

INVESTIGAȚII CHIMICO-TOXICOLOGICE ASUPRA METOCLOPRAMIDEI

Mariana Hangan,¹ Tamara Cotelea,¹ Larisa Soloviov²

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

²Centrul Științific în Domeniul Medicamentului

Summary

Chemico-toxicological investigations on methoclopramide

We elaborated the TLC method of methoclopramide identification by using two developed systems, spectrophotometric method of quantitative determination for methoclopramide in powder and tablets of 0.01g. Using the analytical methods elaborated by us over the artificial test there was extracted methoclopramide from biological liquids (plasma, urine). The output of methoclopramide from plasma was 50.44%; from urine- 46.80%

Having considered the elaborated methods as specific and reproductive they are recommended for the study of methoclopramide in biological liquids.

Rezumat

A fost elaborată metoda cromatografiei pe strat subțire de identificare a metoclopramidei, utilizând 2 sisteme de solvenți, metoda spectrofotometrică de dozare în pulbere și comprimate 0,01g. Aplicând metodele analitice elaborate de noi la probele biologice în „vitro” s-a efectuat extracția metoclopramidei din lichidele biologice. Randamentul metoclopramidei din plasma sanguină este de 50,44%, din urină-46,80%. Dat fiind faptul, că metodele folosite sunt specifice și reproductive ele se recomandă pentru studierea metoclopramidei în lichidele biologice.

Actualitatea temei

Clorhidratul de metoclopramidă [clorhidratul de 4-amino-5cloro-N-[(2-dietilamino) etil]-2 meloxibenzamidă] se utilizează pe larg în medicină în caz de vomă și greață de diferită etiologie (postoperator, în cadrul bolii de iradiție, provocate de medicamente), sughiț, esofagită de reflux, stază gastrică, dispepsie, flatulență, migrene; pentru ușurarea tubajului duodenal și pentru examenul radiologic gastrointestinal. Este un antivomitiv prin acțiunea sa centrală, crește tonusul sfincterului inferior al esofagului favorizează golirea stomacului prin stimularea peristaltismului gastric și relaxarea sfincterului piloric; i se atribuie un efect de normalizare a funcțiilor motorii și secretorii ale tubului digestiv, prin mecanism central.

Datorită acestor proprietăți farmacologice, metoclopramida este utilizată pe larg în medicină. În anumite condiții, preparatul posedă acțiuni adverse și toxice. Sunt cunoscute cazuri de intoxicație a populației cu aceste preparate medicamentoase. Din aceste considerente prezintă și interesul deosebit asupra studiului metoclopramidei în lichidele biologice.

Obiectivele lucrării

De a efectua studiul în vederea determinării metodelor de izolare, extragere, identificare și dozare a acestui produs medicamentos extrase din lichidul biologic.

Materiale și metode de cercetare

În cadrul cercetărilor s-a folosit metoclopramida activă pură, comprimate 10 mg. A fost folosită plasma sanguină și urina ca lichide biologice. Au fost aplicate metode chimice de analiză rezultatele au fost prelucrate după criteriul student. Ca reagenți s-au utilizat în investigațiile experimentale: soluție nitrit de sodiu, β nafol, acid nitric, hidroxidul de sodiu, cloroformul, reactivul Dragendorff etc. care au fost cu gradul de puritate “pur pentru analiză” și “chimic pur”.

Metoda chimică de identificare a metoclopramidei se apreciază prin reactivii de precipitare: reactivul Dragendorff, ce formează un precipitat brun, iar cu reactivul Leibermann-precipitat galben-oranj; și de colorare: cu reactivul Mandelin-colorație cafenie; reacția de formare a azocolorantului-precipitat roșu caramiziu.

Cromatografia pe strat subțire se distinge prin avantaje remarcabile în ceea ce privește raporturile numărul de analize / masă și volumul aparatului folosit, numărul de analize / timp de răspuns sau numărul de analize /cost de amortizare a investigațiilor [2, 3, 6, 8]. Separarea substanțelor din proba analizată prin metoda CSS, se realizează prin reacția diferită a

componentelor acesteia, în urma unor procese fizico-chimice, care se desfășoară la suprafața fazei staționare (solide), prin trecerea continuă a unei faze mobile (lichide), care poartă compușii respectivi. Fiecare component diferă, în comportarea sa față de granulele sorbentului fazei staționare și astfel, este reținut mai mult sau mai puțin la suprafața acestora, separându-se de ceilalți componenți, prezenți în amestecul inițial [1].

În prezenta lucrare am folosit metoda de identificare a metoclopramidei aplicând metoda cromatografiei pe strat subțire pe plăci standarde de silicagel G [5, 6, 7]. În rezultatul cercetărilor preventive, pentru identificare se propun următoarele sisteme de solvenți: metanol - amoniac 25% (100 :1), cloroform - metanol (90:10) pentru care s-a determinat valoarea R_f egală cu 0.47 și 0,70. În calitate de relevant s-a utilizat reactivul Dragendorff, vapori de iod și reactivii pentru formarea azocolorantului.

Prin urmare 0.1 g metoclopramidă se dizolvă în 100 ml, se adaugă cloroform (soluția A). Se ia 0,1 ml soluție A în 100 ml cloroform (soluția B). Pe linia de start a plăcii se aplică cu capilarul de sticlă 2 μ l soluție B, placa se introduce în vasul cromatografic și se cromatografiază ascendent în sistema de solvenți copresunzatori. Când frontul de solvenți parcurge 2/3 din lungimea totală a plăcii cromatografice, ultima se scoate din vas, se usucă la aer și se prelucrează cu reactivul Dragendorff sau cu vapori de iod, spoturile de metoclopramidă se colorează în galben – cafeniu. Alte 2 cromatograme, în sistemele respective de solvenți, se prelucrează cu acid clorhidric, nitrit de sodiu și soluție β naftol. Spoturile de metoclopramidă se colorează în roz. Se determină valorile R_f . Sensibilitatea este de 10 μ g/ml.

Metodă de identificare și apreciere a substanțelor medicamentoase bazată pe compararea spectrelor substanțelor de referință sub aspectul analizei structurale este spectrofotometria de absorbție în UV. Pentru identificarea metoclopramidei s-au înregistrat spectrele de absorbție în soluție de acid clorhidric 0,1 mol/l, alcool etilic 96% și cloroform la intervalul lungimilor de undă 220-380 nm. pentru aceasta 0,1g metoclopramidă se trece într-un balon cotat cu capacitatea 100 ml, se adaugă 60 ml acid clorhidric, alcool sau cloroform până la dizolvarea completă și se aduce la cotă cu solventul corespunzător, (soluția A). Se ia 1ml soluție A și se trece în alt balon cotat cu volumul 100 ml se aduce cu solvent corespunzător până la cotă, (soluția B). Se spectrofotometrează în cuvă cu grosimea stratului de 1 cm în intervalul lungimii de undă 220-380nm.

Spectru de absorbție a soluției B cu concentrația 0.001 % este prezentat în figura 1.

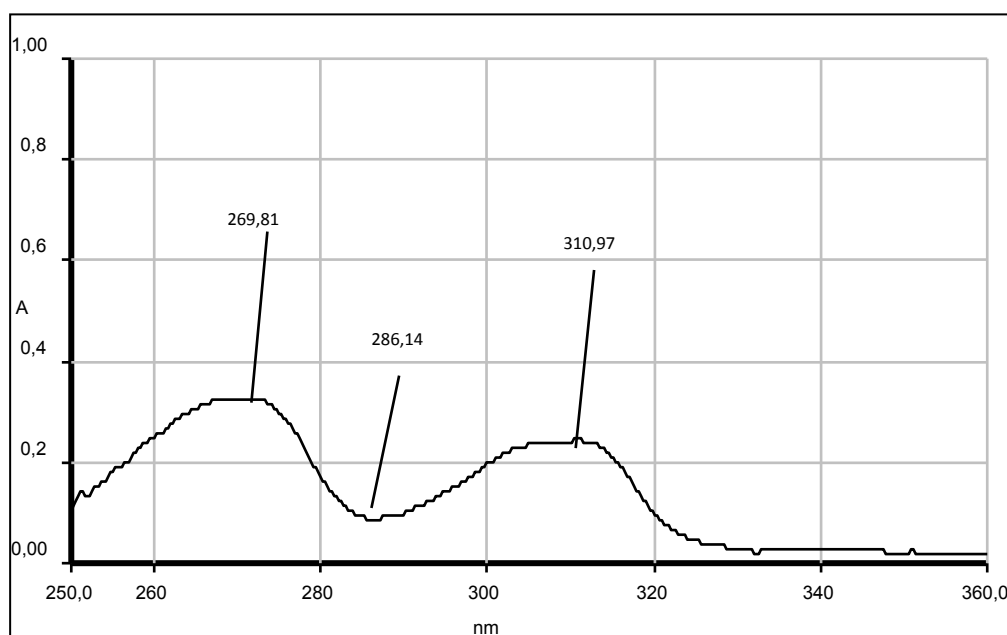


Fig.1 Spectrul de absorbție al soluției de metoclopramidă în cloroform

Pentru lucru de mai departe s-a determinat curba de calibrare unde ca lungime de undă analitică s-a luat $\lambda=270$ nm. Din curba de etalonare a metoclopramidei reiese, că legea Bouguer Lambert-Beer se respectă în intervalul de concentrație 2-30 $\mu\text{g/ml}$ metoclopramidă. În această bază s-a elaborat tehnica de lucru pentru dozarea spectrofotometrică în pulbere și comprimate. Pentru identificare metoclopramidei în substanță am aplicat metoda spectroscopiei în IR după care se poate deduce detalii de structură a preparatului. Din spectrul IR a metoclopramidei se disting următoarele benzi de absorbție la lungimile de undă: 1590, 1614, 1530, 1496, 1254, 1311 cm^{-1} .

Cromatografia de lichide de înaltă performanță în prezent este cea mai populară metodă de analiză instrumentală în laboratoare de analiză și control în domeniul farmaceutic. Identificarea medicamentelor se face după timpul de retenție a fiecărui component. Dozarea se efectuează după aria picului, care este proporțională cu cantitatea de medicament în probă [3, 4]. În condițiile: coloana C18 LiChrospher 100 RP-18e (125x 4, 50mm) mărimea particulelor 5 μm ; rata curentului 0,6 ml/min t° 25°C; lungimea de undă 295 nm pentru identificare metoclopramidei am obținut un pic cu timpul de retenție 2,6 min (fig2).

Izolarea, extragerea și dozarea metoclopramidei din lichidele biologice (în vitro)

S-au studiat metode de izolare cu apa alcalinizată cu soluție NaOH 10 %. La 4 ml plasmă se adaugă 2 ml soluție metoclopramidă 0,02 %, se lasă pe 24 ore, apoi se acidulează cu soluție de acid sulfuric 10 % până la pH 2,0 - 2,5 (hârtia indicator universală). Amestecul se lasă pe 2 ore, agitându-se periodic, apoi se adaugă 3 ml soluție acid tricloracetic 30 %, se agită și se centrifughează timp de 10 minute (5000 rot/min). Centrifugatului se separă, iar reziduul încă de 2 ori se prelucrează cu acid sulfuric 0,02 mol/l sub controlul pH 2,0 - 2,5 și din nou se centrifughează. Centrifugatele se unesc și se filtrează. Se verifică valoarea pH-ului, care trebuie să fie egală cu 2,0. soluția apoi se alcalinizează cu soluție NaOH 10% până la pH 9,0-10,0 (hârtia indicator universală). Se extrage cu cloroform de 3 ori câte 5 ml, extracțiile cloroformice se unesc.

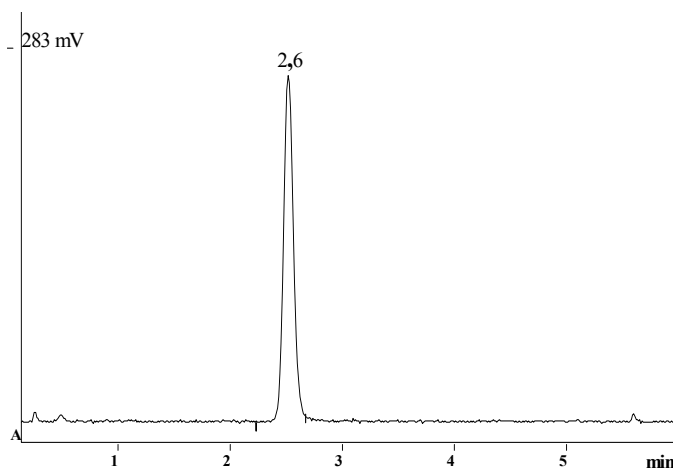


Fig.2 HPLC. Cromatograma metoclopramidei

În extractul cloroformic se determină conținutul de metoclopramidă prin metoda spectrofotometriei UV. Pentru aceasta, 4 ml extract cloroformic se plasează într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml, volumul se aduce cu cloroform la cotă și se citește absorbanta la spectrofotometru, la lungimea de undă 272 nm, în cuva cu drumul optic de 10 mm. (fig.4) În calitate de soluție de referință se utilizează cloroformul.

Paralel, se analizează proba cu soluție metoclopramidă standard.

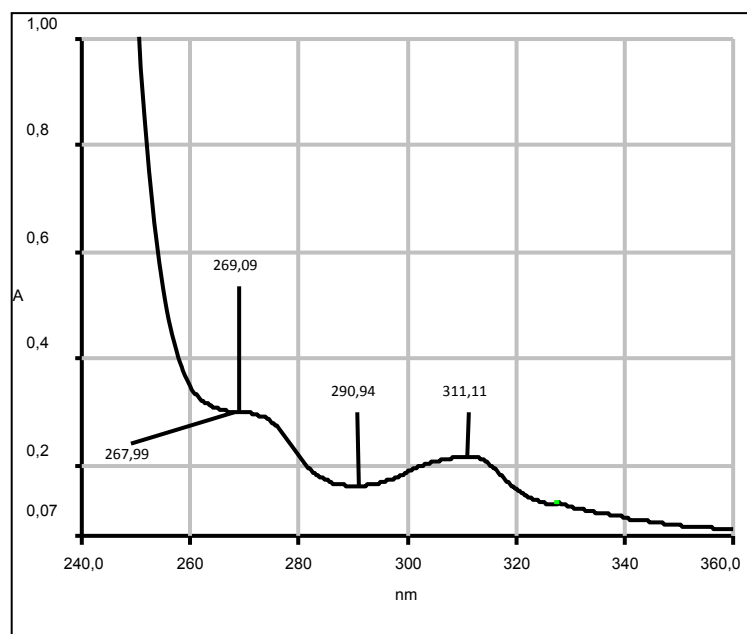


Fig.4 Spectrul de absorbție al soluției de metoclopramidă extrasă cu cloroform din plasma sanguină

Rezultatele obținute ne demonstrează că din plasmă cloroformul extrage 50,44%, iar din urină 46,80% metoclopramidă.

Concluzii

Aplicând metoda spectrofotometrică s-a stabilit maximul de absorbție al metoclopramidei la lungimile de undă 270 și 311 nm. S-au stabilit condițiile de identificare prin metoda cromatografiei pe strat subțire, spectroscopiei în IR și HPLC. S-a determinat metoda de izolare și extragere a metoclopramidei din lichidele biologice.

Bibliografie

1. Baloescu C., Curea E. Controlul medicamentelor- București: Ed. Didactică și pedagogică; 1983, p.129–130.
2. Bogoda B., Maria Virginia Coman. Cromatografia pe strat subțire- București: Ed. Tehnică, 1995-160p.
3. Daniela Lucia Muntean; Marius Bojiță; Controlul medicamentelor. (metodele spectrale, cromatografice și electrografice de analiză). Ed. Med. Univer. "Iuliu Hatiganu" Cluj-Napoca 2003–303p.
4. Бауэр Г., Энгельгард Х., Хеншен А. и др. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии- Москва: Мир, 1988. – 688 с.
5. Булатов М.Н. Калинин И.П. Практическое руководство по фотоколориметрическим методам анализа – Л. Химия, 1976 – 376с.
6. Шварц В. Тонкослойная хроматография - Москва: Медицина, 1976-276с.
7. Шемякин Ф.М., Применение хроматографии в фармации //Аптечное дело. – 1963-Nr3-с38.
8. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях – Москва: Мир1963-309с