

## STUDIUL CHIMICO-FARMACEUTIC AL METOPROLOLULUI

Lilia Conicov<sup>1</sup>, Tamara Cotelea<sup>1</sup>, Larisa Soloviova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Catedra Chimie farmaceutica și toxicologică USMF "N. Testemițanu"

<sup>2</sup> Centrul Științific în Domeniul Medicamentului

### Summary

#### The study of the metoprolol in chemico-pharmaceutical

There was elaborated the TLC method of metoprolol identification by using five develop systems. We performed specific identification reactions. Spectrophotometric method of quantitative determination for metoprolol in powder and tablets of 0.05 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 metoprolol from biological liquids (blood plasma, urine). Having considered the elaborated methods as specific and reproducible they are recommended for the study of metoprolol in biological liquids.

### Rezumat

Au fost aplicate reacții de identificare, cromatografia în strat subțire, utilizând două sisteme de solvenți. Am utilizat metoda spectrofotometrică pentru identificarea și dozarea metoprololului în pulbere și comprimate de 0,05 g. Spectrometria în IR s-a folosit cu scopul determinării structurii chimice ale preparatului, precum și metoda HPLC de identificare în pulbere. Am determinat condițiile optime de extracție a substanței în probe biologice "in vitro". Dat fiind faptul, că metodele folosite sunt specifice și reproductibile ele se recomandă pentru studierea metoprololului în lichide biologice.

### Actualitatea temei

În prezent bolile cardiovasculare dețin întâietatea în ceea ce privește frecvența mortalității. Ele reprezintă maladiile vârstei înaintate, dar în ultimii ani afectează populația din ce în ce mai tânără. Metoprololul ( $\pm$ )-1-(izopropilamina)-3-[para-(metoxietil)fenoxi]-2-propanol)tartrat se utilizează pe larg în medicină în tratamentul bolilor cardiovasculare. Este un  $\beta$ -blocant cardioselectiv ce scade influența simpatică asupra inimii, astfel reduce numărul și intensitatea crizelor anginale, reduce mortalitatea de infarct miocardic și previne aritmiile cardiace toate acestea duc la îmbunătățirea și prelungirea vieții bolnavilor cardiovasculari. În anumite condiții preparatul posedă efecte adverse și toxice. În acest context prezintă un interes deosebit studiile metoprololului în lichide biologice în cazul intoxicațiilor.

### Obiectivele lucrării

De a efectua studiul în vederea determinării metodelor chimice și fizico-chimice de analiză de identificare și dozare a metoprololului, care ar putea fi aplicate și în urma extragerii din lichidele biologice.

### Mareriale și metode de cercetare

În cadrul cercetărilor s-a folosit metoprolol în substanță pură și în comprimate. Am utilizat plasma sanguină și urină ca lichide biologice. Au fost aplicate metode chimice și fizico-chimice de analiză. În investigații experimentale, ca reagenți s-au utilizat: cloroformul, acidul sulfuric, alcool etilic 96%, acidul clorhidric, hidroxid de sodiu și hidroxid de amoniu, care au fost cu grad de puritate „pur pentru analiză” și „chimic pur”.

În vederea aplicării reacțiilor microcristaloscopice stă metoda chimică de identificare a metoprololului după forma cristalelor – produsele reacțiilor cu reactivii corespunzători. Forma cristalelor deseori depinde de condițiile procesului de cristalizare, de exemplu de concentrația soluției de cercet, prezența impurităților, pH-ul mediului, temperatura, timpul de cristalizare. Aplicarea microcristaloscopiei ne dă posibilitate să determinăm cu exactitate identitatea substanței și totodată specificitatea ei. Dat fiind faptul, că reacțiile microcristaloscopice sunt de importanță toxicologică, am determinat metoda de obținere a microcristalelor cu acid picric, reactivul Dragendorff, clorura de cadmiu, sulfat de hidrargiu și iodura de cupru. Caracterul

specific al metoprololului în microcristaloscopie s-a elucidat în următorul procedeu: pe lamela de sticlă se depune o picătură de soluție cloroformică de metoprolol de 0,01% , care se evaporă la sec, deasupra se picură reactivul. După uscare apar cristale caracteristice.

Aceste reacții se studiază mai întâi pe substanță pură, apoi se aplică în extrasul organic din materialul biologic[4,5,7].

Pentru identificarea metoprololului am aplicat metoda CSS folosind plăci de silicagel G. S-au utilizat două sisteme de solvenți: benzen- n-hexan-alcool etilic 96% (3:5:5); cloroform-metanol-hidroxid de amoniu 25% (80:15:2), pentru care s-a determinat valoarea Rf egală cu 0.46 și respectiv 0,56. Ca relevant am utilizat reactivul Dragendorff.

Metodica: 0,05 g de metoprolol se dizolvă în 100ml cloroform (soluția A). Din soluția A luăm 1 ml și dizolvăm în 10 ml cloroform (soluția B) . Pe linia de start a plăcii se aplică 2μl soluție B, placa se introduce în camera de cromatografiere și se cromatografiază ascendent în sistemul de solvenți corespunzători, când frontul de solvenți va parcurge 2/3 din lungimea totală a plăcii cromatografice, placa se scoate din vas, se usucă la aer și se pulverizează cu reactivul Dragendorff sau se prelucrează cu vapori de iod. Spoturile de metoprolol se colorează în galben-cafeniu. Se determină valorile Rf. Sensibilitatea reacției este de 10 μg/ml. Metoda poate fi aplicată la cercetarea metoprololului în extrasul organic din lichidele biologice.

Pentru determinarea identității s-a aplicat spectrometria în IR - este o metodă modernă ce se caracteriză printr-o informație mai multilaterală despre structura chimică a substanței medicamentoase. Ea ne permite identificarea omologilor aceleiași clase, care prin altă metodă nu se pot diferenția. Spectrul în IR al metoprololului s-a înregistrat cu ajutorul aparatului "SPECORD 75-IR", în intervalul 400-4000 cm<sup>-1</sup>, suspensie în ulei de vazelină (0,05 metoprolol și 5 picături ulei de vazelină). Vibrațiile intensive s-au înregistrat în regiunile 1297 cm<sup>-1</sup>- corespund grupei OH și C-O ; cele din 1545-1576 cm<sup>-1</sup>- corespund grupărilor C-H al inelului benzenic; iar din 1600 cm<sup>-1</sup> și 1639 cm<sup>-1</sup>- caracteriză prezența inelului benzenic (grupările carbon-carbonice asimetrice) și 690 cm<sup>-1</sup>- caracteristice pentru grupa NH.

În studiul nostru am aplicat reacții de identificare cu sărurile ionilor de potasiu, obținându-se un precipitat alb , cu clorura de fier s-a obținut un compus complex roșu. Am efectuat reacție de formare a azocolorantului- rezultatul este un compus complex portocaliu.

Metodica: mai întâi am efectuat hidroliza acidă a metoprololului apoi am adăugat azoreactivul (streptocidă cu nitrit de sodiu) și β-naftol în urma căreia se formează azocolorantul.

Metodă de identificare și apreciere a substanțelor medicamentoase bazată pe compararea cu spectrele substanțelor de referință sub aspectul analizei structurale este spectrofotometria de absorbție în UV. Astfel pentru identificarea metoprololului s-au înregistrat spectrele de absorbție în intervalul lungimilor de undă 222-276 nm.

Pentru aceasta 0,05 g de metoprolol se trece într-un balon cotat cu capacitatea 50ml, se adaugă 10 ml acid clorhidric, etanol, hidroxid de sodiu sau cloroform și se agită până la dizolvarea completă și se aduce la cotă (soluția A). Se ia 1 ml soluție A și se trece în alt balon cotat cu volum 100 ml și se aduce cu solvent corespunzător până la cotă (solvent B). Spectrul de absorbție al metoprololului în acești solvenți are următoarele maxime de absorbție: astfel, în soluția de alcool etilic are maximul la lungimea de undă 224 nm, al soluției cloroformice maximele se înregistrează la 276 nm, în hidroxid de sodiu- la lungimea de undă 225 nm, iar cel în acid clorhidric- la lungimea de undă 222 nm.

Pentru lucru 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 metoprololului în substanță, comprimate și după extragere din lichidele biologice [1,3,6].

Preventiv s-a cercetat dependența absorbției de concentrația metoprololului. Pentru aceasta 0,01 g metoprolol , substanță pură, se introduce într-un balon cotat cu capacitatea de 50 ml, se dizolvă în cloroform și se completează până la cotă (soluția A 0,02%). 10ml 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 absorbția

acestor soluții la lungimea de undă 276 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 absorbției în funcție de concentrația metoprololului în soluție de cloroform. Din curba de etalonre a metoprololului reiese, că legea Bouguer Lambert- Beer se respectă în intervalul de concentrație 0,1-30  $\mu\text{g/ml}$  de metoprolol. Pe 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  $\pm 0,3 \%$ .

În continuare am aplicat metoda cromatografiei lichide de performanță înaltă (HPLC), folosind coloana Lichrosorb 100P-8. Condițiile: faza mobilă A :B: C (acetonitril-acid fosforic(0,025 v/v)- sol tampon trietilamină (60:25:15), rata curentului 0,6 ml/min, detecția s-a efectuat în UV la  $\lambda = 229 \text{ nm}$ .

Notă: Prepararea sol tampon TEA: 9ml acid fosforic conc. și 10 ml trietilamină, apă până la 900ml, se aduce la pH 3,4 cu acid fosforic diluat și se completează cu apă până la 1 litru.

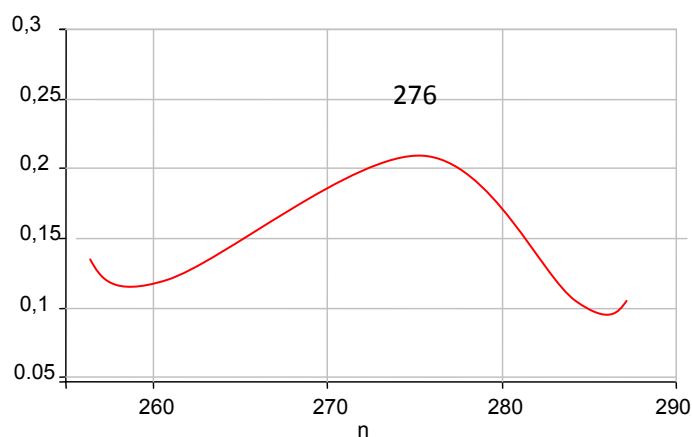


Fig.1. Spectrul de absorbție al soluției de metoprolol în cloroform.

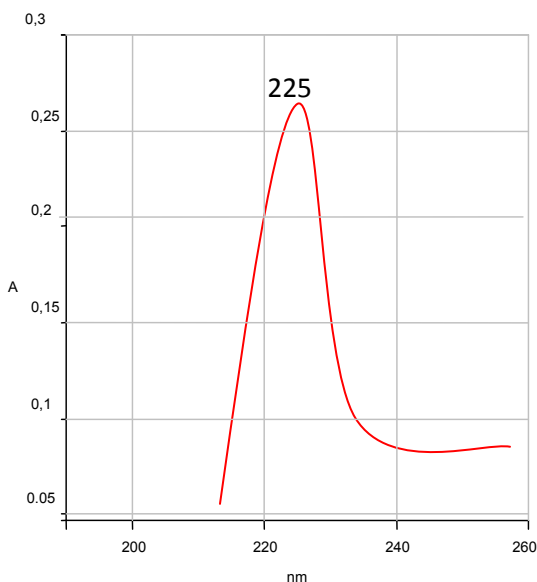


Fig.2. Spectrul de absorbție al soluției de metoprolol în hidroxid de sodiu 0,1mol/l

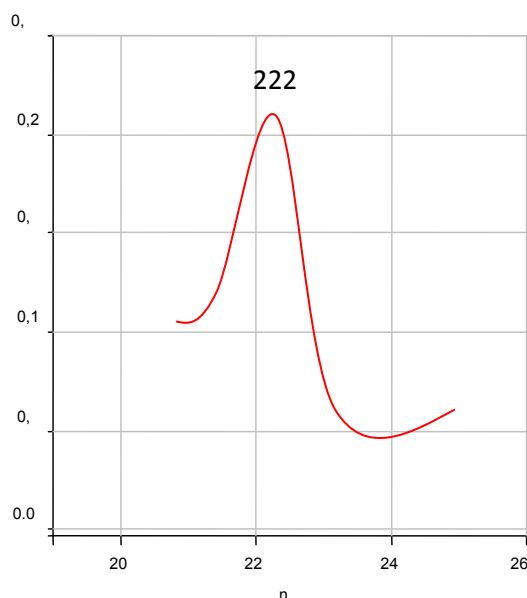


Fig.3. Spectrul de absorbție al soluției de metoprolol în acid clorhidric 0,1mol/l

În continuare am determinat metoda de izolare a metoprololului din lichidele biologice cu apă acidulată acid sulfuric și acid tricloracetic 30%. Substanța activă se extrage din mediul bazic la pH 10,0-11,0 ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ).

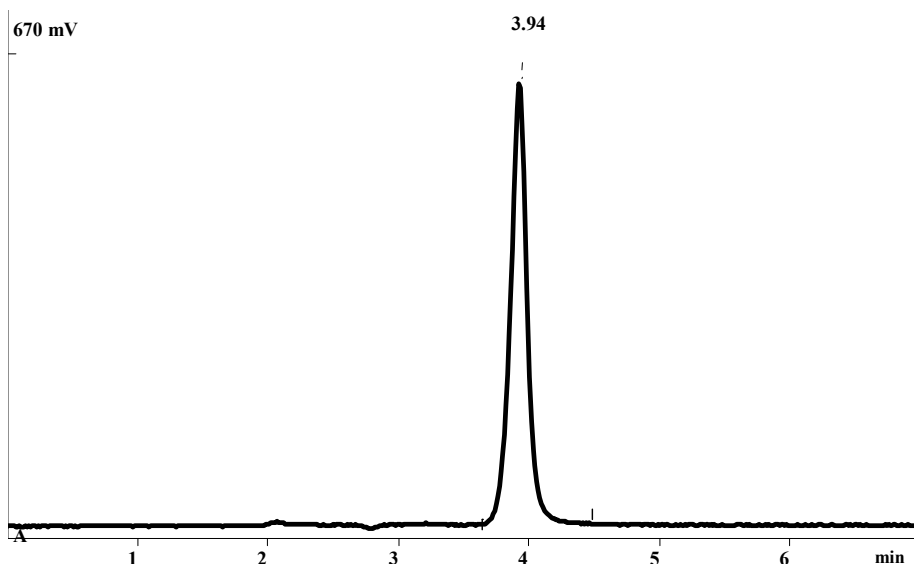


Fig.4. HPLC. Cromatograma metoprololului.

### Concluzii

Aplicând metoda spectrofotometrică s-a stabilit maximul de absorbție al metoprololului în diferiți solvenți: astfel, spectrul de absorbție al metoprololului în soluție de alcool etilic are maximul de absorbție – la lungimea de undă 224 nm; similar spectrul de absorbție al soluției cloriformice de metoprolol la 276 nm și spectrul de absorbție al soluției de metoprolol în acid clorhidric 222 nm, iar în hidroxid de sodiu - la lungimea de unda 225 nm. S-au stabilit condițiile de indentificare prin metoda cromatografiei pe strat subțire și HPLC. S-au efectuat reacții microcristaloscopice caracteristice pentru metoprolol și spectrometria în IR. S-a determinat metoda de izolare și extragere a metoprololului la pH 10,0 – 11,0.

### Bibliografie

1. Baloescu C, Curea E. Controlul medicamentelor - București: Ed. Didactică și pedagogică, 1983. p.129 – 130.
2. Bodoga B., Maria Virginia Coman . Cromatografie pe strat subțire – București: Ed.Tehnică, 1995 – 160p.
3. Cotelea T. Teza de doctor ”Investigații chimico – toxicologice asupra cinarizinei și clonidinei”. Chișinău, 2002, .208p.
4. Аншелес О.М. Буракова Т.Н. Микрохимический анализ на основе кристаллооптически ЛГУ.Л 1948
5. Бабилев Ф.В. Андроник И.Я. Полимризм лекарственных веществ Кишинев Штиинца 1981 – 239 с.
6. ПриняжкоР.М. Каклинюк Т.Г. Методы УФ-спектроскопии в фармацевтическом анализе Киеву. Здоровье. 1976 – 126 с.
7. Позднякова В.Т. Микрокристаллоскопический анализ фармацевтических препаратов и ядов. Москва, 1968. – 226 с.