можно установить по цветной реакции с нингидрином. При кипячении смеси этого реактива с диазепамом и этанолом появляется светло – синее окрашивание, переходящее в красное или оранжево – красное после добавления раствора сульфата меди. Хлордиазепоксид в этих условиях дает коричневую, а нитразепам – желто – коричневую окраску.

Наличие посторонних примесей (производных 2-аминобензофенона) устанавливают методом ТСХ на пластинках Силуфол УФ–254. Хроматографируют восходящим методом вместе со свидетелем в различных системах растворителей. Содержание примесей оценивают по величине и интенсивности окраски пятен, сравнивая со свидетелями в УФ–свете при длине волны 254 нм. Этот метод используют для испытания подлинности медазепама

в таблетках. Методом ГЖХ определяют в диазепаме содержание остаточных растворителей (изопропилового спирта – не более 0,2%), используя раствор внутреннего стандарта (бутанола-2).

Титрование производных бензодиазепина ацидиметрическим методом в водных или спиртовых растворах невозможно, так как основность атома азота в положении 4 – сильно понижена за счет сопряжения с ароматическим ядром:

Количественное определение производных бензодиазепина выполняют методом неводного титрования, используя в качестве растворителей муравьиную кислоту (феназепам и оксазепам) в сочетании с уксусным ангидридом. Нитразепам и диазепам растворяют в уксусном ангидриде, а хлордиазепоксид – в ледяной уксусной кислоте. Титрантом во всех случаях служит 0,1 М раствор хлорной кислоты. Эквивалентную точку устанавливают с помощью индикатора кристаллического фиолетового или потенциометрическим методом.

Количественное содержание производных бензодиазепина в лекарственных формах можно определить спектрофотометрическим методом по собственному поглощению раствора в указанных максимумах поглощения (медазепам, феназепам, оксазепам и др.), а также фотоколориметрическим методом с использованием реакции азосочетания (после предварительного гидролиза и диазотирования) или других цветных реакций.

Для аналитических целей может быть использована способность феназепама восстанавливаться. Этот процесс лежит в основе полярографического анализа феназепама.

Фармакология и токсикология

По фармакологическому действию производные бензодиазепаина относятся к транквилизаторам, снотворным, противосудорожным препаратам и нейтрально действующим мышечным релаксантам. Транквилизаторы применяют для устранения беспокойства, чувства тревоги и страха, уменьшения внутреннего напряжения, раздражительности, лечения бессонницы и других проявлений невротических, неврозоподобных, психопатических и психоподобных состояний, вегетативных дисфункций. Поэтому главной мишенью применения транквилизаторов являются различные тревожно-фобические синдромы непсихотического уровня, как острые, так и хронические, развивающиеся в рамках так называемых пограничных состояний.

Одна из классификаций производных бензодиазепаина основана на продолжительности действия. Согласно этой классификации, выделяют препараты длительного действия (например, диазепам, феназепам, циназепам, нитразепам, флунитразепам), средней длительности действия (хлордиазепоксид, лоразепам, нозепам, алпразолам и др.) и короткого действия (мидазолам, триазолам).

Традиционно выделяют так называемые дневные транквилизаторы, у которых преобладает собственно анксиолитическое действие и минимально выражены седативный, снотворный, миорелаксантный эффекты, — мезапам (рудотель), тофизопам (грандаксин), гизазепам, клоразепат (транксен).

Подобный подход к классификации, однако, не учитывает механизм действия транквилизаторов, который особенно важен для понимания токсикодинамики и сущности побочного действия.

Нарушения передачи информации между клетками во многих случаях обеспечивают развитие патологических процессов. Межклеточная коммуникация включает перенос сигнала с помощью химических соединений,

для которых на клетках-реципиентах существуют специальные воспринимающие элементы — рецепторы. В настоящее время около 2/3 всех выписываемых врачами препаратов имеет «рецепторный» механизм действия, а в психофармакологии этот показатель приближается к 100%.

Различные по химической структуре депрессанты — алкоголь, барбитураты, небарбитуратные успокоительные средства и бензодиазепины — оказывают схожее действие при эквивалентных дозах. Кроме того, между ними существует перекрестная толерантность. Они могут усиливать действие друг друга. Существует также перекрестная зависимость, так как соответствующая доза любого депрессанта может использоваться для уменьшения абстинентного синдрома, вызванного другим депрессантом. Действительно, бензодиазепины часто используют для смягчения последствий при отказе от алкоголя. Были получены достоверные доказательства об объединении механизма воздействия депрессантов. В 1977 г. ученые сообщали об открытии бензодиазепиновых рецепторов. Производные бензодиазепина взаимодействуют с бензодиазепиновыми рецепторами (рис. 4), которые расположены только в одной из нейротрансмиттерных систем — ГАМК-ергической (как с пре-, так и с постсинаптическими ГАМК-ергическими нейронами).

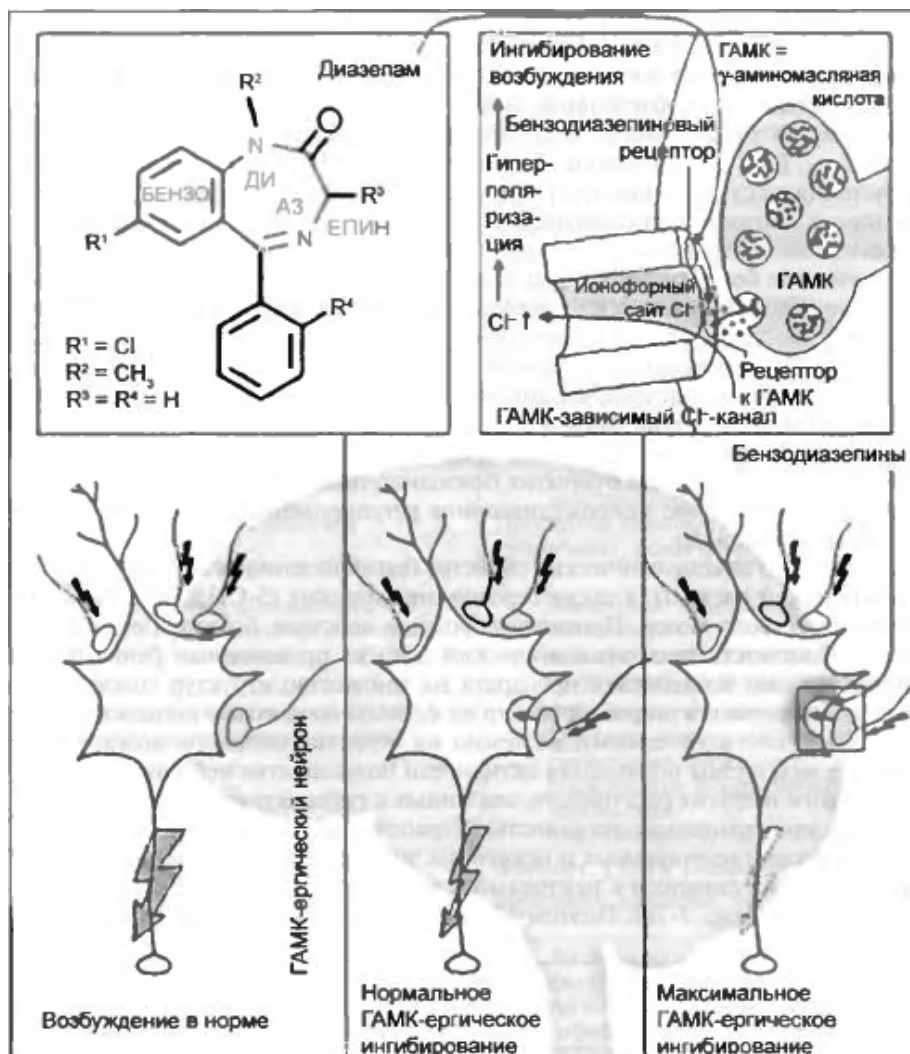


Рис. Механизм действия бензодиазепинов, основанный на связывании со специфическим участком ГАМК-рецептора

ГАМК представляет собой основной ингибитор нейротрансмиссии в ЦНС. Эта аминокислота действует, связываясь с ГАМК-рецепторами — лигандзависимыми каналами, в которых участок связывания нейромедиатора и ионный канал составляют один макромолекулярный комплекс. Поскольку ионный канал, входящий в состав ГАМК-рецептора, селективно пропускает внутрь нейрона анионы хлора, активация ГАМК-рецептора приводит к гиперполяризации нейрона и, таким образом, тормозит запуск потенциала

нейропередачи. Механизм действия бензодиазепинов основан на связывании со специфическим участком ГАМК-рецептора.

Фармакология ГАМК-рецептора достаточно сложна. ГАМК-рецептор служит основным местом действия не только бензодиазепинов, но и барбитуратов, а также обуславливает некоторые токсические эффекты этанола.

Бензодиазепины и барбитураты связываются с различными участками рецептора и усиливают тормозящее действие ГАМК. Они действуют посредством аллостерической регуляции, изменяя конфигурацию рецептора так, что его сродство к ГАМК увеличивается. Кроме того, эти препараты взаимно усиливают действие друг друга. Этиловый спирт также действует аллостерически, повышая сродство рецептора к ГАМК и другим препаратам. Он не связывается с самим рецептором, а изменяет мембранное окружение. В высоких дозах барбитураты и этиловый спирт, но не бензодиазепины, могут открывать каналы для ионов хлора независимо от ГАМК. Тот факт, что бензодиазепины, барбитураты и этиловый спирт действуют на один и тот же рецептор, объясняет их фармакологический синергизм (а значит, опасность передозировки при комбинированном применении) и перекрестную толерантность. Например, бензодиазепины оказывают влияние на познавательную и психомоторную деятельность и ухудшают внимание водителей, что усиливается алкоголем.

Перекрестная толерантность используется при детоксикации больных алкоголизмом бензодиазепиновыми препаратами.

ГАМК-рецепторы состоят из нескольких субъединиц. Активный ГАМК-рецептор включает 2 α -субъединицы, 2 β -субъединицы и γ - или δ -субъединицу. С бензодиазепинами взаимодействуют только те рецепторы, у которых имеется γ -субъединица. Выявлено несколько разновидностей α -, β - и γ - субъединиц. Разнообразие ГАМК-рецепторов обеспечивается различными сочетаниями субъединиц, потому следует надеяться на разработку в будущем новых, более селективных бензодиазепиноподобных препаратов, обладающих менее выраженным седативным действием или реже вызывающих зависимость.

Основное действие бензодиазепинов связано с аллостерической регуляцией ГАМК-рецепторов, однако, принимая во внимание широкое распространение в ЦНС ГАМК-рецепторов, пока неясно, как достигается специфическое анксиолитическое действие бензодиазепинов, применяемых в терапевтических дозах. Какие именно ГАМК-эргические синапсы из множества присутствующих в ЦНС опосредуют анксиолитическое действие бензодиазепинов? Каковы их нормальные физиологические функции?

Безусловно, рецепторы бензодиазепинов существуют в головном мозге с какой-то целью, и вряд ли они просто ждали открытия бензодиазепинов. Более вероятно, что бензодиазепины имитируют естественное нейромедиаторное регулирование страха или беспокойства, но этот факт пока не установлен.

Предполагается, что анксиолитические свойства бензодиазепинов связаны с ингибированием нейронов лимбической системы, а также серотонинергических (5-СН или 5-НТ) и норадренергических нейронов ствола мозга. Противосудорожное действие бензодиазепины оказывают на нейроны коры. Соответственно терапевтический эффект производных бензодиазепина — результат одновременного воздействия препарата на множество структур головного мозга, чем, по-видимому, и определяется широкий спектр их фармакологической активности. Производные бензодиазепина воздействуют преимущественно на области головного мозга, стимулирующие физиологические механизмы подавления активности большинства нейронов. Этим объясняется купирование тревоги и других расстройств, связанных с гиперактивностью нейронов (например, пароксизмальная эпилептическая активность). Терапевтический эффект бензодиазепинов, реализующийся в редукции вегетативных и некоторых эндокринных нарушений, объясняется участием ГАМК-эргических синапсов в центральных механизмах регуляции функций эндокринной и вегетативной систем (рис. 5).

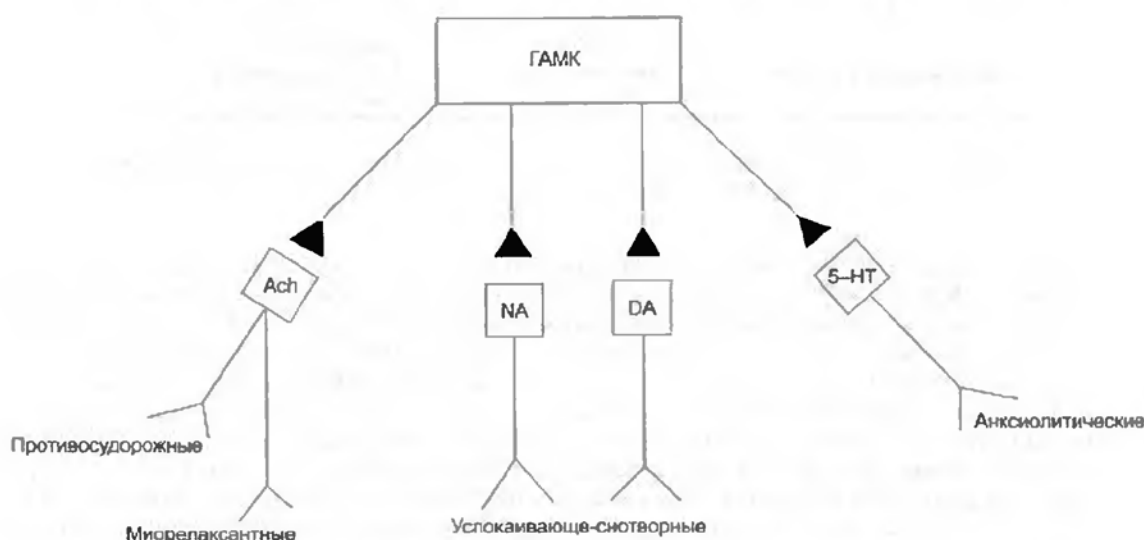


Рис. Различное фармакологическое действие бензодиазепинов, усиливающее тормозящее влияние ГАМК-нейронов на другие нейромедиаторные системы.

Почти все эффекты бензодиазепинов связаны с влиянием на ЦНС: в первую очередь это седативное, снотворное, противосудорожное, анксиолитическое, миорелаксирующее действие и антероградная амнезия. Лишь два эффекта, по-видимому, обусловлены действием на периферические ткани: расширение коронарных артерий (при в/в введении обычных доз некоторых бензодиазепинов) и блокада нервно-мышечного проведения (на фоне очень высоких доз).

По активности *in vivo* и *in vitro* выделяют полные агонисты (стимуляторы) бензодиазепиновых рецепторов (они оказывают выраженный эффект, занимая небольшое число рецепторов), например диазепам, и частичные агонисты (их максимальный эффект менее выражен или требует активации большего числа рецепторов). Некоторые вещества — обратные агонисты — в отсутствие стимуляторов оказывают действие, обратное таковому диазепаму; описаны также частичные обратные агонисты.

Большинство эффектов агонистов и обратных агонистов устраняет или предотвращает флумазенил — блокатор бензодиазепиновых рецепторов, конкурирующий за них с бензодиазепинами. Сходным образом действуют и некоторые другие препараты.

ЦНС. Бензодиазепины влияют на активность всех отделов ЦНС, но одни затрагиваются в большей степени, чем другие. Эти препараты не способны вызвать такое глубокое угнетение ЦНС, как барбитураты и ингаляционные анестетики. Бензодиазепины очень близки по фармакологическим свойствам, но различаются по избирательности действия, что существенно влияет на показания к отдельным препаратам.

С увеличением дозы бензодиазепинов на смену седативному действию приходят сон и далее сопор. Нередко пишут об анестезирующем эффекте некоторых бензодиазепинов, но истинной общей анестезии не наступает, поскольку сознание обычно сохраняется и не достигается достаточного для операции расслабления мышц. Однако высокие дозы вызывают антероградную амнезию, что может создать иллюзию анестезии.

Новые данные о молекулярных основах разнообразия бензодиазепиновых рецепторов привели к попыткам отделить анксиолитический эффект от седативного и снотворного. Однако эта задача оказалась непростой, так как количественно оценить тревожность и седативный эффект у человека сложно, а надежность экспериментальных моделей на животных не известна.

Существование множества бензодиазепиновых рецепторов отчасти объясняет видовые различия в эффектах бензодиазепинов.

Модели тревожности у животных. В экспериментах на животных основное внимание уделяли способности бензодиазепинов повышать активность (подвижность, пищевое и питьевое поведение), подавляемую новыми или неприятными раздражителями. Для этого поведение животных, ранее вознаграждавшееся пищей или водой, периодически наказывалось

ударом тока. Удар предварялся зрительным или звуковым сигналом, и животные, не получавшие бензодиазепинов, в ответ на этот сигнал почти полностью прекращали активность. Бензодиазепины устраняли различие в активности животных на фоне ударов тока и в их отсутствие, причем применяемые дозы, как правило, не влияли на активность в отсутствие ударов тока и не вызывали двигательных нарушений. В других моделях незнакомая обстановка резко снижала поисковую активность у крыс, и бензодиазепины устраняли этот эффект. Наркотические анальгетики и нейролептики не вызывают подобного растормаживания, а фенобарбитал и мепробамат делают это лишь в дозах, угнетающих спонтанную активность или ведущих к атаксии.

Различия между дозами бензодиазепинов, вызывающими двигательные нарушения и растормаживание, сильно зависят от препарата, вида животного и схемы опыта. Хотя эти различия могли способствовать продвижению на рынок некоторых бензодиазепинов в качестве избирательных транквилизаторов и снотворных средств, они не позволили предсказать седативную активность бензодиазепинов, нашедших применение в качестве анксиолитических препаратов.

Толерантность. Говоря о различии между растормаживанием, седативным и атаксическим действием бензодиазепинов, часто ссылаются на данные о толерантности у животных. Так, толерантность к угнетающему влиянию на спонтанную и вознаграждаемую активность наступает через несколько дней; растормаживающее же действие вначале нарастает, а ослабевает через 3-4 недели (File, 1985). У большинства людей, длительно принимающих бензодиазепины, сонливость исчезает в течение нескольких дней, но толерантность к ряду проявлений психомоторной заторможенности (например, при тесте реакции на движущийся объект) обычно не наблюдается.

Толерантность к анксиолитическому действию остается спорной (Lader and File, 1987). Многие больные способны обходиться без существенного изменения дозы, и ее снижения и повышения, очевидно, отражают колебания

эмоциональной нагрузки. Однако некоторые больные не снижают дозу по окончании стресса или постоянно наращивают ее, что, по-видимому, говорит о зависимости (Woods et al., 1987; DuPont, 1988).

Некоторые бензодиазепины снижают мышечный тонус, не влияя на двигательную активность, и могут ослаблять ригидность при центральных параличах. Однако у человека (в отличие от животных) их избирательность ограничена. Клоназепам оказывает миорелаксирующее действие в дозах, недостаточных для седативного эффекта, — в отличие от диазепама и большинства его аналогов. К миорелаксирующему и атаксическому действию бензодиазепинов развивается толерантность.

Бензодиазепины подавляют эпилептические припадки, вызванные пентетразолом и пикротоксином, но судороги, вызванные стрихнином и током высокого напряжения, предотвращаются лишь в дозах, резко нарушающих двигательную активность. У клоназепама, нитразепама и нордазепама противосудорожная активность более избирательна, чем у других препаратов. Бензодиазепины подавляют также фотогенные припадки у павианов и припадки при алкогольном абстинентном синдроме у людей. К сожалению, толерантность к противосудорожному действию ограничивает применение бензодиазепинов при эпилепсии.

Бензодиазепины оказывают обезболивающее действие у животных, но у человека отмечен лишь преходящий обезболивающий эффект при в/в введении этих препаратов, который в действительности может быть обусловлен амнезией. Несомненно, однако, что бензодиазепины, в отличие от барбитуратов, не вызывают гипералгезию.

Влияние на ЭЭГ и структуру сна. По действию на ЭЭГ в состоянии бодрствования бензодиазепины напоминают другие транквилизаторы и снотворные: снижается доля α -ритма, а доля быстрого низкоамплитудного ритма возрастает. К этим эффектам развивается толерантность.

Большинство бензодиазепинов ускоряют засыпание (особенно при первом использовании), уменьшают число и длительность пробуждений. Обычно сокращается I стадия (поверхностный сон), резко укорачиваются III и IV стадии (глубокий, медленный сон). Большинство препаратов сокращают время от появления сонных веретен до начала быстрого сна (V стадии). Уменьшается и общая продолжительность быстрого сна, но возрастает число его периодов, главным образом под конец сна. Золпидем подавляет быстрый сон в меньшей мере, благодаря чему может иметь преимущество перед бензодиазепинами в качестве снотворного (Dujardin et al., 1998).

Несмотря на укорочение быстрого сна и IV стадии медленного сна, обычно бензодиазепины увеличивают общее время сна, главным образом за счет удлинения II стадии (основной составляющей медленного сна). Этот эффект тем более выражен, чем короче был сон до назначения бензодиазепинов. Кроме того, несмотря на учащение периодов быстрого сна, снижаются частота переходов к I стадии, частота пробуждений и число движений во сне. Ночные пики концентрации СТГ, пролактина и ЛГ не меняются. При регулярном приеме бензодиазепинов на ночь их влияние на структуру сна обычно сглаживается через несколько дней. После отмены препарата возможен рикошетный эффект, особенно выраженным бывает увеличение доли и общей продолжительности быстрого сна. Впрочем, если доза была не слишком велика, больной отмечает лишь укорочение сна, но не усугубление бессонницы.

Хотя отмечены некоторые различия в действии бензодиазепинов на структуру сна, все они обычно приносят ощущение глубокого освежающего сна. Не ясно, влиянием на какой показатель структуры сна оно обусловлено. В результате преимущества отдельных препаратов в качестве снотворных определяются главным образом их фармакокинетикой, а не возможными различиями в фармакодинамике.

Механизм действия. Большинство эффектов бензодиазепинов связывают с действием на рецепторы тормозного медиатора ГАМК. Эти мембранные рецепторы подразделяют на два основных типа: ГАМК_А и ГАМК_В. ГАМК_Д-рецепторы — это хемочувствительные хлорные каналы, образованные пятью субъединицами, пронизывающими клеточную мембрану. Эти рецепторы опосредуют большую часть тормозных сигналов в ЦНС. ГАМК_В-рецепторы сопряжены с G-белками; они состоят из единственного белка с семью трансмембранными доменами. Бензодиазепины действуют только на ГАМК_Д-рецепторы соединяясь с особым участком рецептора, отличным от участка связывания ГАМК. В отличие от барбитуратов сами они не активируют рецептор и требуют присутствия ГАМК, то есть лишь модулируют ее действие. Бензодиазепины и аналоги ГАМК связываются с рецепторами в наномолярных концентрациях и действуют как аллостерические регуляторы связывания друг друга. Лиганды бензодиазепиновых рецепторов могут действовать как стимуляторы, обратные агонисты и блокаторы: первые увеличивают, а вторые уменьшают хлорный ток, возникающий в ответ на активацию ГАМК_А-рецепторов. В первом случае кривая зависимости эффекта от концентрации ГАМК сдвигается влево, а во втором — вправо. Блокаторы бензодиазепиновых рецепторов устраняют оба этих эффекта, но в отсутствие стимулятора и обратного агониста не оказывают никакого эффекта. Одно из таких веществ, флумазенил, используется как антидот при передозировке бензодиазепинов. Кроме того, поведенческие и электрофизиологические эффекты бензодиазепинов могут быть ослаблены или устранены предварительным введением блокаторов ГАМК_Д-рецепторов (например, бикикуллина).

Данные, полученные при клонировании ДНК субъединиц ГАМК_Д-рецепторов, подтверждают прямое влияние бензодиазепинов на эти рецепторы (Schofield et al., 1987; Pritchett et al., 1989). При экспрессии *in vitro* ГАМК_Д-рецепторов, образованных из соответствующих субъединиц (см. ниже), выявляются участки связывания с высоким сродством с бензодиазепинами

регистрируется хлорный ток, активируемый ГАМК и усиливаемый бензодиазепинами. Такие рецепторы по свойствам близки к своим естественным аналогам в нейронах ЦНС. ГАМК_д-рецептор включает 5 гомологичных субъединиц. На сегодня описано 16 вариантов субъединиц, объединенных в 7 семейств: 6 α -субъединиц, по 3 β - и γ -субъединицы и по одной δ -, ϵ -, θ - и ζ -субъединице. Кроме того, возможен альтернативный сплайсинг РНК некоторых из них (γ_2 и α_6). Точный состав ГАМК_д-рецепторов пока не известен, считается, что большинство из них включает α -, β и γ -субъединицы, которые могут находиться в разных соотношениях. Разнообразие субъединиц ведет к неоднородности ГАМК_д-рецепторов, что, по крайней мере отчасти, объясняет различия в фармакологических свойствах бензодиазепиновых рецепторов, выявляемые в поведенческих, биохимических и функциональных исследованиях. Изучение клонированных ГАМК_д-рецепторов показало, что присоединение γ -субъединицы к α - и β -субъединицам придает рецептору чувствительность к бензодиазепинам (Pritchett et al., 1989). Рецепторы из одних α - и β -субъединиц функционируют и реагируют на барбитураты, но не связывают бензодиазепины и не реагируют на них. Предполагается, что бензодиазепиновый рецептор лежит на стыке α - и β -субъединиц и обе они влияют на его свойства (McKernan et al., 1995). Так, рецепторы с α_1 -субъединицей отличаются по свойствам от рецепторов с α_2 -, α_3 - и α_4 -субъединицами (Pritchett and Seeburg, 1990), что согласуется с данными о неоднородности ГАМК_д-рецепторов, полученными при изучении связывания меченых лигандов с мембранами нейронов. Рецепторы с $\alpha\beta$ -субъединицей обладают низким сродством к диазепаму, но избирательны в отношении обратного агониста RO-15-4513, который испытывался как антидот этанола (Liiddens et al., 1990). Тип γ -субъединицы также влияет на свойства бензодиазепиновых рецепторов: γ_1 -субъединица снижает сродство к бензодиазепинам (McKernan et al., 1995). Теоретически разные субъединицы могут образовывать сотни тысяч ГАМКА-рецепторов, но ввиду особенностей сборки число рецепторов ограничено (Sieghart et al., 1999).

Новые работы проливают свет на значение отдельных субъединиц ГАМКд-рецепторов для тех или иных эффектов бензодиазепинов *in vivo*. После замены в α_1 -субъединице на аргинин диазепам утрачивает способность усиливать действие ГАМК на рецептор (Kleingoor et al., 1993). У мышей с такими субъединицами теряется седативное, амнестическое и отчасти противосудорожное действие диазепама, но сохраняются его анксиолитические, миорелаксирующие свойства и способность усиливать эффект этанола (Rudolph et al., 1999; McKernan et al., 2000). Аналогичная замена в α_2 -субъединице нарушает у мышей анксиолитическое действие диазепама (Low et al., 2000). Выявление связи поведенческих эффектов бензодиазепинов с теми или иными субъединицами поможет разработать препараты с меньшим числом побочных действий. Так, соединение L-838 417 усиливает действие ГАМК на рецепторы, состоящие из α_2 -, α_3 -или α_5 -субъединиц, но не влияет на рецепторы с α_1 -субъединицей; в результате оно оказывает анксиолитический эффект в отсутствие седативного (McKernan et al., 2000).

Субъединицы ГАМКд-рецепторов могут отвечать и за нормальную локализацию собранных рецепторов в синапсах. У мышей без γ_2 -субъединицы эта локализация нарушалась, хотя происходила сборка рецепторов и их перенос на клеточную мембрану (Essrich et al., 1998). Распределение рецепторов регулирует также белок гефирин.

ГАМКрецепторы и эффекты бензодиазепинов. Высокая безопасность бензодиазепинов объясняется, по-видимому, зависимостью их эффектов от наличия ГАМК в синаптической щели: в ее отсутствие бензодиазепины не влияют на ГАМКд-рецепторы. Барбитураты в низких дозах также усиливают действие ГАМК, но в высоких напрямую активируют эти рецепторы, вызывая глубокое угнетение ЦНС (см. ниже). Растормаживающее и седативное действие бензодиазепинов может быть сопряжено с потенцирующим влиянием на ГАМК-ергические пути, регулирующие активность моноаминергических

нейронов. Эти нейроны отвечают за общую активацию и служат важными посредниками тормозного действия страха и наказания на поведение.

Миорелаксирующий и противосудорожный эффекты связывают с усилением тормозного влияния ГАМК-эргических нейронных контуров в различных отделах ЦНС. В большинстве исследований *in vivo* и *in situ* местное и системное введение бензодиазепинов снижало спонтанную и индуцированную электрическую активность главных (крупных) нейронов всех отделов головного и спинного мозга. Эту активность регулируют, в частности, мелкие тормозные вставочные нейроны, в основном ГАМК-эргические, путем прямого и возвратного торможения. Выраженность эффектов бензодиазепинов может колебаться в широких пределах в зависимости от типа тормозных нейронных контуров, источника и силы возбуждающего сигнала, а также условий эксперимента и методов оценки. Так, контуры возвратного торможения часто включают мощные тормозные синапсы на теле нейрона рядом с аксонным холмиком. Действуя на рецепторы в области этих синапсов, ГАМК (будь то выделившаяся из пресинаптических окончаний или искусственно апплицированная) повышает хлорную проницаемость; это вызывает шунтирование деполяризующих токов и затрудняет генерацию потенциала действия. Бензодиазепины существенно увеличивают период после короткой активации возвратных ГАМК-эргических волокон, в течение которого ни естественные, ни искусственные возбуждающие стимулы не могут вызвать потенциал действия; этот эффект устраняет блокатор ГАМК-рецепторов бикикуллин.

В исследованиях *in vitro* показано, что бензодиазепины усиливают хлорный ток за счет повышения частоты вспышек открывания одиночных каналов под действием субмаксимальной концентрации ГАМК (Twyman et al., 1989). В терапевтических концентрациях они потенцируют постсинаптическое торможение, снижая тем самым реакцию на раздражение афферентных волокон. Наблюдается также удлинение спонтанных миниатюрных ТПСП.

Барбитураты также усиливают хлорный ток, но за счет повышения времени пребывания одиночных каналов в открытом состоянии. Бензодиазепины смещают влево кривую зависимости эффекта (то есть хлорного тока) от концентрации ГАМК, но не увеличивают максимальный ток. Вместе с данными работ *in vivo* это укладывается в гипотезу, согласно которой действие бензодиазепинов обусловлено потенцированием действия ГАМК на ГАМКд-рецепторы. Как говорилось выше, ряд экспериментальных бензодиазепинов и сходных веществ действуют как обратные агонисты бензодиазепиновых рецепторов: они уменьшают вызываемый ГАМК хлорный ток, приводя к эпилептическим припадкам и другим эффектам, обратным таковым типичных бензодиазепинов (Gardner, 1988; Gardner et al., 1993). Отдельные вещества, в первую очередь флумазенил, блокируют эффекты тех и других *in vitro* и *in vivo*, но сами не оказывают какого-либо действия. Новые данные, полученные в молекулярных исследованиях, подтвердили гипотезу о ГАМКд-рецепторах как основной мишени бензодиазепинов. Более того, разнообразие этих рецепторов позволяет объяснить многие наблюдения, казалось, противоречившие ей (De Lorey and Olsen, 1992; Doble and Martin, 1992; Sieghart, 1992; Ragan et al., 1993; Symposium, 1992). Все же некоторые эффекты бензодиазепинов сложно связать с действием на ГАМКд-рецепторы. Так, низкие концентрации бензодиазепинов вызывают торможение нейронов гиппокампа, не устраняемое бикикуллином и пикротоксином (Pole, 1988). Кроме того, эти вещества не влияют на снотворное действие бензодиазепинов у крыс, хотя его предотвращает флумазенил (Mendelson, 1992). При высоких концентрациях, используемых для премедикации перед общей анестезией (гл. 14) и для купирования эпилептического статуса (гл. 21), действие бензодиазепинов может иметь дополнительные механизмы. К ним относятся нарушение обратного захвата аденозина с усилением эффектов этого тормозного медиатора (Phillis and O'Regan, 1988), а также не связанные с ГАМК торможение тока Ca^{2+} , нарушение зависимо от Ca^{2+} выброса медиаторов и блокада быстрых натриевых каналов (Macdonald and McLean, 1986).

ГАМКд-рецепторы могут быть также точкой приложения общих анестетиков, этанола, ингаляционных наркотиков и некоторых метаболитов эндогенных стероидов (Mehta and Ticku, 1999; Beckstead et al., 2000). Особый интерес среди последних представляет метаболит прогестерона прегнанолон (3 α -гидрокси-5 α -дигидропрогестерон). Он образуется в головном мозге из стероидов, поступающих с кровью или выделяемых глией, и действует подобно барбитуратам, в том числе усиливает вызываемый ГАМК хлорный ток и способствует связыванию бензодиазепинов и стимуляторов ГАМК-рецепторов.

Как и барбитураты, в высоких концентрациях прегнанолон вызывает хлорный ток и в отсутствие ГАМК. Опыты с трансфекцией клеток показали, что его действие не требует γ -субъединиц ГАМКА-рецептора. Впрочем, в отличие от барбитуратов, он не ослабляет возбуждающее действие глутамата (см. ниже). Эти эффекты возникают очень быстро и, по-видимому, обусловлены действием на уровне мембранных рецепторов. Аналог прегнанолона альфаксалон ранее использовался за пределами США в качестве анестетика.

Дыхательная система. Снотворные дозы бензодиазепинов в норме не влияют на дыхание, но все же следует соблюдать особую осторожность, назначая эти препараты детям (Kriel et al., 2000) и при нарушении функции печени, например на фоне алкоголизма (Guglielminotti et al., 1999). В более высоких дозах, вводимых для премедикации перед общей анестезией или эндоскопией, бензодиазепины несколько снижают альвеолярную вентиляцию и вызывают дыхательный ацидоз, что связано, видимо, с подавлением вентиляторной реакции на гипоксию, а не на гиперкапнию. На фоне ХОЗЛ этот эффект усиливается и могут развиваться альвеолярная гипоксия и наркотическое действие CO₂. Бензодиазепины способны вызвать апноэ лишь в сочетании с общими анестетиками или наркотическими анальгетиками, поэтому при тяжелом отравлении показанием к ИВЛ обычно служит лишь одновременный прием других веществ, угнетающих ЦНС (чаще всего этанола).

В то же время снотворные дозы бензодиазепинов могут усугублять нарушения дыхания во сне за счет падения тонуса мышц глотки и гортани и ослабления реакции дыхательного центра на гиперкапнию (Guilleminault в Symposium, 1990). Последнего эффекта бывает достаточно, чтобы вызвать гиповентиляцию и гипоксию при тяжелых ХОЗЛ, хотя иногда у таких больных бензодиазепины улучшают сон и его структуру. Снижая тонус мышц глотки и гортани, снотворные дозы бензодиазепинов могут усугубить влияние обструктивного апноэ во сне на альвеолярную гипоксию, легочную гипертензию и нагрузку на сердце. Многие врачи считают обструктивные апноэ во сне противопоказанием к алкоголю и любым транквилизаторам и снотворным, включая бензодиазепины; их надо назначать с осторожностью и при храпе из-за риска перевести частичную обструкцию дыхательных путей в обструктивное апноэ во сне. Кроме того, в восстановительном периоде после инфаркта миокарда эти препараты могут способствовать появлению эпизодов апноэ во время быстрого сна, сопровождаемых снижением оксигенации крови (Guilleminault в Symposium, 1990b); впрочем, влияние бензодиазепинов на выживаемость при болезнях сердца не изучалось.

Сердечно-сосудистая система. В обычных дозах и у здоровых людей бензодиазепины мало влияют на сердечно-сосудистую систему; их побочные эффекты при апноэ во сне и болезнях сердца описаны выше. В высоких дозах все бензодиазепины снижают АД и повышают ЧСС. В случае мидазолама это обусловлено снижением ОПСС, а в случае диазепама — уменьшением сократимости левого желудочка и работы сердца. Диазепам увеличивает коронарный кровоток, возможно, за счет накопления аденозина в интерстициальной ткани; поскольку аденозин угнетает сократимость, этот эффект может объяснять отрицательное инотропное действие диазепама. В высоких дозах мидазолам существенно снижает мозговой кровоток и экстракцию кислорода головным мозгом (Nugent et al., 1982). ЖКТ. Некоторые гастроэнтерологи считают, что бензодиазепины помогают при ряде болезней

ЖКТ с психосоматическим компонентом, однако доказательств этого недостаточно. Бензодиазепины снижают риск стрессовых язв у крыс, а диазепам существенно снижает ночную желудочную секрецию у людей.

Фармакокинетика. Физико-химические свойства и фармакокинетика бензодиазепинов существенно влияют на их клиническое применение. В неионизированной форме все они достаточно липофильны, но степень их липофильности различается более чем в 50 раз в зависимости от полярности и электроотрицательности заместителей.

Все бензодиазепины почти полностью всасываются после приема внутрь (клоразепат — в виде нордазепам, или десметилдиазепам, в который он быстро превращается путем декарбоксилирования в кислой среде желудка). Некоторые препараты (празепам и флуразепам) попадают в системный кровоток лишь в виде активных метаболитов.

По длительности действия выделяют препараты:

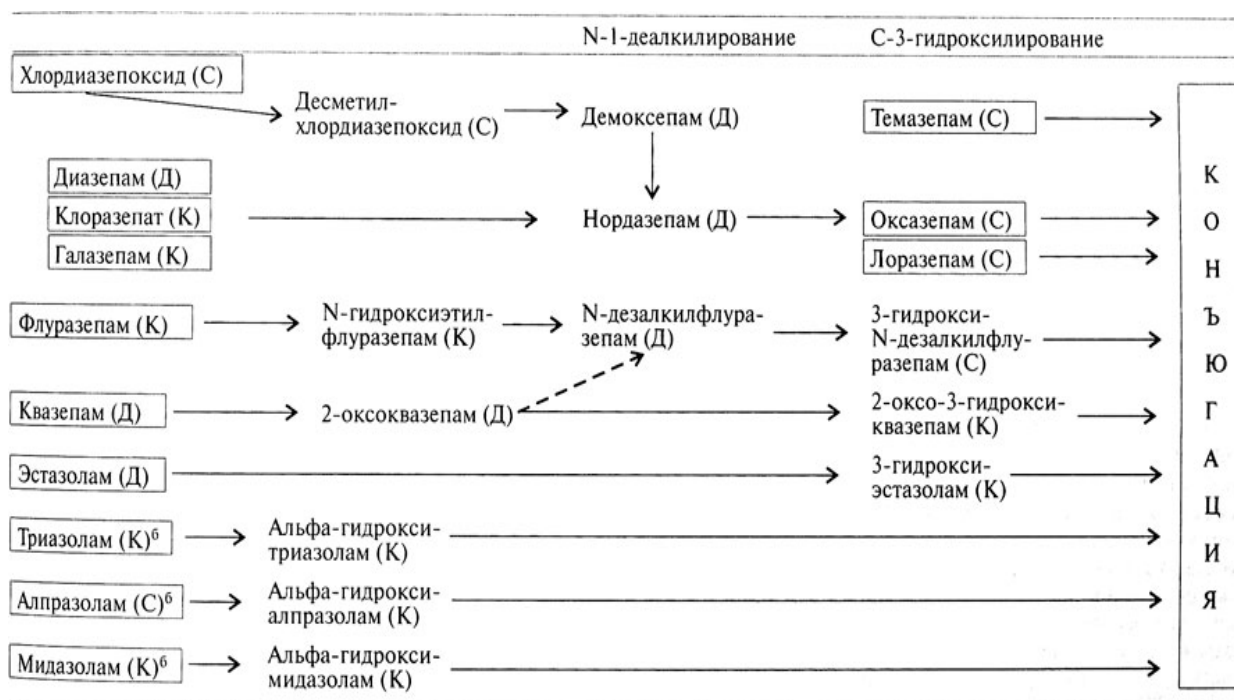
- 1) сверхкороткого действия;
- 2) короткого действия ($T_{1/2} < 6$ ч), к которым относятся триазолам и небензодиазепиновые препараты золпидем ($T_{1/2}$ около 2 ч) и зопиклон ($T_{1/2}$ 5—6 ч);
- 3) средней продолжительности действия ($T_{1/2}$ 6—24 ч), к которым относятся эстазолам и темазепам;
- 4) длительного действия ($T_{1/2} > 24$ ч), к которым относятся флуразепам, диазепам и квазепам.

Бензодиазепины и их активные метаболиты связываются с белками плазмы. Степень связывания существенно зависит от липофильности и колеблется от 70% для алпразолама почти до 99% для диазепам. Концентрация свободных бензодиазепинов в СМЖ примерно такая же, как в плазме. Бензодиазепины могут конкурировать за белки плазмы с другими препаратами, но клинически значимых взаимодействий не описано.

Изменение сывороточной концентрации большинства бензодиазепинов описывают двухкамерные фармакокинетические модели; для наиболее липофильных препаратов лучше подходят трехкамерные модели. После в/в введения (или приема внутрь для препаратов с быстрым всасыванием) бензодиазепины быстро накапливаются в головном мозге и других хорошо кровоснабжаемых органах, затем происходит перераспределение в ткани с меньшим кровоснабжением, особенно в мышечную и жировую. Чем выше липофильность препарата, тем быстрее идет этот процесс. Если препараты принимаются на ночь для нормализации сна, то скорость перераспределения может иметь большее значение для длительности действия, чем скорость метаболизма (Dettli в Symposium, 1986a). Кинетику перераспределения диазепама и других высоко липофильных препаратов усложняет кишечно-печеночный кругооборот. Бензодиазепины имеют большой объем распределения, у пожилых он часто бывает увеличен (Swift and Stevenson в Symposium, 1983). Бензодиазепины проникают через плаценту и в молоко.

Таблица 5

Метаболизм бензодиазепинов



Метаболизм бензодиазепинов включает 3 основных этапа. Эти этапы, а также взаимоотношения между разными бензодиазепинами и их метаболитами представлены в табл. 5. В метаболизме многих бензодиазепинов участвует цитохром P450, в частности изоферменты 3A4 и 2C9. Эритромицин, кларитромицин, ритонавир, итраконазол, кетоконазол, нефазодон и грейпфрутовый сок ингибируют изофермент 3A4 и могут нарушать метаболизм таких бензодиазепинов (Dresser et al., 2000). Другие бензодиазепины, например оксазепам, сразу подвергаются конъюгации (Tanaka, 1999). Поскольку активные метаболиты некоторых бензодиазепинов разрушаются медленнее, чем исходные вещества, длительность действия таких препаратов мало связана с $T_{1/2}$ исходного соединения. Например, $T_{1/2}$ флуразепама составляет 2—3 ч, а его основного активного метаболита (N-деалкилфлуразепама) — более 50 ч. В то же время у препаратов, которые инактивируются в первой же реакции метаболизма, не образуя активных производных (оксазепам, лоразепам, темазепам, триазолам и мидазолам), длительность действия определяется $T_{1/2}$.

У бензодиазепинов с заместителем у N-1 (или C-2) первый и самый быстрый этап метаболизма состоит в модификации или отщеплении этого заместителя. За исключением триазолама, алпразолама, эстазолама и мидазолама, содержащих дополнительное триазольное или имидазольное кольцо, на первом этапе образуются биологически активные продукты N-деалкилирования. Один из них, нордазепам — основной метаболит диазепам, клоразепата, празепама и галазепам; кроме того, он образуется из демоксепама, важного метаболита хлордиазепоксида.

На втором этапе происходит гидроксилирование по C-3, обычно при этом также получается активный метаболит (например, оксазепам из нордазепам).

Модификация или отщепление заместителей при N-1 происходит гораздо быстрее, чем гидроксилирование ($T_{1/2}$ 40—50 ч и более), поэтому

гидроксидированных метаболитов с неизменными заместителями почти нет. Однако существуют два важных исключения:

- 1) при длительном приеме диазепама накапливается небольшое количество темазепама (в табл. 5 не показано);
- 2) в случае квазепама сера у С-2 замещается кислородом с образованием 2-оксоквазепама, большая часть которого медленно гидроксилируется по С-3 без отщепления заместителя у N-1.

Впрочем, при длительном приеме квазепама его 3-гидроксированное производное накапливается лишь в небольшом количестве из-за очень быстрой конъюгации. В то же время накапливается N-дезалкилфлуразепам, продукт дополнительного пути метаболизма квазепама, и вносит существенный вклад в действие препарата.

Третий этап метаболизма бензодиазепинов — конъюгация гидроксированных производных (в основном с глюкуроновой кислотой). $T_{1/2}$ этой реакции обычно составляет 6—12 ч; её продукты неактивны. Это единственный существенный путь метаболизма оксазепама и лоразепама и основной путь темазепама, так как его превращение в оксазепам идет медленнее. Метаболизм триазолама и алпразолама начинается с гидроксирования метильной группы у триазольного кольца (в случае алпразолама реакцию резко замедляет отсутствие хлора у кольца С).

Образующиеся вещества (α -гидроксированные производные) сохраняют активность, но почти не накапливаются из-за быстрых дальнейших превращений, прежде всего конъюгации. Триазольное кольцо эстазолама не имеет метильной группы и гидроксилируется лишь в небольшой степени, основной путь его метаболизма — С-30-окисление. 3-гидроксированные производные алпразолама и триазолама также образуются в значительных количествах (в табл. 5 не указано). Триазольное кольцо резко ускоряет гидроксирование этих трех препаратов по сравнению с другими

бензодиазепинами. Их 3-гидроксилированные производные перед выведением быстро конъюгируются или окисляются дальше, до бензофенонов (в табл. 4 не указано).

Мидазолам также быстро подвергается метаболизму, в основном путем гидроксилирования метильной группы у имидазольного кольца; 3-гидроксимидазолам образуется лишь в небольшом количестве. Альфа-гидроксимидазолам достаточно активен. Его $T_{1/2}$ составляет около 1 ч, и он выводится после конъюгации. Длительное в/в введение мидазолама ведет к накоплению этого метаболита, иногда значительному (Oldenhof et al., 1988).

Ароматические кольца бензодиазепинов (А и С) гидроксилируются лишь в небольшой степени. Существенное значение имеет восстановление NO₂-группы в 7-м положении клоназепама, нитразепама и флуниотразепама ($T_{1/2}$ этой реакции составляет 20-40 ч). Образующиеся амины неактивны, перед выведением они в различной степени ацетируются.

Очевидно, бензодиазепины не вызывают существенной индукции цитохрома P450 и при длительном лечении не ускоряют свой собственный метаболизм и метаболизм других веществ. Циметидин и пероральные контрацептивы ингибируют С-3-гидроксилирование и N-1-деалкилирование бензодиазепинов; действие этанола, изониазида и фенитоина на эти реакции менее выражено. У пожилых и при болезнях печени они обычно нарушаются в большей степени, чем конъюгация бензодиазепинов и их метаболитов.

В идеале действие снотворного препарата должно быстро начинаться при приеме на ночь, длиться на протяжении всей ночи и прекращаться к утру. Теоретически этим требованиям в наибольшей степени соответствует триазолам, а флуразепам и квазепам, казалось бы, не годятся из-за медленной элиминации N-дезалкилфлуразепама. Однако на практике бензодиазепины короткого действия имеют ряд недостатков, включая ранние пробуждения (у некоторых больных) и большой риск рикошетного эффекта после отмены препарата (Gillin et al., 1989; Roehrs et al. в Symposium, 1990b; Roth and Roehrs,

1992). В то же время тщательный подбор дозы позволяет с успехом использовать флуразепам и другие бензодиазепины более длительного действия, чем триазолам (Vogel, 1992).

Факторы, влияющие на действие транквилизаторов. Наряду с особенностями механизма действия, дозой и длительностью применения на эффект транквилизаторов существенно влияет фармакогенетический фактор — генетически обусловленный тип ответа организма на эмоционально-стрессовое воздействие. В опытах на животных показано, что при активном типе реакции в действии бензодиазепиновых транквилизаторов преобладает дозозависимый седативный эффект, угнетение поведенческих реакций, а при противоположном типе (так называемые freezing-реакции - «застывание»), напротив, отмечается активация поведения. По данным С. Б. Середенина, в клинических исследованиях установлено, что у астеничных пациентов с неврозами наблюдается транквило-активирующее, а у стеничных — транквило-седативное действие бензодиазепинов. У здоровых добровольцев с высокой результативностью операторской деятельности в эмоционально-стрессовой обстановке бензодиазепины вызывают седацию, а в случае дезорганизирующего влияния стресса — повышение показателей деятельности. Зависимость эффекта от фенотипа эмоционально-стрессовой реакции имеет место и у афобазола.

Как свидетельствуют результаты исследований, на действие транквилизаторов может влиять и такой фактор, как минеральный состав рациона, в частности, уровень пищевого потребления хлорида натрия. Эксперименты выполнены на мышах (тест внутривидовой агрессии самцов, вызванной изоляцией в течение 1 недели). В клетку к изолированной мышке подсаживали самца из клетки общего содержания, в отношении которого изолянт проявляет выраженную агрессию. Данные показывают, что у животных, в течение 1–2 месяцев до опыта потреблявших повышенное количество NaCl, агрессивное поведение было выражено слабее, чем у контрольных мышек, получавших нормальный солевой рацион. Латентное

время открытого нападения удлинялось в сравнении с контрольным показателем в 15 раз ($p < 0,05$), причем в течение этого периода изолянты почти не обращали внимание на партнера. Общее количество атак имело тенденцию к уменьшению относительно контрольного уровня (в среднем на 17%). Диазепам даже в небольшой дозе (0,1 мг/кг внутривенно за 30 мин. до опыта) достоверно редуцировал агрессивное поведение в контрольной группе. Это проявлялось в увеличении латентного времени нападения в 21 раз ($p < 0,05$) и уменьшении количества атак на 77% ($p < 0,05$) по сравнению с фоновым показателем мышей, которым препарат не вводился. Однако в условиях избыточного потребления поваренной соли специфическое действие анксиолитика ослаблялось. Латентный период агрессии был вдвое короче, чем у контрольных животных после введения диазепама ($p < 0,05$), и недостоверно (на 29%) меньше фонового показателя при гипернатриевом рационе. Количество атак после введения диазепама уменьшилось в сравнении с фоном на 56%, т. е. в меньшей степени, чем в условиях нормального рациона.

Снижение эффективности анксиолитика, очевидно, связано с тем, что повышенное потребление хлорида натрия способствует ослаблению ГАМК-ергических тормозных процессов.

В целом, транквилизаторы, в отличие от других психотропных средств (нейролептики, антидепрессанты), характеризуются отсутствием тяжелых побочных эффектов и хорошей переносимостью. В. И. Бородин выделяет следующие основные побочные эффекты, встречающиеся при использовании транквилизаторов:

- 1) гиперседация — дозозависимая дневная сонливость, снижение уровня бодрствования, нарушение координации внимания, забывчивость и др.;
- 2) миорелаксация — расслабление скелетной мускулатуры, проявляющееся общей слабостью, слабостью в отдельных группах мышц;

- 3) «поведенческая токсичность» — легкое нарушение когнитивных функций и психомоторных навыков, проявляющееся даже в малых дозах и выявляемое при нейропсихологическом тестировании;
- 4) «парадоксальные» реакции — усиление агрессивности и ажитации (возбужденное состояние), нарушения сна, обычно проходящие самопроизвольно или после снижения дозы;
- 5) психическая и физическая зависимость, возникающая при длительном применении (6–12 месяцев непрерывно), проявления которой напоминают невротическую тревогу.

Частым побочным эффектом производных бензодиазепаина являются поведенческая токсичность (сонливость в дневные часы, миорелаксация, нарушения внимания и координации движений), атаксия (преимущественно у больных пожилого возраста). Углубление сна и миорелаксация при приеме транквилизаторов может вызвать синдром ночного апноэ (т.е. длительные дыхательные паузы во сне у храпящих), что обуславливает противопоказание к применению препаратов. При этом имеет место гипоксия, возможно развитие ишемии миокарда. Остальные побочные эффекты бензодиазепинов встречаются значительно реже. Побочные эффекты производных бензодиазепаина обычно требуют лишь снижения или перераспределения суточной дозы препарата. Необходимость отмены производных бензодиазепаина возникает при упомянутых выше эффектах достаточно редко. Только при серьезных нарушениях дыхательной и сердечно-сосудистой систем, а также при развитии аллергических реакций и гематологических осложнений.

Безопасность использования бензодиазепиновых анксиолитиков связана с большим разрывом между терапевтическими и летальными дозами, отсутствием неблагоприятного влияния на ряд функциональных систем организма, а также минимальными нежелательными взаимодействиями с соматотропными препаратами. Бензодиазепины не оказывают клинически значимого воздействия на функции печени, эндокринную и мочевую системы.

Следует, однако, иметь в виду, что бензодиазепиновые анксиолитики могут взаимодействовать с некоторыми соматотропными препаратами (табл. 5). В ряде случаев такие взаимодействия могут рассматриваться как неблагоприятные или очень опасные (например, с миорелаксантами — производными тубокурарина).

Таблица 6

Взаимодействие производных бензодиазепина с препаратами различных фармакологических групп

Группа препаратов	Характер взаимодействия
Центральные α -адреномиметики (клонидин, метилдофа, гуанфацин)	Усиление гипотензивного эффекта α -адреномиметиков. Взаимное потенцирование угнетающего действия на ЦНС
Периферические α -адреноблокаторы (фентоламин, тропафен, индорамина)	Усиление гипотензивного эффекта α -адреноблокаторов и седативного эффекта бензодиазепинов
Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента	Усиление гипотензивного эффекта
Блокаторы кальциевых каналов	Ослабление эффектов дилтиазема при сочетании с диазепамом. Усиление эффектов мидазолама, при сочетании с дилтиаземом и верапамилом
α -адреномиметики (адреналин, норадреналин, мезатон)	Уменьшение гипотензии, вызванной передозировкой диазепама, при введении норадреналина
Антиаритмические средства	Потенцирование терапевтических эффектов антиаритмических препаратов

Сердечные гликозиды	Потенцирование кардиотропных эффектов сердечных гликозидов
Метилксантины (теофиллин, аминофиллин)	Возможно небольшое повышение артериального давления. Ослабление эффектов теофиллина. Восстановление функций ЦНС после приема больших доз диазепама при внутривенном введении эуфиллина
Блокаторы H ₂ -гистаминовых рецепторов (циметидин)	Потенцирование эффектов диазепама, хлордиазепоксида, мазапама, алпразолама
Мочегонные препараты	Усиление артериальной гипотензии
Антикоагулянты непрямого действия (варфарин)	Ослабление антикоагулянтного эффекта
Противомикробные средства	Усиление эффектов алпразолама и мидазолама при комбинации с макролидами (эритромицин). Усиление эффектов диазепама при комбинации с изониазидом. Ослабление эффектов диазепама при комбинации с рифампицином
Оральные сахароснижающие препараты	Потенцирование эффекта сахароснижающих препаратов
Оральные контрацептивы	Снижение эффективности контрацепции. Усиление эффектов производных бензодиазепинов
Миорелаксанты	Потенцирование эффекта расслабления скелетных мышц

Значительно более серьезные проблемы связаны с возможностью формирования при приеме производных бензодиаземина зависимости и синдрома отмены. Риск возникновения зависимости определяется длительностью терапии, суточной дозой, скоростью снижения дозы перед полной отменой и длительностью периода полувыведения препаратов.

В связи с неблагоприятным влиянием на внутриутробный плод анксиолитики противопоказаны при беременности. Транквилизаторы, прежде всего бензодиазепиновые, легко проникают через плаценту. Так, концентрация диазепама в крови пуповины превышает его концентрацию в материнской крови. Уровень диазепама и оксазепама в крови внутриутробного ребенка возрастает медленно по причине высокой степени связи этих препаратов с белками крови беременной женщины, но впоследствии они создают более высокую концентрацию в сыворотке крови ребенка, прочно связываясь с ее белками. Элиминация же этих препаратов и их метаболитов происходит в несколько раз медленнее, чем у взрослых. Дети, особенно во внутриутробном и раннем постнатальном периоде, имеют повышенную чувствительность к угнетающим влияниям на ЦНС, а транквилизаторы в их организме легко кумулируют. Поэтому у новорожденных, матери которых во время беременности принимали анксиолитики, возможно угнетение дыхания вплоть до его остановки — апноэ (в ряде случаев, напротив, отмечается тахипноэ), гипотермия, снижение мышечного тонуса, торможение рефлексов, в том числе сосательного (иногда возможна гиперрефлексия), тремор, гиперактивность, повышенная раздражимость, нарушения сна, рвота. Длительность этих явлений без лечения достигает 8–9 месяцев. Подобные нарушения (с некоторым своеобразием клинической картины) описаны также для хлордиазепоксида и для мепробамата. Их можно принять за проявления интоксикации наркотиками. Появление описанных нарушений отмечалось, в частности, при регулярном приеме 10–15 мг диазепама в течение последнего триместра беременности. Иногда даже используется термин «бензодиазепиновые дети».

Так называемый «поведенческий тератогенез» транквилизаторов, т. е. постнатальные нарушения высшей нервной деятельности потомства, установлен в многочисленных экспериментальных исследованиях на животных.

При ретроспективном исследовании более чем 20 тыс. женщин, принимавших мепробамат во время беременности, морфологические аномалии (уродства) выявлены у 12% новорожденных, что указывает на повышение риска тератогенного эффекта. Говоря о тератогенности транквилизаторов, нельзя не вспомнить о талидомиде, который в 60-е годы XX столетия вызвал в Западной Европе массовое появление грубых аномалий конечностей у детей.

Что касается безопасности однократного использования диазепама во время родов с анестезиологическими целями, то оно не приводит к существенным отклонениям в состоянии новорожденного.

Транквилизаторы проникают в грудное молоко. В частности, диазепам создает в нем в 10 раз меньшую концентрацию, чем в крови. В случае необходимости применения транквилизаторов кормящей женщиной грудное вскармливание нужно прекратить.

Проблема лекарственной зависимости к транквилизаторам трактуется специалистами неоднозначно. Как отмечает А. С. Аведисова, здесь избыточны мнения и недостаточно верифицированных данных. Однако зависимость является клинической реальностью. Большинство авторов едино во мнении, что ее риск прямо пропорционален длительности лечения транквилизаторами. Особенно вероятно возникновение зависимости к бензодиазепинам, в том числе к лоразепаму. Опасен в этом отношении и мепробамат, особенностью действия которого является развитие эйфории.

На возникновение физической зависимости указывает синдром отмены. Его проявлениями являются желудочно-кишечные расстройства, потливость,

тремор, сонливость, головокружение, головная боль, непереносимость резких звуков и запахов, шум в ушах, раздражительность, беспокойство, бессонница, деперсонализация (ощущение утраты собственного «я» и переживание отсутствия эмоциональной вовлеченности в отношения к близким, к работе и т. п.). Как правило, он протекает нетяжело. Тяжесть и длительность абстинентных расстройств может недооцениваться и ошибочно приниматься за невротические проявления заболевания пациента. Вместе с тем нередки примеры длительного (месяцы и даже годы) применения бензодиазепинов без трудностей последующей отмены, чему способствует определенная тактика проведения лечения и отмены препарата. Для предотвращения абстиненции при длительном лечении следует использовать более низкие дозы, дробные короткие курсы терапии, а отмену проводить в течение 1–2 месяцев на фоне психотерапии или приема плацебо. Можно рекомендовать замену короткодействующего на длительно действующий препарат в эквивалентных дозах, а темп снижения дозы должен составлять примерно 25% на каждую четверть периода отмены. Длительное лечение (при хорошей переносимости и отсутствии толерантности) возможно у пожилых пациентов, у которых в небольших дозах бензодиазепины хорошо купируют симптоматику, и у пациентов, которым препараты помогают повысить качество жизни.

Токсикокинетика и биотрансформация. Производные бензодиазепина хорошо всасываются после приема внутрь путем диффузии. При внутривенном введении этот процесс происходит значительно быстрее и сопровождается иными клиническими эффектами, чем при приеме внутрь. В частности, почти сразу после поступления диазепам в венозную кровь наблюдается выраженная седация. Эти эффекты нехарактерны для сопоставимых доз препарата при приеме внутрь.

Производные бензодиазепина в среднем на 80—95% связываются с белками плазмы, поэтому скорость абсорбции достаточно высокая, имеют большое сродство к тканям, богатым липидами, накапливаются в них.

Максимальный уровень в крови при введении терапевтических доз перос достигается в среднем через 1-3 часа и сохраняется около 2 часов, затем медленно снижается. Скорость абсорбции и элиминирования производных бензодиазепаина определяется основными закономерностями токсикокинетики. Скорость, с которой препараты достигают структур головного мозга, зависит от степени их липофильности. Препараты этой группы легко проникают через плаценту. Так, концентрация диазепама в крови пуповины превышает таковую в материнской крови. Уровень диазепама и оксазепама в крови плода возрастает медленно из-за высокой степени связи бензодиазепинов с белками крови беременной, но впоследствии их концентрация в сыворотке крови плода значительно выше. Элиминация этих препаратов и их метаболитов происходит в несколько раз медленнее, чем у взрослых.

Накопление производных бензодиазепаина происходит в первую очередь в паренхиматозных органах. Наибольшее их содержание в тканях печени и почек.

Существуют значительные различия в продолжительности действия производных бензодиазепинов (табл. 6), которые учитываются как при назначении пациентам, так и при проведении ХТА. Бензодиазепины длительного действия (диазепам) рассматриваются как самые эффективные для поддержания постоянной дозы препарата на длительный период, когда пациент страдает повышенным беспокойством. Бензодиазепины короткого и среднего действия более подходят при лечении бессонницы, когда желательно исчезновение эффектов препарата к утру.

Таблица 7

Тип действия, период полувыведения некоторых производных бензодиазепинов

Тип действия	Период полувыведения
Длительное:	
флунитразепам	40-250

диазепам	30-200, 21-37, 20-96, 20-70, 20-42
феназепам	26-133
нитразепам	23-29, 21-28, 17-48
клоназепам	39, 10-40, 19-60
Среднее:	
алпразолам	6-20, 6-26
лоразепам	10-20, 8-25, 9-16
лопразолам	6-23
оксазепам	5-15, 4-11, 6-10, 10-14
Короткое:	
триазолам	1,5-5, 2-3, 1,8-3,9
мидазолам	2-5, 1-4

$T_{1/2}$ зависит от ряда причин, в том числе от принятой дозы. Выводятся производные 1,4-бензодиазепаина в основном почками в виде основных соединений и их метаболитов. Наличие в органах активных метаболитов производных бензодиазепаина снижает скорость элиминации.

Примеры реакций биотрансформации производных бензодиазепаина представлены ниже.

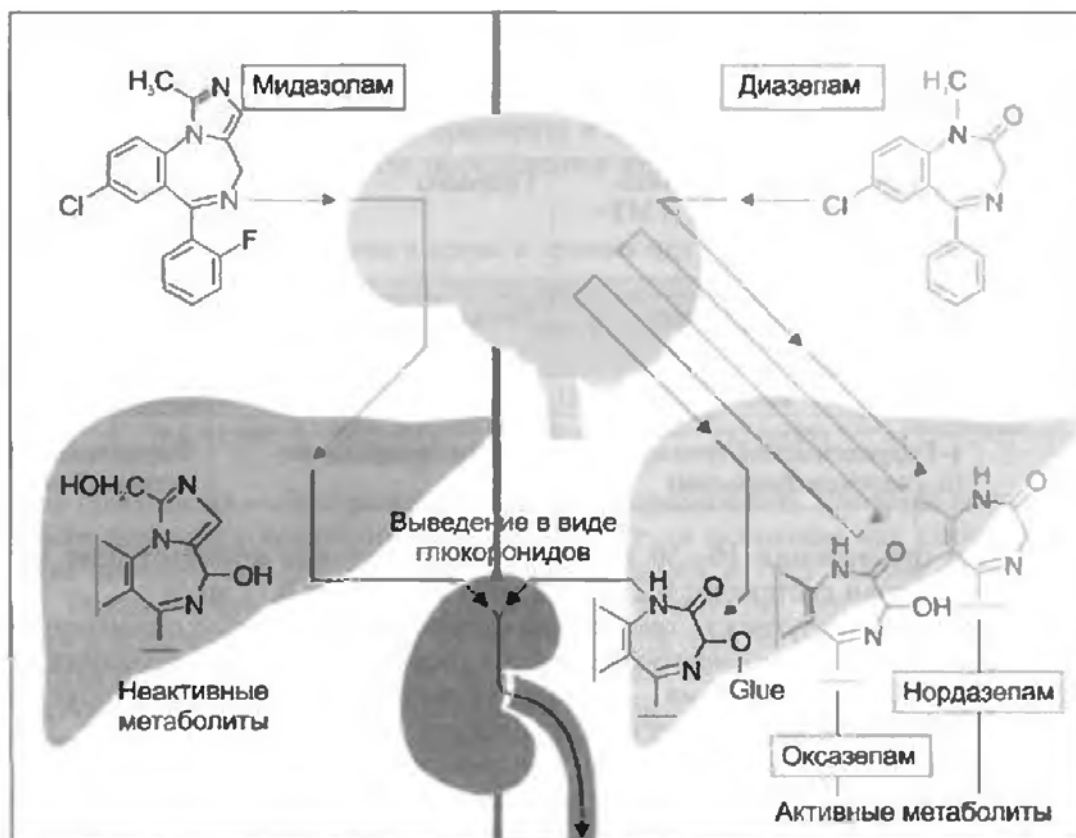


Рис. Схемы биотрансформации некоторых представителей этой группы депрессантов

Медазепам метаболизируется при окислении в положении 2 до диазепама, который затем подвергается биотрансформации обычным путем, в первую очередь до нордазепама и оксазепама. Медазепам также N-деметируется до нормедазепама. Это соединение может быть впоследствии окислено до нордазепама. Основным активным метаболитом в крови является нордазепам, который определяет эффективность медазепама. $T_{1/2}$ медазепама составляет 1-2 ч., но его относят к препаратам длительного действия, в связи с образованием значительного количества активного метаболита нордазепама. Около 55% медазепама выделяется в мочу за 8 дней, главным образом в качестве оксазепама глюкуронида. В моче обнаруживается небольшое количество нордазепама и темазепама, при этом медазепам, нормедазепам и диазепам в измеримых количествах не найдены.

Реакции биотрансформации производных бензодиазепина

Вещество	Основной метаболит	Тип реакции	Примечание
Диазепам	N-дезметилдiazепам	N-деметилирование	Фармакологически активные метаболиты
	4-гидроскидiazепам	Гидроксилирование	
Хлордiazепоксид	Дезметилхлордiazепоксид	N-деметилирование	Фармакологически активные метаболиты
	Нордiazепам	Окисление	
Флюразепам	N-1-дезалкилфлюразепам	Дезэтилирование	Фармакологически активный метаболит
Триазолам	4-гидрокситриазолам и 1-гидрокси-метил-4-гидрокситриазолам	Гидроксилирование	Фармакологически активные метаболиты
Мидазолам	1-гидроксимидазолам	Гидроксилирование	Фармакологически активный метаболит
Нитразепам	2-амино-5-нитробензофенон	Гидролиз	Разрыв азепинового кольца в положении 1, 2 и 4, 5
	7-аминонитразепам	Восстановление нитрогруппы у C ₇	Фармакологически активный метаболит

Оксазепам	Глюкуронил оксазепам	Конъюгирование	С глюкуроновой кислотой по –ОН группе, фармакологическ и неактивный метаболит; образование глицина как второго продукта реакции
Алпразолам	α -гидроксиалпразолам, 4-гидроксиалпразолам, α , 4- дигидроксиалпразолам	Гидроксилирование	Фармакологичес ки активный метаболит
	3-гидрокси-5-метил- триазолилхлорбензофен он	Гидролиз	Расщепление азометиновой связи и образование аналога хлорбензофена
Лоразепам	Глюкуронид лоразепам	Конъюгирование	С глюкуроновой кислотой по –ОН группе, фармакологическ и неактивный метаболит
Триазолам	1-гидроксиметил- триазолам	Гидроксилирован ие	Фармакологичес ки активный

			метаболит
--	--	--	-----------

Часть производных бензодиазепинов может перераспределяться в тканях после смерти, при этом соотношение концентраций в крови из сердца/бедрa составляет 1,5-4 раза в зависимости от природы соединения, например алпразолам — в пределах 1,0—2,8; мидазолам — в пределах 3,0—5,0; триазолам — в среднем в 2,8 раза. Лоразепам, вероятно, не перераспределяется в организме после смерти, соотношение концентраций в крови из сердца/бедрa составляет в среднем 1,0 (в пределах 0,8—1,1).

Основные метаболиты производных 1,4-бензодиазепина, как правило, фармакологически активны. Разрыв при гидролизе азепинового кольца бензодиазепинов, а также образование глюкуронидов приводят к снижению и потере активности.

Продукты метаболизма, как и исходные соединения, обнаруживаются во многих тканях организма. Выводятся производные бензодиазепина, в основном, почками, в виде основных соединений и метаболитов. Наличие в органах активных метаболитов производных бензодиазепина снижает скорость элиминации.

Таблица 9

Фармакокинетические параметры производных бензодиазепина

Препарат	Время достижения С в крови, ч	Vd, л/кг	Связывание с белками	T _{1/2} , ч	pK _a
Алпразолам	1-2	0,9-1,3	0,65-0,75	6-26	2,4
Хлордiazепоксид	0,5-4	0,3-0,5	0,94	6-27	4,8

Клоназепам	1-3,5	1,5-4,4	0,8	19-60	1,5, 10,5
Диазепам	0,5-1,5	0,7-2,6	0,96	21-37	3,4
Флюразепам	3-5	3,4-5,5	0,97	1-3	1,9, 8,2
Лоразепам	2-5	0,9-1,3	0,8	9-16	1,3, 11,5
Мидазолам	0,2-0,8	1-4	0,96	1-4	6,2
Нитразепам	0,5-4	2-5	0,87	17-48	3,2, 10,8
Оксазепам	1-4	0,7-1,6	0,87-0,94	4-11	1,7, 11,6
Празепам	6	12-14	0,8-0,97	1,3	2,7
Темазепам	2-3	0,8-1	0,97	3-13	1,3
Триазолам	0,75-3	1,1-2,7	0,78	1,8-3,9	1,2, 2,2, 6,5, 1,5

В связи с необходимостью индивидуального подбора дозы производных бензодиазепина токсикокинетические показатели бензодиазепиновых транквилизаторов имеют ограниченное значение, однако, в некоторых ситуациях они могут оказаться необходимыми. Например, если в противоположность клиническому прогнозу терапевтического эффекта вообще не наблюдается, следует определить концентрацию бензодиазепина в крови. При этом могут обнаруживаться как серьезные нарушения в режиме приема препарата, так и выраженные аномалии процессов метаболизма.

Способы пробоподготовки и методы определения.

Бензодиазепины, используемые в лечебных целях, относятся к наиболее часто прописываемым лекарственным препаратам, и практически все они встречаются на незаконном рынке вследствие утечки из легальных источников. Данных об их подпольном изготовлении не имеется. 33 производных бензодиазепина недавно поставленных под международный контроль, появляются на незаконном рынке преимущественно в виде таблеток и капсул.

Лоразепам в некоторых странах встречается во флаконах и в виде заряженного шприца с иглой для инъекций, а также в виде таблеток. Клоназепам продается в виде таблеток и сухого порошка, растворяемого в соответствующем сосуде для инъекций. В Великобритании темазепам встречается в капсулах из мягкого желатина и в виде раствора в полиэтиленгликоле для инъекций.

Хлордиазепоксид продается в виде свободного основания и гидрохлорида в капсулах и таблетках, а в некоторых случаях в ампулах с сухим препаратом. Гидрохлориды медазепама и флюразепама представляют собой законно изготавливаемые лекарственные формы. Наиболее распространенной формой является дикалиевая соль клоразепата, хотя встречается монокалиевый клоразепат.

Диазепам — широко распространенный бензодиазепин — можно обнаружить в виде капсул, таблеток, водных или полиэтиленгликолевых растворов для инъекций, сиропов и суппозиториев. В некоторых странах диазепам в виде сыпучего порошка используется в фураже для скота с целью обездвиживания животных при перевозке, и имеется возможность утечки этой формы наркотического средства в незаконный оборот.

Кроме того, изредка на незаконном рынке появляются комбинированные продукты, такие, как хлордиазепоксид-амитриптилин и амитриптилин и хлордиазепоксид-клидиния бромид.

Выбор биообъектов для исследования и предварительную пробоподготовку образцов проводят согласно цели исследования, обстоятельств дела и методологии ХТА.

Определение производных 1,4-бензодиазепина в биологических объектах желательно проводить незамедлительно после их изъятия. Объекты должны быть направлены на исследование в замороженном состоянии. Использование этанола в качестве консерванта не рекомендуется. В табл. 9 приведены способы экстракции, используемые для выделения производных бензодиазепинов из различных объектов.

**Способы экстракции, используемые для выделения производных
бензодиазепинов**

Объекты исследования	Определяемые вещества	Способы пробоподготовки	Выход бензодиазепинов
Лекарственные препараты	Определяемое соединение	Как правило, метанольные растворы, концентрацией 1-20 мг/мл	
Кровь	Нативное соединение у живых лиц и трупа	ТФЭ, боратный буфер, рН= 9,0, элюент - метанол	75-94% для диазепама, оксазепама, нордиазепама, мидазолама, флунитразепама, тетразепама, триазолама и др.
Моча	Нативное соединение и основные метаболиты у живых лиц и трупа	Ферментативный гидролиз, ТФЭ, фосфатный буфер, рН= 6,0, элюент - этилацетат	85-94% для оксазепама, диазепама, нордиазепама, лоразепама, нитразепама, клоназепама, α -гидроксиалпразолама, α -

			гидрокситриазолама
		ТФЭ, боратный буфер, рН= 9,3, элюент – дихлорметан-изопропанол-аммиак	35-40% для оксазепамы, триазоламы, лоразепамы, клоназепамы 70-90% для большинства других
		ЖЖЭ, буфер, рН= 9,0, экстрагент – н-бутилхлорид	50-98% для оксазепамы, темазепамы, лоразепамы, клоназепамы, триазоламы, нитразепамы, флунитразепамы их 7-аминометаболитов и др.
Печень	Нативное соединение и основные метаболиты у трупа	Возможны приведенные выше пробы	50-100% при ЖЖЭ в зависимости от экстрагента, 85-95% при ТФЭ
Почки	Нативное соединение и основные метаболиты у	Возможны приведенные выше пробы	50-100% при ЖЖЭ в зависимости от экстрагента, 85-95% при ТФЭ

	трупа		
Фрагменты желудочно- кишечного тракта	Нативное соединение и основные метаболиты у трупа	Возможны приведенные выше пробы	50-100% при ЖЖЭ в зависимости от экстрагента, 85-95% при ТФЭ

Скрининговые методы определения производных бензодиазепина

Иммунохимические тесты. Различные ИХМ используются при скрининге биообразцов. Положительные результаты позволяют сделать предположение о наличии в тестируемом объекте вещества из группы бензодиазепинов, но без внутригрупповой дифференцировки. Данные, полученные ИХМ, обязательно подтверждают другими чувствительными и специфичными методами, интерпретируют, сопоставляя с клиническими и лабораторными данными. Наличие в моче анализата и/или его метаболитов свидетельствует только о предшествующем приеме вещества, при этом его концентрация (и/или метаболитов) не коррелирует с концентрацией в периферической крови или тяжестью состояния.

При тестировании любого биообъекта, например, мочи, важно следовать подробной инструкции фирмы-производителя, в которой даны строгие рекомендации по степени разбавления реактивов и образца, соотношению их объемов, условиям хранения реактивов и др.

Наибольшее применение находят различные технологии (например, системы TDx (Abbou) или AxSYM) метода ПФИА. Схема проведения исследований обязательно включает испытания работоспособности реактивов на заранее приготовленных пробах с анализируемым веществом. Обычно применяют калибраторы, содержащие нордiazепам в моче в концентрациях 0,

200, 400, 800, 1200, 2400 нг/мл. Анализируют полученные путем разбавления контрольные образцы мочи с известными концентрациями искомого вещества.

Результаты исследования контрольных образцов должны лежать в определенных пределах, соответствующих аналитическим характеристикам методики. Международной ассоциацией судебных токсикологов (TIAFT) рекомендовано использовать пороговую концентрацию (cut-off), равную 200 нг/мл. По данным отечественных исследователей, cut-off можно понизить до 100 нг/мл, но при условии согласованности полученных данных с результатами подтверждающего метода (например, ГХ-МС). Для анализа используют 100—150 мкл образца, возможны и меньшие объемы. Необходимо соблюдать общие правила проведения ИХМ. Так, если фоновая интенсивность в образцах превышает допустимое значение, то разводить и повторно анализировать их нельзя, следует применить другую методику.

При исследовании крови методом ПФИА на присутствие группы производных бензодиазепамина необходимо проведение экстракции аналита органическими растворителями (например, *n*-бутилхлоридом), что увеличивает чувствительность определения и исключает эффект матрицы. Чувствительность системы AxSYM при определении производных бензодиазепамина в моче составляет 40 нг/мл.

Как известно, основной недостаток ИХМ - высокая перекрестная реактивность веществ со сходной химической структурой (до 80%), но тем не менее в случаях злоупотреблении или острого отравления препаратами этой группы ПФМА является достаточно надежным и быстрым методом, используемым в химико-токсикологических лабораториях при установлении принадлежности аналита не только к группе бензодиазепинов, но и к различным подгруппам (например, триазоло- и имидазолопроизводные).

ТСХ-скрининг позволяет проводить предварительную идентификацию большого числа веществ в достаточно короткие сроки и сравнительные исследования различных образцов. Бензодиазепины образуют группу

разнообразных химических веществ, однако использование в сочетании 3 указанных ниже систем ТСХ обеспечивает хорошее разделение. Сорбент — активированный силикагель G на высушенных стеклянных пластинах, покрытие (толщина 0,25 мм) содержит флуоресцентную добавку, которая флуоресцирует при длине волны 254 нм. Используют следующие системы. Система А: хлороформ-ацетон (40:20), система В: хлороформ- метанол (90: 10), система С: циклогексан-толуол-диэтиламин (75:15:10). Детекция при последовательном выполнении: УФ-излучение при 254 нм: 2 н. серной кислоты, нагревание до 80⁰С. УФ-излучение при 366 нм; реагент - подкисленный йодплатинат калия (пятна пурпурной окраски). Значения R_f производных бензодиазепина в проявляющих системах А, В, С приведены в табл. 10.

Таблица 11

**Хроматографическая подвижность (R_f • 100) производных бензодиазепина
(руководство для национальных лабораторий экспертизы наркотиков,
ООН, 2000г.)**

Вещество	Проявляющая система		
	А	В	С
Алпразолам	8	62	1
Бромазепам	13	55	3
Галазепам	76	88	21
Галоксазолам	8	85	13
Делоразепам	46	69	7
Диазепам	70	87	30
Камазепам	73	89	11
Кетазолам	66, 70	86	12, 30
Клобазам	68	83	11
Клоксазолам	48	81	13

Клоназепам	47	60	0
Клотиазепам	75	88	34
Лопразолам	3	49	2
Лоразепам	31	48	1
Лорметазепам	63	81	9
Медазепам	72	89	45
Ниметазепам	45	87	12
Нитразепам	42	64	1
Нордазепам	44	63	5
Оксазепам	29	48	1
Оксазолам	69	63	4, 15, 19
Пиназепам	81	90	27
Празепам	79	90	35
Темазепам	63	82	10
Тетразепам	74	88	32
Триазолам	9	52	1
Флудиазепам	67	84	29
Флунитразепам	67	86	16
Флюразепам	5	48	38
Хлордiazепоксид	15	58	2
Хлоразепиновая кислота	44	65	4
Эстазолам	11	50	1
Этиллофлазепат	63	70	1

Систему ТОКСИ-ЛАБ (Toxi-Lab.) используют для систематического обнаружения и идентификации производных бензодиазепина. Детектирующие реактивы позволяют обнаружить 100 нг или менее в пятне образца из большого разнообразия групп химических веществ. Эта система может применяться к

извлечением мочи, извлечением сыворотки/крови, твердым дозированным формам (таблетки, пилюли) и порошкам. Преимущество системы заключается не только в определении групп веществ (производные бензодиазепа, барбитураты), но и функциональных групп (первичных, вторичных и третичных аминов), особенностей структуры (ароматическая, диеновая структура) с помощью соответствующих реактивов, а также УФ-абсорбции.

ТСХ весьма полезна для скрининга производных бензодиазепа, их метаболитов и продуктов гидролиза. В табл. 11 представлены алгоритмы проведения ТСХ-скрининга производных бензодиазепа.

Таблица 12

Алгоритмы проведения ТСХ-скрининга производных бензодиазепа

Цель определения	Схема определения	Детектирование	Примечание
Скрининг первичных аминокбензофенонов	Кислотный гидролиз HCl до соответствующих аминокбензофенонов, экстракция этанолом, разделение на пластинках с активным силикагелем с толуолом	Диазотирование по реакции Браттона-Маршалла (рис.6). Предел обнаружения составляет 1-5 мкг аминокбензофенона в пятне	Рекомендовано для мочи, так как кислотный гидролиз непригоден для крови. Нельзя использовать для триазоловых производных (алпразолама, эстазолама, триазолама), так как при биотрансформации они не образуют первичных

			аминобензофенонов, детектируемых реакцией Браттона- Маршалла. Не имеет смысла использовать для нитробензодиазепин ов
Скрининг нитробензоди азепинов (основных метаболитов 7-амино- нитробензоди азепинов	ЖЖЭ пробы без гидролиза н- бутилхлоридом, разделение на пластинах с активным силикагелем в системе растворителей: этилацетат- метанол- 25%аммиак (85:10:5)	Диазотирование по реакции Браттона- Маршалла. Предел обнаружения составляет 1-5 мкг аминобензофенона в пятне	Гидролиз не проводят, так как первичные амины дают реакцию Браттона-Маршалла
Скрининг нативных бензодиазепи нов и их метаболитов	ЖЖЭ или ТФЭ, разделение на пластинах с активным силикагелем в системах растворителей: хлороформ-ацетон	В УФ-свете (флуоресценция или поглощение)с реактивом Драгендорфа или йодплатинатом	

	(90:10), бензол- изопропанол- аммиак (85:15:1)		
--	--	--	--

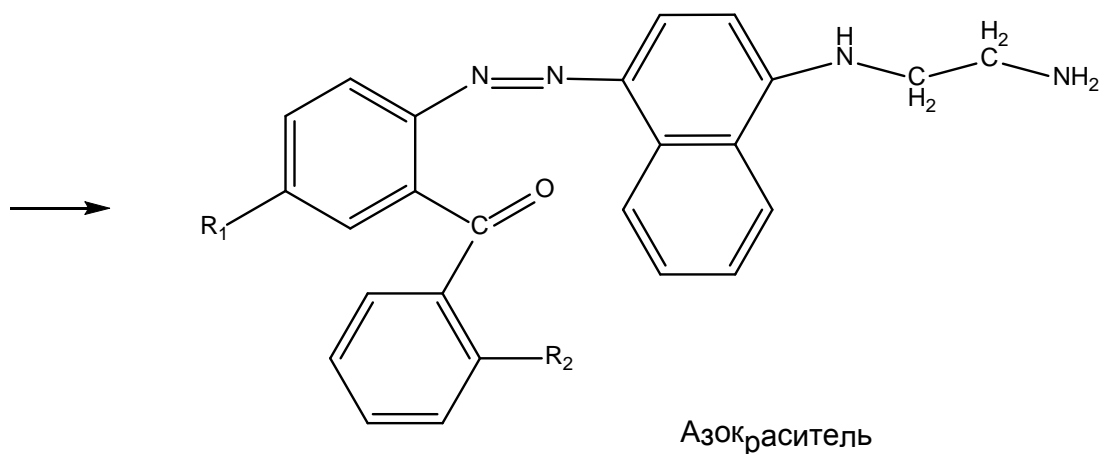
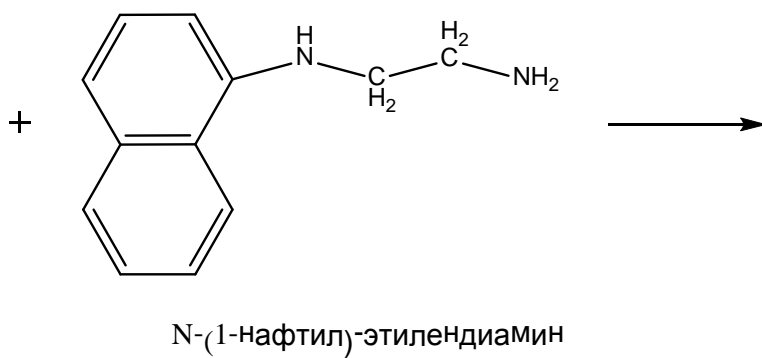
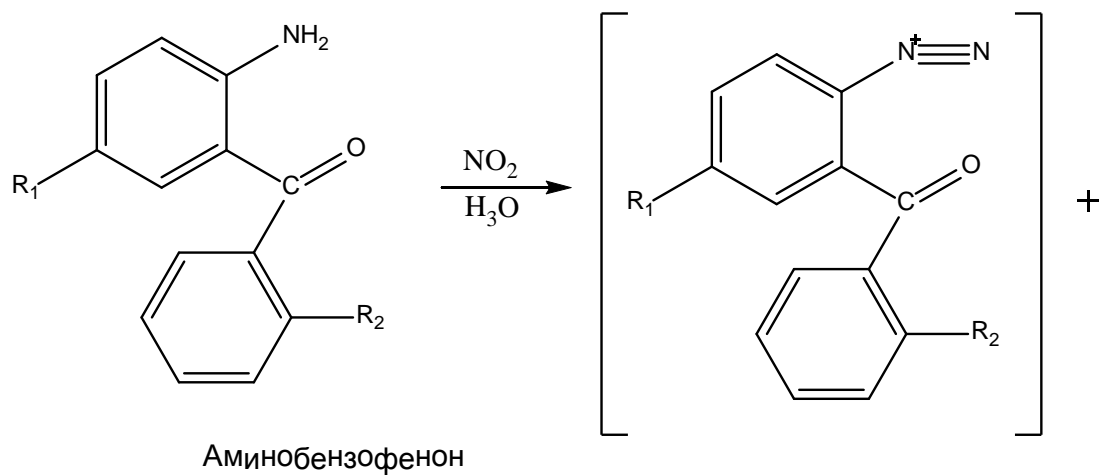


Рисунок. Реакция Браттона-Маршалла

Таблица 13

**Хроматографическая подвижность и цвет зон поглощения
аминобензофенонов**

Вещество	Образующийся бензофенон	Цвет зоны	R_f * 100
Алпразолам	Не образует бензофенона		
Бромазепам	(2-Амино-5-бромобензоил)-пиридин (АББ, АББП)	Красно-фиолетовый	2
Галазепам	2-(2,2,2-Трифлуорэтил-амино-5-хлоробензофенон (ТХБ)	Желтоватый	74
Галоксазолам	2-Амино-5-бromo-2-флуоробензофенон (АБФБ)	Фиолетовый	32
Делоразепам	2-Амино-5,2-дихлоробензофенон (АДБ)	Фиолетовый	33
Диазепам	2-Метиламино-5-хлорбензофенон (МАХБ)	Желтоватый	52
Камазепам	2-Метиламино-5-хлорбензофенон (МАХБ)	Желтоватый	52
Кетазолам	2-Метиламино-5-хлорбензофенон (МАХБ)	Желтоватый	52
Клобазам	1-Амино-2-(фениламино)-4-хлоробензен	Фиолетовый	
Клоксазолам	2-Амино-5,2-	Фиолетовый	33

	дихлоробензофенон (АДБ)		
Клоназепам	2-Амино-5-нитро-2-хлоробензофенон (АНХБ)	Красно-фиолетовый	16
7-Амино-клотиазепам	2,5-Диамино-2-хлоробензофенон (ДАХБ)	Сине-фиолетовый	0
Лопразолам	Не образует бензофенона		
Лоразепам	2-Амино-5,2-дихлоробензофенон (АДБ)	Фиолетовый	33
Лорметазепам	2-Метиламино-2,5-дихлоробензофенон (МДБ)	Желтоватый	57
Медазепам	2-Метиламино-5-хлоробензофенон (МАХБ)	Желтоватый	52
Ниметазепам	2-Метиламино-5-нитробензофенон (МНБ)	Желтоватый	29
Нитразепам	2-Амино-5-нитробензофенон (АНБ)	Красно-фиолетовый	15
Нордазепам	2-Амино-5-хлоробензофенон (АХБ)	Фиолетовый	27
Оксазепам	2-Амино-5-хлоробензофенон (АХБ)	Фиолетовый	27
Оксазолам	2-Амино-5-хлоробензофенон (АХБ)	Фиолетовый	27
Пиназепам	2-(2-Пропиниламино)-5-хлоробензофенон (ХПБ,	Желтоватый	57

	ПХБ)		
Празепам	2-(Циклопропилметил)- амино-5- хлорбензофенон (ЦХБ, ЦМХБ)	Желтоватый	68
Темазепам	2-Метиламино-5- хлорбензофенон (МАХБ)	Желтоватый	52
Тетразепам	Нет данных		
Триазолам	Не образует бензофенона		
Флудиазепам	Изомеры 2-метиламино- 5-хлор-2- флуоробензофенона (МХФБ (1), ХФМБ (2))	1 - Нет окрашивания 2 - Фиолетовый	1 - 55 2 - 31
Флунитразепам	2-Метиламино-5-нитро-2- флуоробензофенон (МНФБ)	Желтоватый	29
Флюразепам	2-Амино-5-хлоро-2- флуоробензофенон (АХФБ)	Фиолетовый	31
Хлордiazепоксид	2-Амино-5- хлоробензофенон (АХБ)	Фиолетовый	27
Эстазолам	Не образует бензофенона		
Мидазолам	2-Амино-5-хлоро-2- флуоробензофенон (АХФБ)	Фиолетовый	31
Бротизолам	Не образует бензофенона		

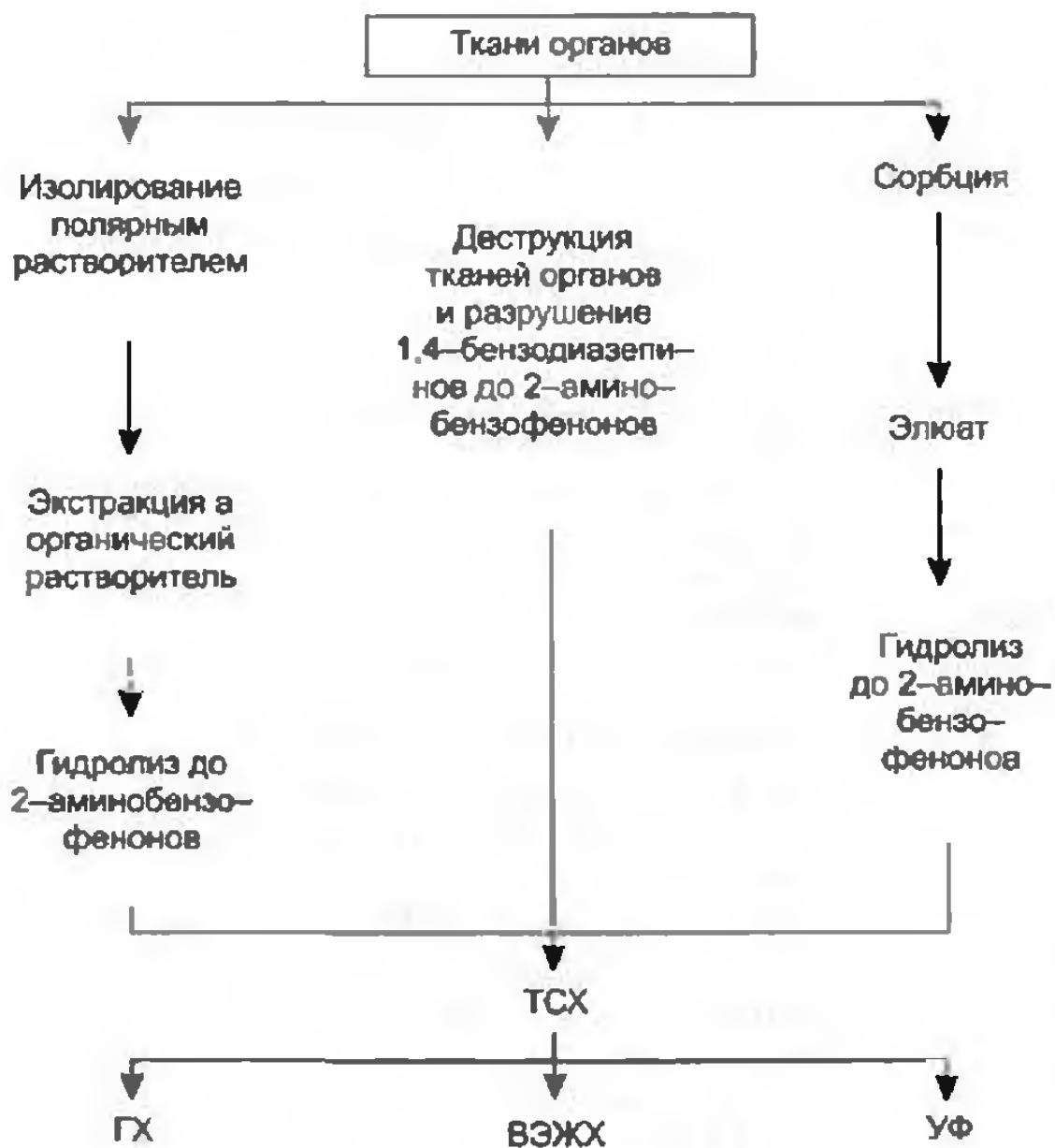


Рис. Исследование по продуктам гидролиза 1,4-бензодиазепинов-аминобензофенонов



Рис. Исследование по неизменному (нативному) соединению и метаболитам

Условно выделяют два пути определения производных 1,4-бензодиазепина: первый путь — по продуктам гидролиза бензодиазепинов — 2-аминобензофенонам, второй путь — по содержанию в объектах исследования неизмененных (нативных) соединений совместно с метаболитами.

Способ определения производных 1,4-бензодиазепина по продуктам гидролиза — 2-аминобензофенонам позволяет суммарно определить нативные соединения и ряд метаболитов. Результатам придается отрицательное судебно-химическое значение. При положительном результате продолжают

исследование по нативному соединению и метаболитам, что позволяет, в ряде случаев, с большей уверенностью сузить круг предполагаемых токсикантов.

К наиболее широко применяемым для определения производных 1,4-бензодиазефина методам анализа, помимо ТСХ и ИХМ, относятся УФ-ВИД-спектрометрия. ИК-Фурье-спектрометрия, ГХ и ВЭЖХ, а также гибридные методы: ГХ-МС или газовая хроматография -ИК-Фурье-спектрометрия, ВЭЖХ-МС.

Газовая хроматография и хроматомасс-спектрометрия. Газовую хроматографию можно рекомендовать в качестве метода, пригодного для анализа большинства бензодиазепинов, однако некоторые из них, в частности 3-гидроксизамещенные бензодиазепины, претерпевают термическую деструкцию и перегруппировку. Хлордиазепоксид, клоксазолам, лорметазепам, галоксазолам, оксазолам, этиллофлазепат и темазепам дают множественные пики. Кетазолам дает единичный пик, соответствующий диазепаму.

Таблица 14

Рабочие условия определения производных бензодиазефина методом газовой хроматографии

Рабочие условия		Примечания
Насадочные колонки	Стеклянные, длиной 1,8-2 м, с внутренним диаметром 2-4 мм	Ограниченная чувствительность. Используют только для определения высоких концентраций в пробах гидролизованной мочи
Стационарные фазы	Любые умеренно неполярные фазы: OV-1, OV-30, 10% OV-1 на хромосорбе G-HP, 3% SE-30, хромосорб W-	Кондиционирование колонки за 15ч. до анализа при температуре на 30°C выше той, при которой выполняется анализ, но в пределах верхнего

	НР и др. Диапазон температур: колонка 230-280 ⁰ С, инжектор – 230-280 ⁰ С, детектор – 280-300 ⁰ С	допустимого предела температуры колонки, рекомендованного производителем
Капиллярные колонки	Неполярные: НР-1 (100% диметилполисилоксан), НР-5, ВР-1, ДВ-1 и др. Толщина пленки 0,25 мкм, длина 25 м, внутренний диаметр 0,25 мм. Диапазон температур: колонка 250-280 ⁰ С, инжектор – 250-280 ⁰ С, детектор – 280-300 ⁰ С	Проба мочи после гидролиза. Используют: для дериватизированных и недериватизированных экстрактов. При определении низких концентрации аналита. В методе IX-МС коэффициент разделения 20:1. Программирование температуры
Детекторы	ЭЗД АФД Масс-спектрометры Ионные ловушки ПИД	ПИД недостаточно чувствителен для определения производных бензодиазепина в биосредах. Масс-детекторы в комбинации с капиллярной газовой хроматографией
Пробоподготовка		Проба мочи после гидролиза. Дериватизация полярных соединений
Газ-носитель	Аргон-матан (95:5) при 30-50 мл/мин	

Таблица 15

**Коэффициенты (индексы) удерживания производных бензодиазепина
(руководство для национальных лабораторий экспертизы наркотиков,
ООН, 2000 г.)**

Вещество	Фаза SE-30/OV-1 Колонка насадочная	Фаза BP-1 Колонка капиллярная
Алпразолам	3050	2936
Бромазепам	2633	2626
Галазепам	2335	2314
Галоксазолам	2620	2634 (2518, 2272)
Делоразепам	2650	2537
Диазепам	2425	2477
Камазепам	2954	2954
Кетазолам	2425	2475
Клобазам	2694	2582
Клоксазолам	2405	2344 (2604)
Клоназепам	2885	2833
7-Аминоклотиазепам	2420	2485
Лопразолам	Не элюируется	Не элюируется
Лоразепам	2402	2448
Лорметазепам	2674	2703 (2946)
Медазепам	2226	2287
Ниметазепам	2730	2693
Нитразепам	2750	2755
Нордазепам	2456	2522
Оксазепам	2336	2374
Оксазолам	2590	2514 (2534, 2212)
Пиназепам	2580	2551
Празепам	2641	2676

Темазепам	2633	2613 (2828)
Тетразепам	2460	2463
Триазолам	3130	3025
Флудиазепам	2460	2403
Флунитразепам	2645	2633
Флюразепам	2785	2795
Хлордiazепоксид	2799 (2453, 2530)	2815 (2531, 2646)
Хлоразепиновая кислота	2457	2521 (2783)
Эстазолам	2955	2893

Важнейший измеряемый параметр в газовой хроматографии — индексы удерживания веществ — время, в течение которого соединение удерживается в разделительной системе, оно зависит от многих факторов: состава стационарной фазы, состава газа-носителя, длины колонки, ее температуры, удерживаемого объема. Перед началом работы систему необходимо проверить путем хроматографирования нескольких эталонных стандартов с известными коэффициентами удерживания.

Система ГХ-МС наряду с ВЭЖХ-МС дает наиболее надежные результаты определения производных бензодиазепинов, продуктов их гидролиза и метаболитов для целей ХТА.

Таблица 16

Масс-спектрометрические характеристики производных бензодиазепинов, продуктов их гидролиза и дериватов

Вещество	Биообъект	Молекулярные ионы (Д)* относительных интенсивностях
Алпразолам	Желудочный сок, плазма, моча после/без	308, 279, 273, 239, 204

	кислотного гидролиза и последующего ацетилирования	
Бромазепам	Плазма, желудочное содержимое, моча, моча после гидролиза глюкуронидов	315, 236, 208, 179
АБП [2-амино-5-бромфенил)-(пиридин-2-ил)]	Моча после кислотного гидролиза	276, 247, 198, 168
Камазепам	Желудочное содержимое	371, 299, 271, 255, 72
МАХБ [2-метиламино-5-хлорбензофенон]	Гидролизованная моча	245, 228, 193, 105, 77
Хлордиазепоксид	Плазма, желудочное содержимое	299, 282, 241, 124,77
АХБ [2-амино-5-хлорбензофенон]	Моча после кислотного гидролиза	231, 230, 154, 105, 77
Клоназепам	Плазма, желудочное содержимое, моча	315, 314, 286, 280, 234
АНХБ [2-амино-2-хлоро-5-нитрофенон]	Моча после ферментативного или кислотного гидролиза	276, 241, 195, 139, 111
Клоназепам TMS		387, 372, 352, 306, 73
Диазепам	Плазма, желудочное содержимое, моча	284, 283, 256, 221, 77
МАХБ [2-метиламино-5-хлорбензофенон]	Моча после ферментативного или кислотного гидролиза	245, 228, 193, 105, 77
Феназепам	Моча после	350, 348, 321, 313, 177

	ферментативного или кислотного гидролиза	
АБХБ [2-амино-2-бromo- 5-хлоробензофенон]	Моча после ферментативного гидролиза	311, 309, 276, 274, 195
Феназепам TMS		422, 420, 405, 385, 73
Флунитразепам	Желудочное содержимое, плазма	313, 312, 285, 266, 238
МАФНБ [2-метиламино- 2-фторо-5- нитробензофенон]	Моча после ферментативного или кислотного гидролиза	274, 257, 211
Медазепам	Желудочное содержимое, плазма, моча, моча после кислотного гидролиза	270, 242, 207, 165
Нитразепам	Желудочное содержимое, плазма, моча после кислотного гидролиза	281, 253, 234, 222, 206
Нитразепам TMS		353, 352, 338, 306, 73
АНБ [2-Амино-5- нитробензофенон]	Моча после гидролиза/кислотного гидролиза	242, 241, 195, 105, 77
Нордазепам	Плазма, желудочное содержимое, моча	270, 269, 242, 241, 77
Нордазепам TMS		342, 341, 327, 269, 73
Оксазепам	Желудочное содержимое, плазма, моча после гидролиза	268, 239, 233, 205, 77

	глюкуронидазой	
Оксазепам 2 TMS	Моча после гидролиза	430, 429, 340, 313, 73
Оксазепам TMS		356, 341, 312, 239, 135
Темазепам	Плазма, моча после гидролиза глюкуронидазой	300, 271, 256, 228, 77
Темазепам TMS		372, 343, 283, 257, 73

ВЭЖХ. Вследствие разнообразия химических структур бензодиазепинов методики разделения и определения этих соединений методом ВЭЖХ подбирают эмпирическим путем. Тем не менее, приведенные ниже условия рекомендуются (руководство для национальных лабораторий экспертизы наркотиков, ООН, 2000 г.) для проведения при стандартных исследованиях качественного и количественного определения всех производных бензодиазепинов (в виде субстанций и лекарственных форм), находящихся под международным контролем.

Для определения производных бензодиазепина в биосредах используют обращеннофазовые колонки с сорбентами C8 или C18. Подвижная фаза — смеси фосфатного буфера и ацетонитрила и/или метанола, применяемые в изократическом или градиентном режиме. При этом важно сохранение постоянного значения pH подвижной фазы. Для детектирования чаще всего применяют УФ-детектор или диодную матрицу. Большинство производных бензодиазепина определяют при λ 230 нм, нитропроизводные — при λ 240 нм.

Таблица 17

Условия определения производных бензодиазепинов методом ВЭЖХ

	Рабочие условия	
	Нормальная фаза	Обращенная фаза
Колонка	250 мм при внутреннем диаметре 5 мм	250 мм при внутреннем диаметре 5 мм

Материал насадки	Диоксид кремния для ВЭЖХ, диаметр частиц 5 мкм (Сферисорб S5W или эквивалентный)	Окталенилдиоксид кремния для ВЭЖХ, диаметр частиц 5 мкм (ODS-гиперсил или эквивалентный)
Подвижная фаза	А: метанол (1000 мл), содержащий хлорную кислоту (100 мкл). В: смесь метанол — вода — трифторуксусная кислота (997 — 2 — 1 в отношении по объему)	С: смесь метанол — вода — фосфатный буферный раствор (0.1 М) (55:25:20, в отношении по объему), рН 7,25 D: смесь метанол — вода — фосфатный буферный раствор (0.1 М) (70:10:20, в отношении по объему), рН 7.67
Скорость потока	2,0 мл/мин	1,5 мл/мин
Детектирование	УФ при 240 нм	УФ при 240 нм
Растворы пробы	Экстракция активных компонентов из лекарственных форм и субстанций. Растворение в метаноле (концентрация аналита приблизительно 1 мг/мл)	Экстракция активных компонентов из лекарственных форм и субстанций. Растворение в 50% водном растворе метанола (концентрация аналита приблизительно 1 мг/мл)
Раствор стандарта	Растворить в метаноле количество стандарта	Растворить в 50% водном растворе

	наркотика, достаточное для получения раствора концентрации 1 мг/мл	метанола количество стандарта наркотика, достаточное для получения раствора концентрации 1 мг/мл
Объем инъекции	20 мкл с помощью петлевого инжектора	20 мкл с помощью петлевого инжектора
Количественное определение	По пиковым областям методом внешнего стандарта	По пиковым областям методом внешнего стандарта

Система ТФЭ-ВЭЖХ-ДМД (диодно-матричный детектор) позволяет проводить экспресс-исследования, идентифицировать глюкурониды метаболитов производных бензодиазепина в моче. При этом повышается надежность результатов скрининга мочи, которая предварительно подвергается ферментативному гидролизу и процессу деривагизации полярных метаболитов. Метод применим для определения бензодиазепинов в сыворотке крови, мочи, гомогенатах тканей.

В последнее время широкое распространение получил комбинированный метод ВЭЖХ-МС.

ИК-спектрометрия и ИК-Фурье-спектрометрия

Метод обладает достаточно высокой чувствительностью и позволяет идентифицировать индивидуальные вещества из группы бензодиазепинов.

Таблица 18

Особенности интерпретации результатов определения производных бензодиазепинов в крови и моче

Биообъекты	Комментарии
-------------------	--------------------

<p>Моча</p>	<p>Нет прямой зависимости найденной концентрации от введенной дозы.</p> <p>Метаболиты в основном содержатся в виде глюкуранилов. Низкий процент экстракции аналита органическим растворителем</p>	<p>Бензодиазепины короткого действия обнаруживаются в течение 24—48 ч после приема, препараты среднего и длительного действия — 7—10 дней. Нитро и триазолопроизводные имеют специфические метаболиты. В большинстве случаев основной метаболит — оксазепам</p>
<p>Кровь (сыворотка или плазма)</p>	<p>Индикаторы оценки уровня интоксикации.</p> <p>Низкие концентрации аналита в крови, поэтому для скрининга чаще используют мочу.</p>	<p>Следует принимать во внимание наличие в крови алкоголя, наркотиков и других лекарственных средств. Следует учитывать, что концентрация аналита будет выше ожидаемых (при приеме терапевтических доз у больных с хроническими заболеваниями и людей пожилого возраста). При повышенной чувствительности к препаратам интоксикация может наступить при низких концентрациях аналита.</p> <p>Толерантность к бензодиазепинам обуславливает прием препаратов в значительно больших чем терапевтические,</p>

		дозах, что подтверждается результатами ХТА.
--	--	---

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ ДЛЯ СТУДЕНТОВ

Задание #1 К веществам, изолируемым экстракцией подкисленным спиртом или подкисленной водой относятся 1) Производные барбитуровой кислоты 2) Опиаты 3) Каннабиноиды 4) Фенилалкиламины 5) Производные 1,4-бензодиазепина 6) Кокаин 7) Пестициды 8) Производные фенотиазина

Задание #2 К веществам, изолируемым экстракцией полярными растворителями и сорбцией относятся 1) морфин 2) этиловый спирт 3) феназепам 4) фенобарбитал 5) кадмий 6) кокаин 7) дихлофос 8) амфетамин

Задание #3 Пробоподготовка это 1) получение производных анализируемого вещества, обладающих иными (лучшими с точки зрения используемого аналитического метода) аналитическими свойствами (например, иным УФ-спектром, флуоресценцией, термической стабильностью, летучестью и пр.) 2) разделение неоднородных систем (напр., жидкость - твердые частицы) на фракции по плотности при помощи центробежных сил 3) извлечение вещества из раствора или твердого объекта в системе двух фаз с границей раздела, при помощи подходящего экстрагента. 4) совокупность действий над объектом анализа с целью превращения пробы в подходящую для последующего анализа форму, состояние вещества, а также избавления от мешающих анализу компонентов 5) концентрирование и отделение от матрицы целевого вещества для анализа (аналита) с использованием твердых сорбентов, с последующим вымыванием (экстракцией) подходящими растворителями

Задание #4 Дериватизация это 1) получение производных анализируемого вещества, обладающих иными (лучшими с точки зрения

используемого аналитического метода) аналитическими свойствами (например, иным УФ-спектром, флуоресценцией, термической стабильностью, летучестью и пр.) 2) разделение неоднородных систем (напр., жидкость - твердые частицы) на фракции по плотности при помощи центробежных сил 3) извлечение вещества из раствора или твердого объекта в системе двух фаз с границей раздела, при помощи подходящего экстрагента. 4) совокупность действий над объектом анализа с целью превращения пробы в подходящую для последующего анализа форму, состояние вещества, а также избавления от мешающих анализу компонентов 5) концентрирование и отделение от матрицы целевого вещества для анализа (аналита) с использованием твердых сорбентов, с последующим вымыванием (экстракцией) подходящими растворителями

Задание #5 Центрифугирование это 1) получение производных анализируемого вещества, обладающих иными (лучшими с точки зрения используемого аналитического метода) аналитическими свойствами (например, иным УФ-спектром, флуоресценцией, термической стабильностью, летучестью и пр.) 2) разделение неоднородных систем (напр., жидкость - твердые частицы) на фракции по плотности при помощи центробежных сил 3) извлечение вещества из раствора или твердого объекта в системе двух фаз с границей раздела, при помощи подходящего экстрагента. 4) совокупность действий над объектом анализа с целью превращения пробы в подходящую для последующего анализа форму, состояние вещества, а также избавления от мешающих анализу компонентов 5) концентрирование и отделение от матрицы целевого вещества для анализа (аналита) с использованием твердых сорбентов, с последующим вымыванием (экстракцией) подходящими растворителями

Задание #6 Жидкостная экстракция это 1) получение производных анализируемого вещества, обладающих иными (лучшими с точки зрения

используемого аналитического метода) аналитическими свойствами (например, иным УФ-спектром, флуоресценцией, термической стабильностью, летучестью и пр.) 2) разделение неоднородных систем (напр., жидкость - твердые частицы) на фракции по плотности при помощи центробежных сил 3) извлечение вещества из раствора или твердого объекта в системе двух фаз с границей раздела, при помощи подходящего экстрагента. 4) совокупность действий над объектом анализа с целью превращения пробы в подходящую для последующего анализа форму, состояние вещества, а также избавления от мешающих анализу компонентов 5) концентрирование и отделение от матрицы целевого вещества для анализа (аналита) с использованием твердых сорбентов, с последующим вымыванием (экстракцией) подходящими растворителями

Задание #7 Твердофазная экстракция это 1) получение производных анализируемого вещества, обладающих иными (лучшими с точки зрения используемого аналитического метода) аналитическими свойствами (например, иным УФ-спектром, флуоресценцией, термической стабильностью, летучестью и пр.) 2) разделение неоднородных систем (напр., жидкость - твердые частицы) на фракции по плотности при помощи центробежных сил 3) извлечение вещества из раствора или твердого объекта в системе двух фаз с границей раздела, при помощи подходящего экстрагента. 4) совокупность действий над объектом анализа с целью превращения пробы в подходящую для последующего анализа форму, состояние вещества, а также избавления от мешающих анализу компонентов 5) концентрирование и отделение от матрицы целевого вещества для анализа (аналита) с использованием твердых сорбентов, с последующим вымыванием (элюированием) подходящими растворителями

Задание #8 Укажите объекты исследования, получаемые от живых людей:

1) печень, фрагменты ЖКТ 2) кровь 3) почки, легкие 4) слюна 5) волосы, ногти 6) моча 7) содержимое желудка 8) мозг, сальник

Задание #9 Волосы и ногтевые пластины (придатки кожи) используют в качестве объекта исследования потому, что: 1) это важно с точки зрения ретроспективных исследований 2) это очень удобный для исследования объект 3) это позволяет узнать был ли контакт с каким-либо веществом ранее (несколько недель, месяцев назад) 4) в этих объектах многие вещества сохраняются значительное время 5) в этих объектах как правило наивысшая концентрация токсинов и токсикантов

Задание #10 Смывы с кожных покровов людей наиболее оптимально проводить Выберите один из 2 вариантов ответа: 1) ватно-марлевым тампоном, смоченным водой 2) ватно-марлевым тампоном, смоченным водно-этанольной смесью, или ацетоном

Задание #11 Укажите объекты исследования, получаемые от трупов: 1) печень, фрагменты ЖКТ 2) кровь 3) почки, легкие 4) слюна 5) волосы, ногти 6) моча 7) содержимое желудка 8) мозг, сальник

Задание #12 Основные задачи пробоподготовки 1) Удалить возможные мешающие компоненты пробы 2) Провести определение качественного состава, представленных объектов 3) Провести определение количественного состава, представленных объектов 4) Увеличить концентрацию определяемого вещества (повышение чувствительности) 5) Превратить аналит в форму, подходящую для качественного и количественного анализа

Задание #13 Укажите стадии пробоподготовки 1) Предварительная обработка (измельчение, разведение, депротеинизация и пр.) 2) Гидролиз конъюгированных метаболитов 3) Экстракция 4) Очистка 5) Дериватизация 6) Качественное и количественное определение 7) Калибровка

Задание #14 Укажите способы измельчения и гомогенизации 1) механический 2) химический 3) ферментативный 4) дисперсионный 5) факультативный

Задание #15 При добавлении к водным растворам таких органических растворителей как спирт, ацетон происходит денатурация белков потому, что: 1) они специфически взаимодействуют с активными центрами белков 2) происходит гидролиз пептидных связей 3) белки в этих растворителях практически нерастворимы

Задание #16 Укажите способы депротенизации 1) снижение растворимости при добавлении органических растворителей 2) денатурация сильными кислотами 3) высаливание 4) ферментативная обработка 5) при помощи электрофореза

Задание #17 Центрифугирование предпочтительнее фильтрации из-за 1) отсутствия потерь за счет сорбции на фильтре 2) отсутствии разбавления (не нужно промывать фильтр) 3) удобства 4) быстроты

Задание #18 Гидролиз конъюгированных метаболитов необходимо проводить потому, что: 1) Необходимо получить исходные (нативные) вещества 2) Стандартные образцы конъюгатов трудно доступны из-за большого количества этих производных 3) Необходимо снизить их токсичность 4) Конъюгированные метаболиты плохо экстрагируются в неполярные растворители (хлороформ, эфир) 5) Конъюгированные метаболиты не подходят для анализа методом ГХ (полярны и имеют большой молекулярный вес)

Задание #19 Жидкость-жидкостная экстракция характеризуется 1) извлечением жидкости из объекта 2) наличием стадии центрифугирования 3) возможностью управления селективностью за счет регулирования рН и подбора экстрагента 4) коэффициентом распределения: - отношение концентраций аналита в двух несмешивающихся фазах при равновесии 5) выделением аналита в системе двух несмешивающихся жидкостей

Задание #20 При жидкость-жидкостной экстракции из водной среды веществ основного характера необходимо создавать значение pH: 1) меньше на 2 от pKa 2) меньше на 1 от pKa 3) равной pKa 4) больше на 1 от pKa 5) больше на 2 от pKa

Задание #21 При жидкость-жидкостной экстракции из водной среды веществ кислого характера необходимо создавать значение pH: 1) меньше на 2 от pKa 2) меньше на 1 от pKa 3) равной pKa 4) больше на 1 от pKa 5) больше на 2 от pKa

Задание #22 В органических растворителях вещества растворяются преимущественно Выберите один из 2 вариантов ответа: 1) в неионизированном состоянии 2) в ионизированном состоянии

Задание #23 В воде (водных растворах) вещества растворяются преимущественно Выберите один из 2 вариантов ответа: 1) в неионизированном состоянии 2) в ионизированном состоянии

Задание #24 При значениях pH менее pKa, вещества основного характера находятся Выберите один из 2 вариантов ответа: 1) в ионизированном состоянии 2) в неионизированном состоянии

Задание #25 При значениях pH больше pKa, вещества основного характера находятся Выберите один из 2 вариантов ответа: 1) в ионизированном состоянии 2) в неионизированном состоянии

Задание #26 При значениях pH больше pKa, вещества кислотного характера находятся Выберите один из 2 вариантов ответа: 1) в ионизированном состоянии 2) в неионизированном состоянии

Задание #27 Хлороформные (эфирные) экстракты из водных щелочных растворов могут содержать следующие вещества: 1) фенилалкиламины (эфедрин, амфетамин и др.) 2) опиаты и опиоиды 3) производные 1,4-бензодиазепина 4) производные пиразолона (анальгин, антипирин) 5) фенотиазины 6) галлюциногены (ЛСД) 7) производные п-аминобензойной кислоты (новокаин, новокаинамид)

Задание #28 В хлороформные (эфирные) экстракты из подкисленных водных растворов будут экстрагироваться вещества: 1) производные барбитуровой кислоты 2) опиаты и опиоиды 3) производные 1,4-бензодиазепина 4) производные пиразолона (анальгин, антипирин) 5) фенотиазины 6) галлюциногены 7) ароматические кислоты и их производные (бензоаты, салицилаты)

Задание #29 При значениях pH менее pK_a , вещества кислотного характера находятся Выберите один из 2 вариантов ответа: 1) в ионизированном состоянии 2) в неионизированном состоянии

Задание #30 Укажите последовательность стадий в твердо-фазной экстракции Укажите порядок следования всех 4 вариантов ответа: __ промывка сорбента (элюирование сопутствующих веществ) __ нанесение пробы __ элюирование аналита (определяемого вещества) __ активация сорбента

Задание #31 Укажите преимущества твердо-фазной экстракции перед жидкость-жидкостной экстракцией 1) большая степень извлечения, чем в жидкость-жидкостной экстракцией 2) подходит для очень полярных веществ 3) более чистые экстракты 4) ограниченная сорбционная емкость 5) процесс может быть автоматизирован

Задание #32 Укажите общие методы изолирования 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона (метод В.А. Карташова) 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод В.Ф. Крамаренко 4) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова 7) Метод Саломатина 8) Метод гидролиза в концентрированной кислоте

Задание #33 Укажите частные методы изолирования (получают экстракты только с веществами или кислого, или основного характера) 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод В.Ф. Крамаренко 4) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 5) Метод Грусц-

Харди 6) Метод П. Валова 7) Метод Саломатина 8) Метод гидролиза в концентрированной кислоте

Задание #34 Экстрагирование веществ нейтральным ацетоном проводят в методе 1) Метод Карташова 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова 7) Метод Саломатина

Задание #35 Экстрагирование веществ водой, подкисленной органической кислотой, проводят в методе 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова

Задание #36 Экстрагирование веществ экстрагирование 96% этанолом, подкисленным органической кислотой, проводят в методе 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова

Задание #37 Экстрагирование веществ водой, подкисленной серной кислотой, проводят в методе 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова

Задание #38 Экстрагирование веществ смесью спирта и хлороформа (1:1) проводят в методе 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова

Задание #39 Экстрагирование веществ водой, подщелоченной натрия гидроксидом, проводят в методе 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова

Задание #40 Предварительное растирание биоматериала с кристаллами аммония сульфата и хлористоводородной кислотой, проводят в методе Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) В.А. Карташова 2) А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Стаса-Отто (модифицированный) 4) В.Ф. Крамаренко 5) Грусц-Харди 6) П. Валова

Задание #41 При использовании изолирования веществ кислотного и основного характера по методу В.А. Карташова экстракцию проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) нейтральным ацетоном 2) водой, подкисленной органической кислотой 3) 96% этанолом, подкисленным органической кислотой 4) водой, подкисленной серной кислотой 5) смесью спирта и хлороформа (1:1) 6) растиранием с кристаллами аммония сульфата и хлористоводородной кислоты и экстрагированием смесью спирта и хлороформа (1:1)

Задание #42 При использовании метода А.А. Васильевой (модифицированный) экстракцию проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) нейтральным ацетоном 2) водой, подкисленной органической кислотой 3) 96% этанолом, подкисленным органической кислотой 4) водой, подкисленной серной кислотой 5) смесью спирта и хлороформа (1:1) 6) растиранием с кристаллами аммония сульфата и хлористоводородной кислоты и экстрагированием смесью спирта и хлороформа (1:1)

Задание #43 При использовании метода Стаса-Отто (модифицированный) экстракцию проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) нейтральным ацетоном 2) водой, подкисленной органической кислотой 3) 96% этанолом, подкисленным органической

кислотой 4) водой, подкисленной серной кислотой 5) смесью спирта и хлороформа (1:1) 6) растиранием с кристаллами аммония сульфата и хлористоводородной кислоты и экстрагированием смесью спирта и хлороформа (1:1)

Задание #44 При использовании метода В.Ф. Крамаренко экстракцию проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) нейтральным ацетоном 2) водой, подкисленной органической кислотой 3) 96% этанолом, подкисленным органической кислотой 4) водой, подкисленной серной кислотой 5) смесью спирта и хлороформа (1:1) 6) растиранием с кристаллами аммония сульфата и хлористоводородной кислоты и экстрагированием смесью спирта и хлороформа (1:1)

Задание #45 При использовании метода Грусц-Харди экстракцию проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) нейтральным ацетоном 2) водой, подкисленной органической кислотой 3) 96% этанолом, подкисленным органической кислотой 4) водой, подкисленной серной кислотой 5) смесью спирта и хлороформа (1:1) 6) растиранием с кристаллами аммония сульфата и хлористоводородной кислоты и экстрагированием смесью спирта и хлороформа (1:1)

Задание #46 При использовании метода П. Валова экстракцию проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) нейтральным ацетоном 2) экстрагирование водой, подкисленной органической кислотой 3) экстрагирование 96% этанолом, подкисленным органической кислотой 4) экстрагирование водой, подкисленной серной кислотой 5) растиранием с кристаллами аммония сульфата и хлористоводородной кислоты и экстрагированием смесью спирта и хлороформа (1:1) 6) водой, подщелоченной гидроксидом натрия

Задание #47 Очистку добавлением 0,5 М хлористоводородной кислоты (1:1) и обработкой н-гексаном проводят в методе Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) В.А. Карташова 2) А.А. Васильевой

(модифицированный) 3) Стаса-Отто (модифицированный) 4) В.Ф. Крамаренко 5) Грусц-Харди 6) П. Валова

Задание #48 Очистку упариванием, осаждением белков абсолютным спиртом и перерастворением в воде проводят в методе Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) В.А. Карташова 2) А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Стаса-Отто (модифицированный) 4) В.Ф. Крамаренко 5) Грусц-Харди 6) П. Валова

Задание #49 Очистку натрия вольфрамом проводят в методе Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) В.А. Карташова 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова

Задание #50 Очистку высаливанием аммония сульфатом проводят в методе Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) В.А. Карташова 2) А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Стаса-Отто (модифицированный) 4) В.Ф. Крамаренко 5) Грусц-Харди 6) П. Валова

Задание #51 Очистку выпариванием и обработкой горячей водой с центрифугированием проводят в методе 1) В.А. Карташова 2) А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Стаса-Отто (модифицированный) 4) В.Ф. Крамаренко 5) Грусц-Харди 6) П. Валова

Задание #52 Дополнительную очистку не проводят в методе Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) В.А. Карташова 2) А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Стаса-Отто (модифицированный) 4) В.Ф. Крамаренко 5) Грусц-Харди 6) П. Валова

Задание #53 При использовании изолирования веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона очистку проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) 0,5 М хлористоводородной кислотой (1:1) и обработкой н-гексаном 2) упариванием, осаждением белков абсолютизированным спиртом и перерастворением в воде 3) натрия вольфрамом 4) дополнительную очистку не проводят 5) выпариванием

и обработкой горячей водой с центрифугированием б) высаливанием аммония сульфатом

Задание #54 При использовании метода А.А. Васильевой (модифицированный) очистку проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) 0,5 М хлористоводородной кислотой (1:1) и обработкой н-гексаном 2) упариванием, осаждением белков абсолютизированным спиртом и перерастворением в воде 3) натрия вольфраматом 4) дополнительную очистку не проводят 5) выпариванием и обработкой горячей водой с центрифугированием 6) высаливанием аммония сульфатом

Задание #55 При использовании метода Стаса-Отто (модифицированный) очистку проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) 0,5 М хлористоводородной кислотой (1:1) и обработкой н-гексаном 2) упариванием, осаждением белков абсолютизированным спиртом и перерастворением в воде 3) натрия вольфраматом 4) дополнительную очистку не проводят 5) выпариванием и обработкой горячей водой с центрифугированием 6) высаливанием аммония сульфатом

Задание #56 При использовании метода В.Ф. Крамаренко очистку проводят Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) 0,5 М хлористоводородной кислотой (1:1) и обработкой н-гексаном 2) упариванием, осаждением белков абсолютизированным спиртом и перерастворением в воде 3) натрия вольфраматом 4) дополнительную очистку не проводят 5) выпариванием и обработкой горячей водой с центрифугированием 6) высаливанием аммония сульфатом

Задание #57 При использовании метода Грусц-Харди очистку проводят 1) 0,5 М хлористоводородной кислотой (1:1) и обработкой н-гексаном 2) упариванием, осаждением белков абсолютизированным спиртом и перерастворением в воде 3) натрия вольфраматом 4) дополнительную очистку не проводят 5) выпариванием и обработкой горячей водой с центрифугированием 6) высаливанием аммония сульфатом

Задание #58 При использовании метода П. Валова очистку от белков проводят 1) 0,5 М хлористоводородной кислотой (1:1) и обработкой н-гексаном 2) упариванием, осаждением белков абсолютизированным спиртом и перерастворением в воде 3) натрия вольфраматом 4) дополнительную очистку не проводят 5) выпариванием и обработкой горячей водой с центрифугированием 6) высаливанием аммония сульфатом

Задание #59 При изолировании из таких объектов, как моча, плазма крови методы Стаса-Отто, Васильевой, Валова, Картшова, Крамаренко 1) используются без стадии настаивания 2) используются в полном объеме 3) не используются

Задание #60 Основные недостатки метода Стаса-Отто 1) длительность 2) дороговизна 3) большое количество трудоемких операций 4) невозможность использовать для биологических объектов 5) возможность потери аналитов с денатурированными белками

Задание #61 Настаивание 96% этиловым спиртом при $pH=2,5-3,0$ в течение 3-х суток (каждые сутки обновляя экстрагент) производят в методе 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова

Задание #62 Наиболее оптимальным методом изолирования алкалоидов является Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона 2) Метод А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова

Задание #63 Наиболее оптимальным методом изолирования барбитуратов является Выберите один из 6 вариантов ответа: 1) Изолирование веществ кислотного и основного характера с помощью ацетона 2) Метод А.А.

Васильевой (модифицированный) 3) Метод Стаса-Отто (модифицированный) 4) Метод В.Ф. Крамаренко 5) Метод Грусц-Харди 6) Метод П. Валова

Задание #64 Метод Крамаренко наиболее оптимально использовать для изолирования 1) барбитуратов 2) бензодиазепинов 3) фенотиазинов 4) каннабиноидов 5) алкалоидов

Задание #65 Метод Валова наиболее оптимально использовать для изолирования 1) барбитуратов 2) бензодиазепинов 3) фенотиазинов 4) каннабиноидов 5) алкалоидов

Задание #66 Для изолирования веществ как кислого, так и основного характера из органов и тканей трупа используют методы 1) В.А. Карташова 2) А.А. Васильевой (модифицированный) 3) Стаса-Отто (модифицированный) 4) В.Ф. Крамаренко 5) Грусц-Харди 6) П. Валова

Задание #67 При получении конечных экстрактов наиболее часто используют растворители 1) бензол 2) хлороформ 3) диэтиловый эфир 4) этиловый или метиловый спирт 5) гексан

Задание #68 Метод Стаса-Отто наиболее оптимально использовать для изолирования из: 1) биологических жидкостей 2) таблеток, содержимого капсул 3) органов и тканей трупа 4) смывов с лица и рук 5) пищевых продуктов 6) жидкостей из бутылок, стаканов и др. подобных объектов 7) смывов со стола, весов, колб и др. подобных объектов.

Ситуационные задачи

Этапы решения ситуационной задачи.

1. Выделить фрагменты молекулы токсиканта, обеспечивающих высокую (низкую) растворимость в воде и органических растворителях.
2. Указать механизмы токсичности (молекулярный, клеточный, биохимический, тканевый, организменный).
3. Указать механизмы транспорта токсиканта через мембрану (пассивная диффузия, активный транспорт и т. д.)

4. Определить характер токсиканта (кислотный, основной, нейтральный). Привести схемы ионизации токсиканта при $pH=1,0$; $7,0$; 10 . Указать, где происходит наиболее значительное всасывание при пероральном приеме.
5. Привести характер спектра поглощения токсиканта в УФ и ИК области.
6. Указать формулы основных возможных метаболитов представленных соединений.
7. Составить схему проведения экспертизы
8. Предложить объекты исследования.
9. Описать процедуру пробоподготовки.
10. Предложить методы предварительного исследования.
11. Интерпретировать результаты предварительных испытаний.
12. Предложить методы подтверждающих исследований.
13. Интерпретировать результаты, получаемые с помощью подтверждающих методов.
14. Сделать заключения об обнаруженных токсикантах.

Задача 1

На загородном шоссе произошло ДТП по вине водителя автомобиля, который заснул за рулем. Со слов водителя потерпевшего аварию известно, что он принимал таблетки по назначению врача для лечения бессонницы. Название он не помнит что-то заканчивающееся наам. Водитель был направлен на медицинское освидетельствование.

Цель исследования: провести анализ на присутствие наркотических и психотропных веществ представленных объектов.

Результаты, полученные при исследовании биологического материала. Обнаружено вещество (2-метиламино-5-хлорбензофенона).

Задача 2

В загородном особняке на полу был найден труп гражданина П. На тумбочке рядом с кроватью обнаружена пустая бутылка из под коньяка и смятая блистерная упаковка. Со слов домработницы хозяин особняка занимался строительным бизнесом, и у него были какие то проблемы с финансами. Труп был отправлен на судебно-медицинское исследование.

Цель исследования: провести анализ на присутствие наркотических и психотропных средств представленных объектов.

При патолого-анатомическом вскрытии никаких характерных изменений органов и тканей обнаружено не было. В желудке обнаружены полурастворившиеся таблетки, от содержимого желудка исходил запах алкоголя.

Задача 3

В молодой семье простудился ребенок 4 лет, и его привезли на несколько дней к бабушке на дачу. Родители оставили лекарства, витамины и уехали на работу. Бабушка дала внуку лекарства и уложила спать, а сама вышла в сад поработать. Спустя 2 часа ребенок продолжал спать. Бабушка решила не будить и продолжала работать по дому. Поздно вечером родители решили навестить

ребенка. Мальчик продолжал спать. Попытки его разбудить были тщетны. Была вызвана «Скорая помощь». Врач обнаружила на тумбочке почти пустую упаковку транквилизатора «элениум», который принимала бабушка. Ребенка срочно доставили в больницу, где провели промывание желудка и экстренные мероприятия по реанимации.

Цель исследования: провести анализ на присутствие наркотических и психотропных средств представленных объектов.

Список литературы

1. Александровский Ю.А. Клиническая фармакология транквилизаторов. МД 1973. – 334с.
2. Воронина Т.А. Спектр фармакологической активности гидазепама и его место среди известных транквилизаторов. В кн.: Гидазепам. Киев, 1992, 63-75.
3. Мосолов С.Н. Основы психофармакотерапии. М., 1996, 287с.
4. Hallstrom C. Coping with anxiety and patient's predicament. In:Wheatley D. The Anxiolytic Jungle: Where Next?, 1990, 99-III.
5. Hamphreys S., Hallstrom C. Benzodiazepine discontinuation phenomena. In: Hypnotics and Anxiolitics. 1995, 485-503.
6. Hawley C., Tatershall M., Dellaportas C., Hallstrom C. Comparison of long-term users in three settings. Br. J. of Psych., 1994,165,792-796.
7. Helman C. "Tonic", "Fuel" and "Food". Social and symbolic aspects of long-term use of psychotropic drugs. Social Science and Medicine. 1981,15B. 521-533.
8. Higgitt A.,Golombok SД Fonagy P., Lader M. Group treatment of benzodiazepine dependence. Br. J. of Addiction, 1984,82,517-532.
9. Lader M. The rise and fall of the benzodiazepines. J. of the Association of Europ. Psych., 1996, 11,4,219s.
10. Marriott S., Tyrer P. Benzodiazepine dependence, avoidance and wihtdrawal. Drug Safety,1993, 9,2, 511-516.
11. Mellinger G., Bailer W. Anti-anxiety agents duration of use and characteristics users in the USA. Current Medical Opinion and Research, 1984,4,21-36
12. Miller N., Gold M. Management of withdrawal syndromes and relapse prevention in drug and alcohol dependence. Am. Family Physician, 1998, July, 58,1, 139-147.
13. Morphy S., Tyrer P. A double-blind comparison of the effects of gradual wihtdrawal of lorazepam, diazepam and bromazepam in benzodiazepine dependence. Br. J. of Psych., 1991, 158, 511-516.

14. Reidenberg M. Effect of requirement for triplicate prescriptions for benzodiazepines in New York state. *Clin. Pharmac. And Therap.*, 1991,50,129-131.
15. Rickels L. Interet du Tranxene comprimés a 50 mg en milieu psychiatrique. *Psychol. Med.*, 1988, 6, 1615-1619.
16. Taylor K., Laverty R. The effect of chlordiazepoxide, diazepam and nitrazepam on catecholamine metabolism in regions of ratbrain. *European J. of Parmacology.* 1969, 8, 296-301.
17. Tyrer P. Current problems with the benzodiazepines. In:Wheatley D. *The Anxiolytic Jungle: Where Next*, 1990, 23-36.
18. Tyrer P., Owen R., Dawling S. Gradual wihtdrawal of diazepam after long-term therapy. *Lancet i*, 1983,1402-1406