

บทคัดย่อ

ยากลุ่มเบนโซไดอะซีปีนปัจจุบันพบว่าถูกนำมาใช้ในทางที่ผิดอย่างแพร่หลาย โดยยาในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติต่าง ๆ ดังนี้คือลดอาการวิตกกังวลและซึมเศร้า รักษาการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อควบคุมกล้ามเนื้อสั่นจากการชัก และการถอนเหล้า และ ใช้รักษาอาการนอนไม่หลับที่มีสาเหตุจากความวิตกกังวล งานวิจัยนี้ทำการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ยาเบนโซไดอะซีปีนที่พบใช้บ่อย 5 ชนิด และสารเมตาบอไลต์ในซีรัม คือ flunitrazepam, oxazepam, alprazolam, chlordiazepoxide, diazepam และ desmethyldiazepam โดยใช้วิธีสกัดตัวอย่างโดยใช้ solid phase extraction (SPE) และวิธี high-performance liquid chromatography (HPLC) การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณที่ความยาวคลื่นแสง 235 และ 239 นาโนเมตรโดยอาศัยคอลัมน์บรรจุสารชนิด C_8 และตัวทำละลายที่ประกอบด้วยสารละลายต่างที่ปราศจากเกลือบัฟเฟอร์ร่วมกับ acetonitrile และ methanol ในระบบปรับเปลี่ยนอัตราส่วนตัวทำละลาย โดยใช้สารคาร์บามาซีปีนเป็นสารมาตรฐานภายในตรวจวิเคราะห์ ยาทั้ง 6 ชนิด คือ flunitrazepam, oxazepam, alprazolam, chlordiazepoxide, desmethyl diazepam และ diazepam จะถูกตรวจแยกออกจากกันตามลำดับ โดยวิเคราะห์ในเชิงเส้นตรงได้ที่ความเข้มข้น 250-4,000 นาโนกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยของการตรวจพบยาเท่ากับร้อยละ 91, 91, 93, 84, 110 และ 92 ตามลำดับ วิธีนี้สามารถตรวจแยกยาได้ชัดเจน มีความไวและความจำเพาะดี จึงนำมาพัฒนาใช้ในงานประจำของห้องปฏิบัติการพิษวิทยาได้

การศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์หาเบนโซไดอะซีปีนเชิงคุณภาพในตัวอย่างซีรัม ผู้เสียชีวิตจำนวน 81 รายโดยชุดตรวจ one-step immunoassay SureStepTM drug screen tests และ high-performance liquid chromatography พบวิธี immunoassay มีความไวและความจำเพาะในการตรวจวิเคราะห์ยาเบนโซไดอะซีปีนเมื่อเทียบกับวิธี HPLC เท่ากับร้อยละ 92 และร้อยละ 81 ตามลำดับ โดยพบว่าวิธี HPLC มีความแตกต่างจากวิธี immunoassay ตรงที่วิธี HPLC สามารถตรวจหาเบนโซไดอะซีปีนที่ความเข้มข้นต่ำกว่าค่าต่ำสุดที่วิธี immunoassay ให้ผลบวก งานวิจัยครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าสามารถใช้ชุดตรวจ immunoassay SureStepTM drug screen tests สำหรับตรวจเบื้องต้นหายากลุ่มเบนโซไดอะซีปีนในซีรัม และสามารถตรวจยืนยันชนิดและปริมาณอย่างสมบูรณ์โดยวิธี HPLC

Abstract

Benzodiazepines are one of the most widely prescribed drugs for the treatment of wide spectrum of clinical disorders. They are used as anticonvulsants, anxiolytics, hypnotics or muscle relaxants with different duration of action. In this paper, the determination of five frequently benzodiazepines and some of their metabolites : flunitrazepam, oxazepam, alprazolam, chlordiazepoxide, diazepam and desmethyldiazepam in serum using solid phase extraction (SPE) and high-performance liquid chromatographic (HPLC) method has been developed for used. Quantification was performed with gradient elution of a C₈ reversed- phase column with an alkaline water-acetonitrile-methanol eluent free of buffer salts, carbamazepine as an internal standard were detected by ultraviolet absorbance at 235 and 239 nm. The determination of flunitrazepam, oxazepam, alprazolam, chlordiazepoxide, desmethyldiazepam and diazepam were possible in the concentration range of 250-4,000 ng/mL. The mean of their recovery were 91, 91, 93, 84, 110 and 92 %, respectively. This allows rapid detection, a purity check, identification, and quantitation of the eluting peaks. Recovery and linearity data are good. The validated procedure has been applied routinely in forensic toxicological analyses.

High-performance liquid chromatography (HPLC) and immunoassay techniques applied to serum specimens were compared for the screening of benzodiazepines in postmortem forensic toxicology. The 81 serum specimens were tested by the one-step immunoassay *SureStep*TM drug screen tests, and in parallel, the serum specimens were screened for benzodiazepines and some of their metabolites by using solid phase extraction (SPE) and high-performance liquid chromatographic (HPLC) method. The sensitivity and specificity were 92% and 81%, respectively. An other difference between immunoassay and HPLC was ability of HPLC to detect lower concentration of benzodiazepines than immunoassay cut-off level. These study demonstrate that benzodiazepine immunoassay can used for screening in serum and to be completed with HPLC identification and quantitation.