

APLICAREA METODELOR FIZICO-CHIMICE ÎN STUDIUL CHIMICO-FARMACEUTIC AL COMPRIMATELOR DE SOMNOL

Tamara Cotelea¹, Serghei Ermolaev¹, Efim Arama², Oleg Bolotin³, Iurii Tihon¹

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

² Catedra Biofizică, informatică și Fiziologia omului „N.Testemișanu”

³Institutul de Chimie al AȘ RM

Summary

Physico-chemical methods applied in chemico – pharmaceutical study of Somnol tablets

The chromatography method on a thin layer was worked out to identify the zopiclone (an active principle of Somnol tablets) by utilizing four systems of solvents, the spectroscopy IR, thermic effects have been registered applying the thermogravimetric method, the spectrophotometric method of dosing in powders and tablets of 7,5mg as well as the HPLC method to identify in powder. Due to the fact that, these utilized methods are specific and reproductive , they are recommended for the study of zopiclone in biological fluids.

Rezumat

A fost elaborată metoda cromatografiei pe strat subțire de identificare a zopiclonei (principiul activ din comprimate de Somnol) utilizând 4 sisteme de solvenți, metoda spectroscopiei IR, au fost înregistrate efectele termice aplicând metoda termogravimetrică, metoda spectrofotometrică de dozare în pulbere și comprimate 7,5 mg, precum și metoda HPLC de identificare în pulbere. Dat fiind faptul, că metodele folosite sunt specifice și reproductive ele se recomandă pentru studierea zopiclonei în lichidele biologice.

Actualitatea temei

Zopiclona se utilizează pe larg în medicină ca somnifer, anxiolitic, anticonvulsiv, migrelaxant. Zopiclona posedă acțiune nemijlocită asupra regiunilor de legătură a receptorilor α_1 , α_2 , α_3 și α_5 a acidului gama aminobutiric (AGAB). La fel contribuie la creșterea permeabilității clorului în celulă și provoacă hiperpolarizarea membranelor și totodată frânarea puternică a neuronilor. Spre deosebire de benzodiazepine nu acționează la durata somnului pentru restabilirea funcției psihice, memoriei, dar prelungește faza latentă a somnului importantă, pentru restabilirea fizică a organismului.

În prezent comprimatele de Somnol cu conținut de zopiclonă se administrează în tratamentul insomniei de situație și cronică la maturi inclusiv dificultăți la adormire și trezire preventivă. În procesul terapiei cu zopiclonă se micșorează perioada adormirii și crește durata somnului și eficacitatea.

Obiectivele lucrării

Efectuarea studiului în vederea determinării metodelor fizico-chimice de analiză, de identificare și dozare a acestei substanțe, care ar putea fi aplicate și după extragerea din lichidele biologice.

Materiale și metode de cercetare

În cadrul cercetărilor s-a folosit zopiclon substanța pură (cu grad de puritate „pur pentru analiza” și „chimic pur”), comprimate somnol 7,5 mg AO Gridex (Letonia). În calitate de reagenți s-au folosit cloroform, acid clorhidric, alcool etilic, acetonitril, alcool metilic, hidroxid de sodiu.

Pentru determinarea identității am aplicat metoda cromatografiei pe strat subțire (CSS), folosind plăci cromatografice cu conținut de silicagel G, în cadrul cărui s-au utilizat 4 sisteme de solvenți: cloroform – dioxan – acetonă – soluție amoniac 25 % (47,5 : 45 : 5 : 2,5); toluen – acetonă – etanol - soluție amoniac 25 % (45 : 45 : 7,5 : 2,5); cloroform – metanol (90 : 10);

cloroform – acetona (80 : 20), pentru care s-a determinat valoarea R_f egală cu 0,80; 0,49; 0,55; 0,60. respectiv.

Spoturile de zopiclonă pe placa cromatografică fluorescează în razele UV în culoare verzuie; cu reactivul Nessler – culoare galbenă, cu Dragendorff și acid sulfuric – roșu-cafeniu. Pentru aceasta 0,0016 g substanță pură (m.e.) se trece într-un balon cotat cu volumul de 25 ml, se dizolvă în acid clorhidric 0,1 M și se aduce la cotă cu același solvent (sol.A). 1 ml sol. A se trece într-un balon cotat cu volumul 50 ml și se aduce la cotă cu același solvent (sol. B). 2 μ l soluție B se aplică pe linia de start a plăcii, placa se introduce în camera de cromatografiere, se cromatografiază ascendent în sistemul de solvenți corespunzător. Când frontul de solvenți va parcurge 2/3 din lungimea totală a plăcii cromatografice ultima se scoate din vas, se usucă la aer și se pulverizează cu reactivele respective. Sensibilitatea reactivilor ne dă posibilitate să aplicăm această metodă pentru cercetarea zopiclonei în extrasul organic din lichidul biologic.

În aspectul analizei, structurii moleculare a substanțelor medicamentoase, identificarea și controlul purității lor este metoda spectrofotometriei de absorbție în UV. Astfel pentru identificarea și aprecierea zopiclonei s-au înregistrat spectrele de absorbție în intervalul lungimilor de undă 220-350 nm în cuvă cu drumul optic 10 mm.

În extractul cloroformic se compară spectrele de absorbție a soluției de analizat și soluției standard. Spectrele au fost citite la spectrofotometru Perkin Elmer Lambda 400 în Soluția standard are maxim de absorbție la lungimea de undă 308,93 nm. Soluția de cercetat – la 308,79 nm.

Pentru acesta 0,015 g (m.ex.) zopiclonă se trece în balon cotat, cu volumul 100 ml se dizolvă în solventul respectiv (acid clorhidric, cloroform, metanol, hidroxid de sodiu 0,1 M) se agită până la dizolvarea completă pe baia cu ultrasunet și se aduce la cotă cu solventul corespunzător – soluția A. 10 ml sol.A se plasează în alt balon cotat cu capacitatea de 100 ml și se aduce la cotă cu solventul corespunzător (soluția B). Se citește absorbanta soluției de analizat la spectrofotometru Perkin Elmer Lambda 400 în cuvă cu drumul optic 10 mm, în intervalul lungimii de undă 220-350 nm .

Spectrele de absorbție a soluției zopiclon (15 μ g/ml) în acești solvenți are următoarele maxime de absorbție: în acid clorhidric 0,1 M la lungimea de undă 303 nm, în cloroform – 305,5 nm, în metanol 304,0 nm, în hidroxid de sodiu 0,1 M – 237 și 277,5 nm (fig.1,2,3,4).

Preventiv s-a cercetat dependența absorbantei de concentrația zopiclonei. Pentru aceasta 0,01 g zopiclonă pulbere (masa exactă) se plasează într-un balon cotat cu capacitatea de 50 ml se dizolvă în cloroform și se completează până la cotă (soluția A) 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 %). Din soluția B se pregătesc o serie de soluții cu concentrațiile corespunzătoare 1,5,10,15,20,25,30 μ g/ml. Se citește absorbanta acestor soluții la lungimea de undă 305 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 zopiclonei în soluție de cloroform Din curba de etalonare a zopiclonei reiese că legea Bouguer-Lambert-Beer se respectă în intervalul de concentrație 0,1-30 μ g/ml. În această fază s-a elaborat tehnica de lucru pentru dozarea spectrofotometrică în pulbere și comprimate. Eroarea relativă $\pm 1,48$ %.

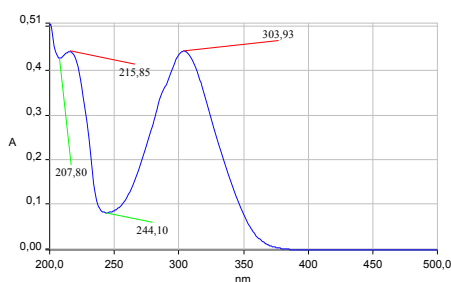


Fig.1 Spectrul de absorbție al zopiclonei în acid clorhidric 0,1M

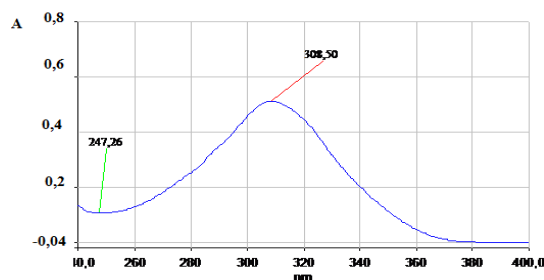


Fig.2 Spectrul de absorbție al zopiclonei în cloroform

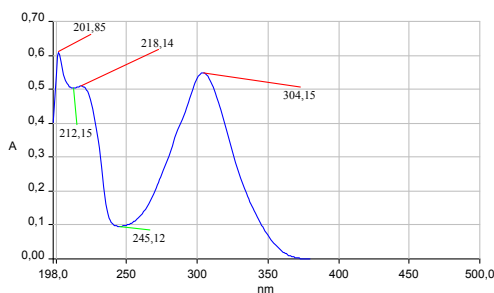


Fig.3 Spectrul de absorbție al zopiclonei în metanol

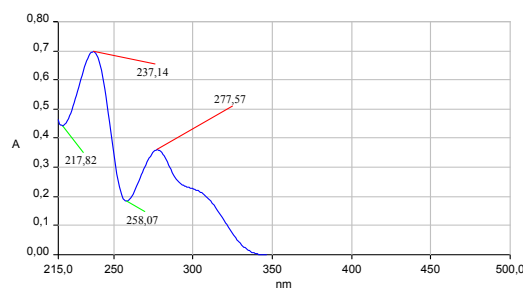


Fig.4 Spectrul de absorbție al zopiclonei în hidroxid de sodiu 0,1M

A fost efectuată identificarea zopiclonei prin metoda spectroscopiei IR în regiunea 400 – 4000cm. Spectrul IR al zopiclonei a fost descifrat în baza datelor din literatură. Spectrele principale s-au evidențiat la următoarele lungimi de undă: 1372, 1225-1075, 1463, 1600-1500, 1150-1180, 810, 720 și 701cm⁻¹.

În cadrul cercetărilor pentru o investigație mai profundă a fost aplicată metoda termogravimetrică de analiză, metoda cercetărilor proceselor chimice și fizico – chimice bazată pe înregistrarea efectelor termice însoțite de transformările compușilor în condițiile de programare a temperaturii. Analiza termică este un instrument superior în determinarea componenței chimice a obiectelor de analizat, dar și studierea proceselor chimice, fizice și fizico-chimice în vederea stabilirii unor particularități ale substanțelor medicamentoase cu repercusiuni directe asupra efectelor lor biologice. Pentru cercetarea comportării termice a zopiclonei am folosit derivatograful QD-102 (F. Paulik, V. Erdei) firma MOM (Ungaria). S-au înregistrat curbele de temperatură (T), analiza termică diferențială (ATD), termogravimetrică (TG) și termogravimetrică diferențială.(TGD)

Condițiile de lucru: masa probei – 20 mg. viteza temperaturii 10°C/min, sensibilitatea ATD – 1/5, TGD – 1/10. S-au utilizat locașe pentru probe din platină. În calitate de etalon s-au utilizat oxidul de aluminiu. Rezultatele derivatogramei obținute relevă faptul, că zopiclona este o substanță relativ stabilă termic. Pe curba ATD sunt înregistrate 2 efecte exotermice: termoeffectul 1 în intervalul de temperatură 105 – 150°C cu maximul la 145°C și termoeffectul 2 în intervalul 235 – 285°C, cu maxim la 165°C este condiționat de pierderea în masă a substanței, (curba TG), descompunerea, trecerea în alte forme polimorfice.

Conform structurii chimice zopiclona este un compus ionic. Asemănările de structură și proprietățile chimice ale zopiclonei cu alcaloizii ne decid să aplicăm metoda cromatografiei lichide de performanță înaltă (HPLC) folosind coloana. Zorbax eclipse XDB – C 18, mărimea particulelor 150 mm x 4,6 mm, rata curentului 1,5 ml/min, t° 30°C. Concentrația soluției de analizat 12μg/ml timpul de retenție 2,97 min., faza mobilă soluția A (5g laurilsulfat sodic, 1g dihidrofosfat sodic apă până la 1l. Se aduce la pH 3,4 cu acid fosforic 10%. Amestecul se filtrează cu ajutorul aparatului Millipore XF 5423050) și acetonitril în raport 52:48. cromatograma zopiclonei în concentrație 12μg/ml se reprezintă în figura 5.

În continuare am efectuat identificarea zopiclonei în mediul organic (cloroform) aplicând metoda HPLC (fig.6). În calitate de eluent se folosește amestec de acetonitril și soluție A care constă din laurilsulfat sodic și dihidrofosfat sodic la pH 3,4 în raport 52:48. Determinarea zopiclonei se efectuează cu ajutorul detectorului UV la lungimea de undă 303nm. Timpul de retenție 2,58 min.

Metoda propusă este exactă și rapidă în vederea identificării zopiclonei după izolarea din lichidele biologice.

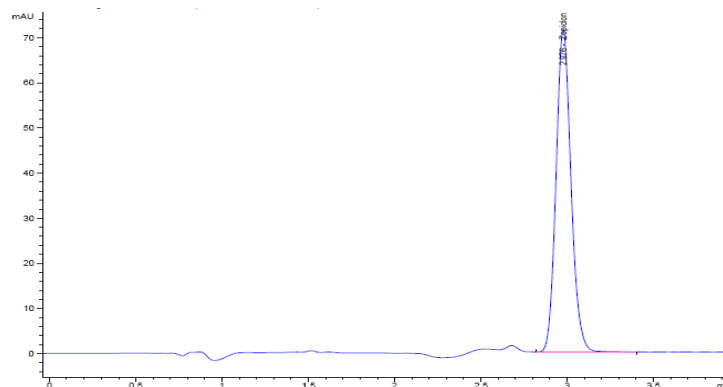


Fig.5 HPLC. Cromatograma zopiclonei

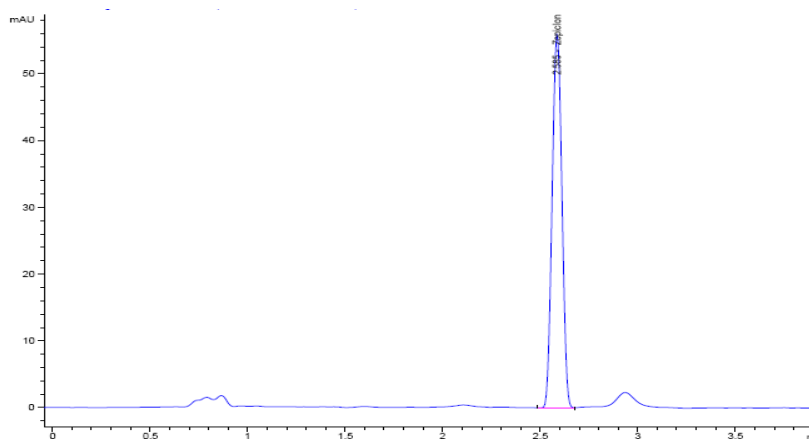


Fig. 6.HPLC. Cromatograma zopiclonei în cloroform.

Concluzii

Pentru identificarea zopiclonei s-au propus metoda cromatografiei pe strat subțire pe plăci cu silicagel în 4 sisteme de solvenți, spectrofotometria în UV cu determinarea maximului de absorbție în acid clorhidric 0,1 M metanol, hidroxid de sodiu 0,1M cloroform, metoda HPLC aplicând coloana Zorbax Eclipse XDB C-18.

Dozarea zopiclonei în comprimate somnol a fost efectuată prin metoda spectrofotometrică UV. Greșala relativă a rezultatelor cercetărilor constituie 1,48%.

Bibliografie

1. Bellomy L.J. The infrared spectra of complex molecules – London, 1959 – 95 and New York, 1996 – 590p.
2. Bodoga B. Maria Virginia coman. Cromatografia pe strat subțire – București: Ed. Tehnică, 1995 – 160p.
3. Dorian P., Sellers Em., Kaplan H.Hamilton C. Evaluation of zopiclone physical dependence liability in normal voleyiteers. Pharmacology 27. 1983; Suppl 2: 228 – 34p.
4. Holbrook AM., Crowther R., Lotter A., Cheng C., Meta – analysis of bentodiazepine use in the treatment of insomnia CMAJ. 2002.
5. Holmgren., H. Druid S. Hollander J., Ahlner., Fatal and non-fatal consehtrations of newer antidepressants and hypnotics, post – mortem femoral blood. Proceedings of 38 TIAFT Meeting, Helsinki, 13 – 17 August 200; - 62p.
6. Skerritt Jh., Johnston G. Enancement of GABA binding by benzodiazepines and related anxiolitics. European journal of pharmacologi 1983 May. 89 (3–4):193 – 8p.
7. Toniton Y. Sleep disorders and hypnotic agents : medical, social and economical impact. Ann Pharm Fr. Jyly 2007; 65 (4):230 – 8p.