

4. Leucuța S. Biofarmacie și farmacocinetică, ed. Dacia, Cluj-Napoca, 2002, 304 p.
5. Lipinski, C. A. et al. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1997, 23, p. 3-25
6. Mircioiu Constantin, Miron Dalia, Flavian Rădulescu, Ghiciuc Cristina, Mircioiu Ion. Elemente de biofarmacie și farmacocinetică, Vol.1, Fundamente. Editura Universitară Carol Davila, București, 2008, 190 p.
7. Mircioiu Constantin, Miron Dalia, Flavian Rădulescu, Mircioiu Ion, Anuța Valentina. Elemente de biofarmacie și farmacocinetică, Vol.2, Evaluări comparative și corelări. Editura Universitară „Carol Davila”, București, 2008, 136 p.
8. Rogerson FM, Yao Y, Smith BJ, Fuller PJ: Differences in the determinants of eplerenone, spironolactone and aldosterone binding to the mineralocorticoid receptor. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2004 Oct;31(10),p.704-709.
9. Sica DA: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mineralocorticoid blocking agents and their effects on potassium homeostasis. *Heart Fail Rev.* 2005 Jan;10(1), p.23-29.
10. Solonari R., Studiul recepturii pulberilor extemporale pentru copii în farmaciile de producere din municipiul Chișinău. *Revista Farmaceutică a Moldovei*, 2008, nr. 1-2, p. 20-23.
11. Veber D. F., et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.*, 2002, vol.45, no. 12, p. 2615–2623

ANALIZA CHIMICO-TOXICOLOGICĂ A ALPRAZOLAMULUI

Tamara Cotelea¹, Tatiana Iungu¹, Lilia Stati¹, Efim Arama²

¹Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică USMF „N.Testemițanu”

²Catedra Biofizică, Informatică și Fiziologia omului „N.Testemițanu”

Summary

The study of the alprazolam in the chemico-toxicological analyses test

There was elaborated the TLC method of alprazolam identification by using of five develop systems, spectrophotometric method of quantitative determination for alprazolam in powder and tablets of 0.001 g were elaborated, as well as HPLC method was elaborated in order to determine the purity of substance. Using the analytical methods elaborated by us over the artificial biological test there was extracted alprazolam from biological liquids (blood plasma, urine). Having considered the elaborated methods as specific and reproductive they are recommended for the study of alprazolam in biological liquids.

Rezumat

A fost elaborată metoda cromatografiei pe strat subțire de identificare a alprazolamului, utilizând 2 sisteme de solvenți, metoda spectrofotometrică de dozare în pulbere și comprimate 0.001 g, precum și metoda HPLC de identificare în pulbere. Aplicând metodele analitice elaborate de noi la probele biologice „in vitro” s-a efectuat extracția alprazolamului din lichidele biologice. Dat fiind faptul, că metodele folosite sunt specifice și reproductive ele se recomandă pentru studierea alprazolamului în lichidele biologice.

Actualitatea

Tranchilizantele au devenit la noi în țară drogul numărul doi, după alcool probabil datorită faptului că facilitează depășirea situațiilor neplăcute și a stresului de la locul de muncă sau din mediul familial, ameliorează senzațiile de frică de neliniște și de frustrare și permit relaxare fizică și psihică. Pentru izolarea, identificarea și dozarea din materialul biologic, literatura ne propune numeroase metode pincipiile cărora au fost utilizate în această lucrare.

Obiectivele

De a efectua studiul în vederea determinării metodelor de izolare, extracție și de purificare, precum și metodele de analiză în UV, cromatografia pe strat subțire (CSS) și cromatografie de înaltă performanță (HPLC).

Mareriale și metode

În cadrul cercetărilor s-a folosit alprazolam în substanță pură. Am utilizat plasma sanguină și urină ca lichide biologice. În lucrare am aplicat metode fizico-chimice de analiză. Ca reagenți s-au utilizat: cloroformul, acidul oxalic 10%, alcool etilic 96%, acidul tricloracetic, care au fost cu grad de puritate „pur pentru analiză” și „chimic pur”.

Alprazolamul este un compus triazolobenzodiazepinic sub formă de pulbera albă sau alb cu nuanță gălbuie, cristalină, practic insolubil în apă, ușor solubil în cloroform, metilenclorid, puțin solubil în acetonă și etanol 96%. Prezintă polimorfism.

Metodă de identificare și apreciere a substanțelor medicamentoase bazată pe compararea cu spectrele substanțelor de referință sub aspectul analizei structurale este spectroscopia de absorbție în UV. Astfel pentru identificarea alprazolamului s-au înregistrat spectrele de absorbție în intervalul lungimilor de undă 220-350 nm.

Pentru aceasta, 0,025 g alprazolam se trece într-un balon cotat cu capacitatea 25 ml, se adaugă 10 ml acid clorhidric, etanol, hidroxid de sodiu sau cloroform și se agită până la dizolvarea completă și se aduce la cotă cu solventul corespunzător - soluția A. Se ia 1 ml soluția A și se trece în alt balon cotat cu volumul 100 ml și se aduce cu solventul corespunzător până la cotă, soluția B. Se citește absorbanta soluției B peste fiecare 2 nm la spectrofotomertru, în cuvă cu grosimea stratului de 1 cm în intervalul lungimii de undă 220-350 nm. Spectrul de absorbție a soluției de alprazolam (10 μg/ml) în acești solvenți are următoarele maxime de absorbție: astfel, spectrul de absorbție al soluției cloroformice de alprazolam are maxim de absorbție la lungimea de undă 232 nm și un minim – la lungimea de undă 229 nm, figurile 1,2.

Pentru lucrul de mai departe s-a determinat curba de calibrare, unde acest maxim a fost ales ca lungime de undă analitică pentru determinarea metodei de dozare a ketotifenului în substanță, comprimate și după extragere din lichidele biologice[1, 3, 6].

Preventiv s-a cercetat dependența absorbantei de concentrația alprazolamului. Pentru aceasta 0,01 g alprazolam pulbere (masă exactă) se plasează într-un balon cotat cu capacitatea de 50 ml, se dizolvă în cloroform și se completează până la cotă (soluția A 0,02 %). 10 ml soluție A se plasează în alt balon cotat cu capacitatea de 50 ml și se aduce cu cloroform până la cotă (soluția B 0,004 %). Concentrația soluției B este de 40 μg/ml. Din soluția B se pregătesc o serie de soluții cu concentrațiile corespunzătoare: 5; 10 ; 15 ; 20 ; 25 ; 30 μg/ml. Se citește absorbanta acestor soluții la lungimea de undă 232 nm, în cuva cu drumul optic de 10 mm. În calitate de soluție de referință se utilizează cloroformul. În baza acestor date s-a construit graficul absorbantei în funcție de concentrația alprazolamului în soluție de cloroform. Din curba de etalonare a alprazolamului reiese, că legea Bouguer Lambert-Beer se respectă în intervalul de concentrație 0,1- 30 μg/ml de alprazolam. În această bază s-a elaborat tehnica de lucru pentru dozarea spectrofotometrică în pulbere și comprimate. Eroarea relativă a metodei determinării cantitative în comprimate nu depășește ± 0.98 %

Pentru efectuarea izolării, la 4ml plasmă se adaugă 2ml soluție alcoolică 0,02% alprazolam, se lasă 24 ore, apoi se acidulează cu acid oxalic 10% până la un pH=2,5 (hîrtia indicator universală). Amestecul se lasă pentru 2 ore, agitîndu-se periodic, apoi se adaugă 3ml acid tricloracetic 30%, se agită și se centrifugheză timp de 10 minute(5000 rotații/min). Centrifugatul se separă, iar reziduul încă 2 ori se prelucrează cu acid oxalic (pH=2,5) și din nou se centrifugheză. Centrifugatele se unesc și se filtrează. Se verifică valoarea pH-ului, care trebuie sa fie egal cu 2,5. Centrifugatul se extrage cu cloroform de 3 ori cu cîte 10ml și extracțiile cloroformice se unesc.

În continuare în extractul cloroformic se determină conținutul de alprazolam prin metoda spectrofotometrică UV. Pentru aceasta, 4ml de extract cloroformic se plasează într-un balon

cotat cu capacitatea de 10ml, volumul se aduce cu cloroform la cotă și se citește absorbanta la spectrofotometru la lungimea de undă 233nm, în cuva cu drumul optic 10mm. În calitate de soluție de referință se utilizează cloroformul. Paralel se analizează proba cu soluție alprazolam-standart

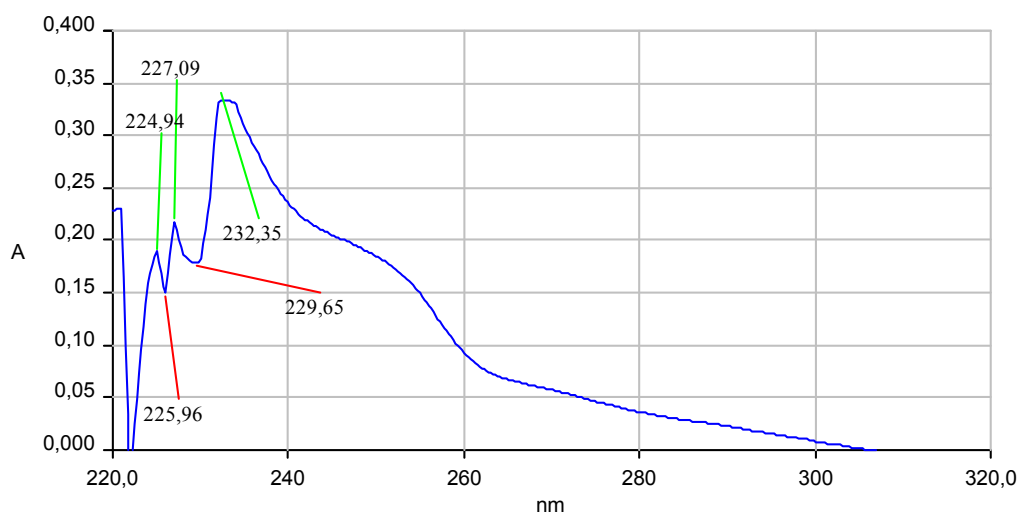


Fig1. Spectrul UV după extractia cu cloroform din plasma sanguină

Aceeași procedură a fost utilizată și la analiza alprazolamului din urină, spectrul căruia este reprezentat în fig. 2

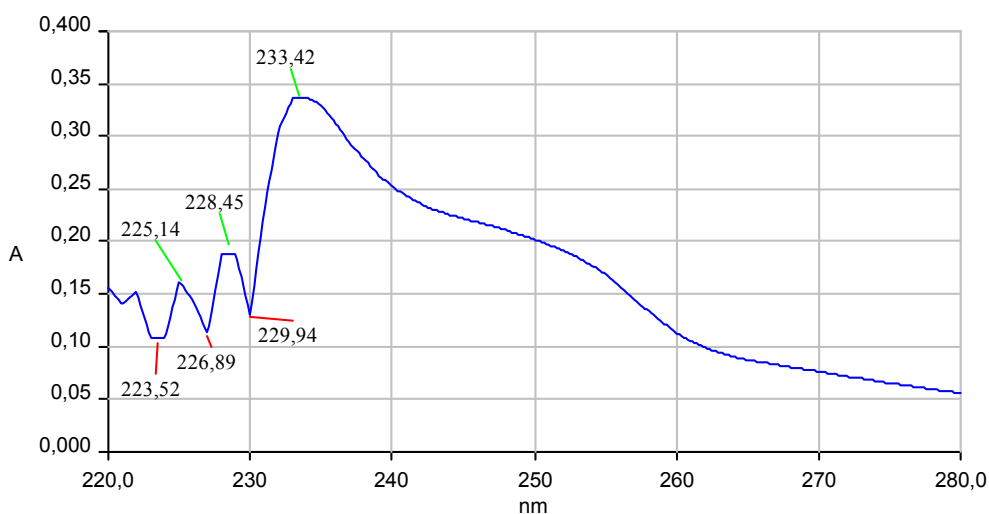


Fig.2.Spectrul UV după extractia cu cloroform din urină

În continuare ne-am decis să folosim posibilitatea de analiză prin metoda cromatografiei lichide de performanță înaltă (HPLC), folosind o coloana Lichrosorb C18 RP (4,6 x 250 mm), mărimea particulelor 5 μm; Am utilizat ca eluent amestecul faza mobilă amestec format din tampon fosfat pH 6,0±0,05, acetonitril și tetrahidrofuran (60:35:5); (la pH 4 - acid fosforic); Acești eluenți posedă înaltă transparență în regiunea UV și nu conțin impurități, care s-ar detecta în UV prin picuri nedorite. Prezența acidului în faza mobilă (pH 4) îmbunătățește condițiile de cromatografiere a acizilor carbonici. Condițiile de lucru: faza mobilă A :B: C trietilamină-acid fosforic-apă (0,15:0,25:530), rata curentului 0,6 ml/min, detecția s-a efectuat în UV la λ= 254 nm O altă metodă utilizată în studiu este cromatografia lichidă de înaltă performanță HPLC.

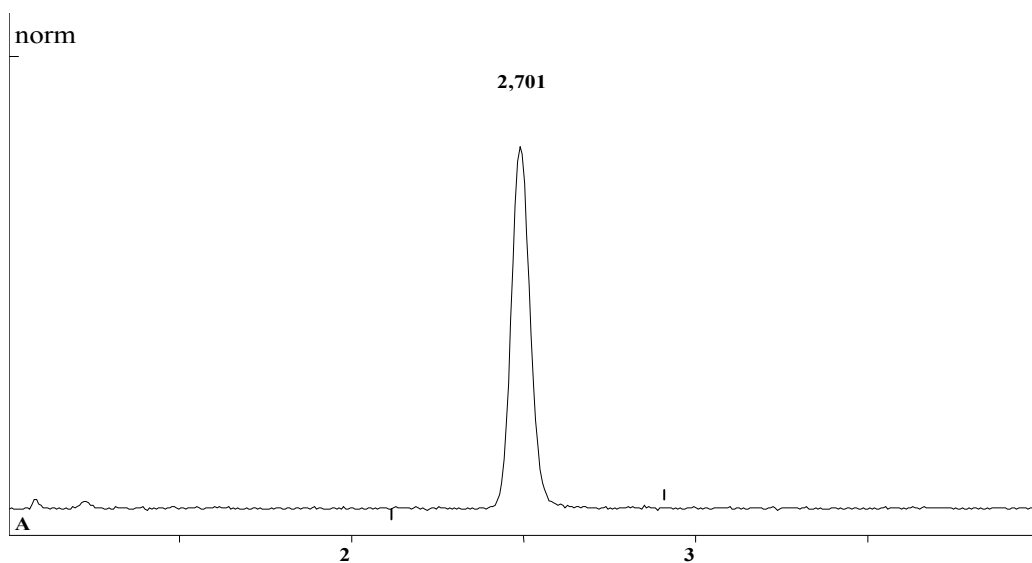


Fig.3.HPLC. Cromatograma alprazolamului

Concluzie

În această lucrare am relevat studiul asupra metabolismului alprazolamului precum și am enumerat cauzele apariției efectelor adverse la administrarea dozelor terapeutice de medicament. De asemeni, am determinat metoda de izolare și condițiile optime de extracție a substanței active din lichidele biologice, precum și dozarea, aplicând metoda de spectrofotometrică în UV și cromatografia de înaltă performanță. Pentru dozarea alprazolamului în produse farmaceutice și lichidele biologice s-a aplicat: spectrofotometria în regiunea UV. Pentru izolarea alprazolamului din plasmă sanguină am folosit metoda de izolare cu acid oxalic și acid tricloroacetic. Prin aplicarea acestei metode de analiză din plasmă s-au izolat 52,14 % alprazolam. Pentru izolarea alprazolamului din urină se propune aceeași metodă de izolare cu acid oxalic. Prin această metodă alprazolamul se extrage din urină în cantitate de 47,10 %.

Bibliografie

1. Baloescu C, Curea E. Controlul medicamentelor - București: Ed. Didactică și pedagogică, 1983. p.129 – 130.
2. Cotelea T. Teza de doctor ”Investigații chimico – toxicologice asupra cinarizinei și clonidinei”. Chișinău, 2002, .208p.
3. Bodoga B., Maria Virginia Coman . Cromatografie pe strat subțire – București: Ed.Tehnică, 1995 – 160p.
4. Бабилев Ф.В. Андроник И.Я. Полимризм лекарственных веществ Кишинев Штиинца 1981 – 239 с.
5. Аншелес О.М. Буракова Т.Н Bodoga B., Maria Virginia Coman. Cromatografie pe strat subțire – București: Ed.Tehnică, 1995 – 160p. Микрохимический анализ на основе кристаллооптически ЛГУ.Л 1948