

# VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ DIAZEPAMU NA MENISKEM MODIFIKOVANÉ STŘÍBRNÉ PEVNÉ AMALGÁMOVÉ ELEKTRODĚ

**Petr Samiec**

*Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO  
Laboratoř elektrochemie životního prostředí, Albertov 6, 128 43 Praha 2, e-mail:  
dfreezius@seznam.cz*

## **Abstrakt**

Byly vypracovány voltametrické metody pro stanovení diazepam (DZ). Ke stanovení této látky na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě (m-AgSAE) byly použity techniky diferenční pulzní voltametrie (DPV) a DC voltametrie (DCV). Byl sledován vliv pH prostředí směsi Brittonova-Robinsonova (BR) pufru a methanolu (9:1) a dále v 0,1 mol.l<sup>-1</sup> NaOH a methanolu (9:1) na intenzitu signálu DZ. Jako optimální prostředí pro stanovení DZ byla zvolena směs 0,1 mol.l<sup>-1</sup> NaOH a methanolu (9:1). Vyvinuté metody byly použity ke stanovení DZ ve vzorku léčiva Diazepam Slovakofarma 2 mg.

***Klíčová slova:*** diazepam; diferenční pulzní voltametrie; DC voltametrie; meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda

## **Úvod**

Diazepam (DZ) se průmyslově vyrábí jako léčivo. Prodává se pod různými obchodními názvy jako Apaurin, Seduxen, Stesolid, Diazepam Desitin [1]. V lékařství se DZ využívá pro své antikonvulzivní a anxiolytické účinky [2]. Léčiva s antikonvulzivním účinkem se podávají pacientům k zabránění vzniku křečí. U pacientů s depresemi se podávají anxiolytika, která snižují úzkost a strach [3]. Benzodiazepiny (BDZ) se podávají orálně nebo injekčně. Vážou se na proteiny v plazmě a snadno se rozpouštějí v tucích. Ihned po vstupu do těla se lehce distribuují do všech tkání [4]. BDZ jsou eliminovány prostřednictvím metabolismu jater [5]. DZ je pomocí demethylace přeměněn na nordiazepam (NDZ), který se následně hydroxyluje na oxazepam. Oxazepam je vyloučen z těla ven v moči [5,6]. Snadná elektrochemická redukovatelnost dvojné vazby v BDZ nám umožňuje použít elektroanalytické metody typu DPV a DC voltametrie [6]. V současnosti se pro stanovení elektrochemicky redukovatelných analytů používají pevné elektrody na bázi tuhých amalgamů. To zejména proto, že vysoká toxicita par rtuti vedla k omezení využívání u rtuťových elektrod. Mezi výhody použití pevných elektrod na bázi amalgamů patří jejich netoxicita, robustnost a snadná obsluha [7].

## **Materiál a metody**

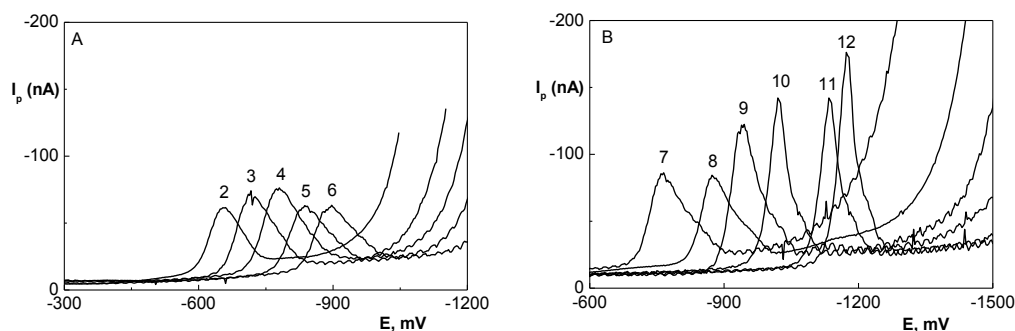
K voltametrickému měření byla použita sestava Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro verze 5.1 Pro, firma Polaro-Sensors, Praha, ČR. Tento software pracoval na operačním systému Windows XP. K voltametrickému měření byl použit tříelektrodový systém, tvořený referentní argentchloridovou elektrodou (3 mol.l<sup>-1</sup> KCl) typu RAE 113, pomocnou platinovou elektrodou - plíšek typu PPE (Monokrystal, Turnov) a jako pracovní elektroda byla použita m-AgSAE (č. 04-2010-05 o průměru 0,5 mm, vyrobena firmou Polaro-Sensors). Tento typ pracovní elektrody byl vyvinut v laboratoři ÚFCH JH AV. Pro získání opakovatelných signálů byly s elektrodou prováděny tyto tři základní předúpravné kroky: amalgamace, elektrochemická aktivace a regenerace.

Koncentrace zásobního roztoku DZ (Sigma-Aldrich, D0899) byla 1.10<sup>-3</sup> mol.l<sup>-1</sup>. Zásobní roztok DZ byl uskladněn v chladu a temnu. Kyselina fosforečná 85%, kyselina boritá, octovou kyselinu 98%, hydroxid sodný, methanol, chlorid draselný (vše v čistotě p.a.,

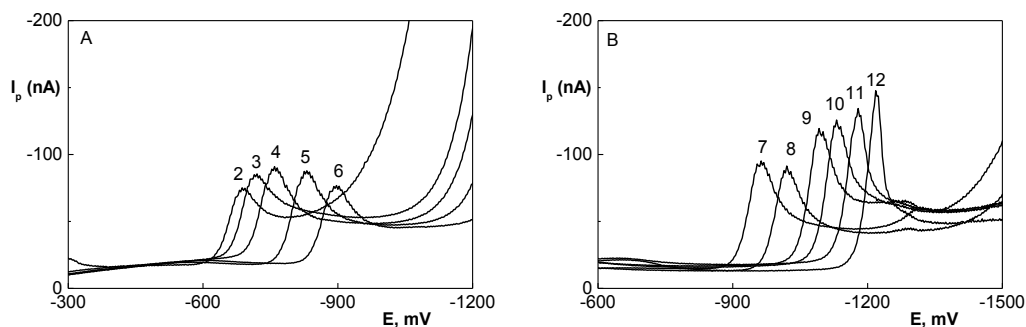
Lachema Brno). K přípravě deionizované vody byl použit systém (Milipore-Q plus systém, Millipore, USA). Brittonovy-Robinsonovy pufrů o daném pH byly připraveny smícháním zásadité složky  $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH a kyselé složky obsahující kyselinu fosforečnou, kyselinu boritou a octovou kyselinu, každá o koncentraci  $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ .

### Výsledky a diskuze

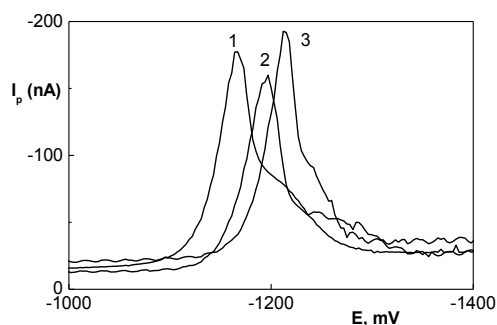
Ke zjištění závislosti intenzity signálu DZ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) na velikosti pH směsi BR pufru a methanolu (9:1) v rozmezí pH hodnot 2 – 12 byly použity techniky DC a DP voltametrie. Výsledky těchto měření jsou zobrazeny na Obr. 1 a Obr. 2. Jako optimální prostředí z rozmezí hodnot pH 2 – 12 bylo nejprve vybráno prostředí BR pufru o pH o hodnotě 12. Následně bylo porovnáno prostředí BR pufru a methanolu (9:1) o hodnotě pH 12 s roztoky NaOH (o koncentracích  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  a  $0,01 \text{ mol.l}^{-1}$ ) a methanolu (9:1), pro které jsou voltamogramy zobrazeny na Obr. 3. Jako nové optimální prostředí pro analýzu DZ bylo zvoleno prostředí v  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH a methanolu (9:1), kde signál DZ poskytoval nejvyšší intenzitu. Mez stanovitelnosti technikou DPV byla stanovena na  $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ . Vzorek léčiva Diazepam (Slovakofarma, Slovensko, obsah 2 mg DZ v tabletě) byl stanoven citlivější technikou (DPV). Koncentrace DZ v léčivu byla  $6,26 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ , což odpovídalo 89 % výtěžnosti. Na Obr. 4 jsou zobrazeny DP voltamogramy pro metodu standardního přidavku při analýze léčiva. Nižší výtěžnost mohla být způsobena adsorbovanými látkami na povrchu elektrody.



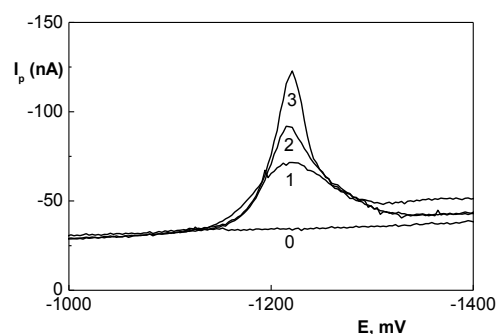
**Obrázek 1.** DP voltamogramy DZ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) měřeny technikou DPV na m-AgSAE v prostředí směsi BR pufru a methanolu (9:1). Čísla nad voltamogramy odpovídají danému pH roztoku.



**Obrázek 2.** DC voltamogramy DZ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) měřeny technikou DCV na m-AgSAE v prostředí směsi BR pufru a methanolu (9:1). Čísla nad voltamogramy odpovídají danému pH roztoku.



**Obrázek 3.** DP voltamogramy DZ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) měřeny technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru a methanolu (9:1) o pH 12 (1);  $0,01 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH a methanolu (9:1) (2);  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH a methanolu (9:1) (3).



**Obrázek 4.** DP voltamogramy DZ měřeny technikou DPV na m-AgSAE v prostředí  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH a methanolu (9:1). Vzorek ( $1 \cdot 10^{-3} \text{ l}$ ) byl stanoven pomocí metody standardního přidavku v  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH a methanolu (9:1), velikost přidavku  $0 \mu\text{l}$  (0); vzorek (1);  $100 \mu\text{l}$  (2);  $200 \mu\text{l}$  (3) DZ ( $c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ ). Celkový objem byl  $10 \cdot 10^{-3} \text{ l}$ .

## Závěr

Byly vypracovány metody stanovení DZ. Optimálním prostředím pro stanovení DZ byla směs  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH a methanolu (9:1). Koncentrace DZ byla stanovena pomocí metody standardního přídávku a techniky DPV. DPV je vhodná metoda ke stanovení DZ, protože se tato látka snadno redukuje na m-AgSAE, je rychlá a levná oproti separačním či optickým metodám.

## Poděkování

Chtěl bych především poděkovat školiteli RNDr. Janu Fischerovi, Ph.D. za profesionální vedení a cenné rady při vypracování této DP. Dále bych chtěl poděkovat RNDr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. za snahu o pomoc a připomínky k tomuto příspěvku.

## Literatura

- [1.] GERECKE, M. *Structure and properties of midazolam compared with other benzodiazepins*. Br. J.Clin. Pharmacol., 1991, vol. 38, p. 154–171.
- [2.] SZARA, S. I., LUDFORD, J. P. *Benzodiazepines: A review of research results*. 1981.
- [3.] PÉTURSSON, H. *The benzodiazepine withdrawal syndrome and its management*. J R Coll Gen Pract, 2006, vol. 89, p. 1455–1459. DOI: 10.1111/j.1360-0443.1994.tb03743.x.
- [4.] AYD, F. J. *Lexicon of Psychiatry, Neurology, and the Neurosciences*. 1995. ISBN 978 0683002980.
- [5.] SCHATZBERG, A. F., NEMEROFF, C. B. *Essentials of Clinical Psychopharmacology*. 2nd ed. 2006. ISBN 978-1585620173.
- [6.] SANTOS, M. M. C., FAMILA, V., GONCALVES, M. L. S. *Copper-Psychoactive Drug Complexes: A voltammetric Approach to Complexation by 1,4-Benzodiazepines*. Anal. Biochem., 2002, vol. 303, p. 111–119.
- [7.] FISCHER, J., VANOURKOVA, L., DANHEL, A., VYSKOCIL, V., CIZEK, K., BAREK, J., PECKOVA, K., YOSYPCHUK, B., NAVRATIL, T. *Voltammetric Determination of Nitrophenols at a Silver Solid Amalgam Electrode*. Int. J. Electrochem. Sci., 2007, p. 226–234.

## Abstract

Voltammetric methods for the determination of diazepam (DZ) were developed. Techniques differential pulse voltammetry (DPV) and DC voltammetry was used for the determination of both substances at meniscus modified silver solid amalgam electrode (m-AgSAE). The effect of pH on the intensity of signal DZ in media of mixture of Britton-Robinson buffer and methanol (9:1) and  $0.1 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH and methanol (9:1) was studied. The optimal medium for determination of DZ was mixture of  $0.1 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH and methanol (9:1). The developed methods were used for the determination of DZ in the drug sample Diazepam Slovakofarma 2 mg.