

## Concluzii

S- a efectuat un studiu de evaluare a cercetărilor „in vitro” în baza datelor din literatură despre interacțiunea metoclopramidei cu sistemul P450 unde se explică prezența unui nou metabolit al metoclopramidei- monodietilmetoclopramida care ne demonstrează că: CYP 2D6 este izoforma principală ce catalizează formarea metabolitului nou, avînd specificitate de funcționare hepatică; există medicamente care pot deregla formarea monodietilmetoclopramidei – metabolit toxic la toate tipurile de ficat; metoclopramida este însuși inhibitor al CYP 2D6.

Numărul pacienților cărora li se administrează metoclopramida este în continuă creștere, de aceea este importantă analiza efectelor adverse și interacțiunile medicamentoase ale acestui medicament. Rezultatele acestei cercetări necesită confirmare prin teste in vivo. Însă pînă atunci, e necesar de a recomanda medicilor și farmaciștilor-clinicieni să informeze pacienții despre apariția efectelor adverse posibile din cauza interacțiunilor medicamentoase la nivel microsomal sau din cauza unor modificări ereditare la nivel de sistem enzimatic CYP 2D6.

## Bibliografie

1. M. Hangan, T.Cotelea, L.Soloviov Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică USMF N.Testemițanu Investigații chimico-toxicologice asupra metoclopramidei Anale științifice, vol.I, Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2008, pag.301-304
2. Albibi R, McCallum RW(1983) Metoclopramide: pharmacology and clinical application. Ann Intern Med 98:86–95.
3. Baguley WA, Hay WT, Mackie KP, Cheney FW, Cullen BF(1997) Cardiac dysrhythmias associated with the intravenous administration of ondansetron and metoclopramide. Anesth Analg 84:1380–1381.
4. Desta Z, Soukhova N, Mahal SK, Flockhart DA(2000) Interaction of cisapride with human cytochrome P450 system: metabolism and inhibition studies. Drug Metab Dispos 28:789–800.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства Москва Новая волна 2008 -187с.
6. К.м.н. С.Н. Маммаев, Ю.О. Шульпекова, академик РАМН, профессор В.Т. Ивашкин  
ММА имени И.М. Сеченова Метоклопрамид в лечении диспепсических расстройств med-lib.ru
7. ВИДАЛЬ 2006 «Лекарственные препараты в России»

## STUDIUL DICLOFENACULUI ÎN CADRUL TESTULUI DE ANALIZĂ CHIMICO-TOXICOLOGICĂ

**Tamara Cotelea<sup>1</sup>, Marcela Panco<sup>1</sup>, Efim Aramă<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică USMF „N. Testemițanu”

<sup>2</sup>Catedra Biofizică, Informatică și Fiziologia omului

## Summary

### *Diclofenac study in the biological liquids*

We used Diclofenac and physico-chemical methods in the pure substance for its analysis in the blood plasma. The identification of Marquis and Liebermann reaction. Chromatography on the thin layer in the ethylacetate-metanol-ammonia 25 % (85:10:5) Was also used. FeCl<sub>3</sub> is used as an eluent, obtaining R<sub>f</sub> = 0,12 cm. There was used UV spectrophotometric method in the hydroxide for identification and obtaining of maximum absorption on 275 nm.

The used methods were applied according to chemico-toxicological analysis conditions of Diclofenac in the biological liquids

## Rezumat

Am aplicat metode chimice și fizico-chimice de idnetificare a diclofenacului în substanță pură. Am folosit reacțiile de identificare cu reactivul Marquis și Liebermann. Am aplicat cromatografia pe strat subțire în sistemele de solvenți etilacetat-metanol-amoniac 25% (85:10:5). Ca dezvoltant am folosit clorura de fier (III), obținând un  $R_f=0,12$ cm. Deasemenea am aplicat metoda spectrofotometrică UV în acidul clorhidric și hidroxid de sodiu obținând maxime de absorbție la lungimea de undă 275nm.

Metodele folosite corespund condițiilor de analiză chimico-toxicologică a diclofenacului în lichidele biologice.

## Actualitatea temei

Diclofenacul, acid 2-(2-(2,6-dichlorophenylamino)phenyl), fiind derivat al acidului benzen acetic cunoscut și sub alte denumiri, reduce durerea și ca atare acționează ca antiinflamator, analgezic și antipiretic [2]. Mecanismul exact de acțiune nu este pe deplin cunoscut, dar se crede că mecanismul primar responsabil pentru acțiunea sa antiinflamatorie, antipiretică, și analgezică este inhibarea sintezei de prostaglandine prin inhibarea ciclooxigenazei (COX), și pare să inhibe sinteza ADN-ului [1]. Inhibarea COX, de asemenea scade prostaglandinele în epiteliul din stomac, făcându-l mai sensibil la corозиunea de acid gastric. Aceasta este, de asemenea, efectul principal partea laterală a diclofenacului. Diclofenacul are o preferință moderat scăzută pentru a bloca COX2-coenzimă (aproximativ 10 ori) și se spune că, prin urmare, are o incidență ceva mai mică de plângeri gastro - intestinale mult de remarcat ca indometacina și aspirina[3].

Diclofenacul poate fi, de asemenea, un membru unic de AINS. Există unele dovezi că diclofenacul inhibă căile de lipooxigenază, reducând astfel formarea de leucotriene (pro-inflamatorii) [4]. Există, de asemenea informații că diclofenacul poate inhiba fosfolipaza A 2, ca parte a mecanismului său de acțiune. Aceste acțiuni suplimentare pot explica potența ridicată de diclofenac - este cel mai puternic AINS, pe o bază largă.

Există diferențe marcate între AINS la inhibarea lor selectivă a celor două subtipuri de ciclooxigenază, COX-1 și COX-2. O mare parte de proiectare farmaceutice de droguri a încercat să se concentreze asupra COX-2 selectivi, inhibarea este ca o modalitate de a minimiza efectele secundare ale AINS gastro - intestinale cum ar fi aspirina. În practică, utilizarea unor inhibitori COX-2 datorită efectelor lor negative destul de grave, dar altele în mod semnificativ de COX-AINS selective ca diclofenac au fost bine tolerat de majoritatea populației .

## Obiectivele lucrării

În legătura cu creșterea întrebuințării preparatelor medicamentoase, se mărește necesitatea aplicării metodelor mai informative în analiza acestora. Studiarea legităților repartizării substanțelor în organism deasemenea solicită metode de examinare rapide și sensibile.

Scopul lucrării constă în stabilirea metodelor de identificare și dozare a diclofenacului precum și a metodelor de izolare a acestuia din materialul biologic.

## Materiale și metode de cercetare

În cadrul cercetărilor s-a folosit diclofenac substanță pură, comprimate de 25 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. În investigațiile experimentale ca reagenți s-au utilizat reactivul Marquis-precipitat slab brun, iar cu reactivul Liebermann – precipitat roșu brun, etilacetat, metanol, amoniac 25% , acidul clorhidric, hidroxid de sodiu, cloroform care au fost cu grad de puritate „pur pentru analiză” și „chimic pur”.

Pentru identificarea paracetamolului am aplicat metoda CSS folosind plăci cromatografice cu conținut de silicagel G. S-a utilizat sisteme de solvenți etilacetat-metanol-

amoniac 25% (85:10:5), metanol:amoniac 25% (100:1,5), pentru care s-a determinat valoarea  $R_f = 0,12; 0,9$ . Ca dezvoltant am folosit clorura de fier (III).\*

0,01 g de diclofenac se dizolvă în 100 ml cloroform (soluția A). Din soluția A luăm un ml și dizolvăm în 10 ml cloroform (soluția B). Pe linia de start a plăcii se aplică 2  $\mu$ l soluție B, placa se introduce în camera de cromatografiere și se cromatografiază ascendent în sistemul de solvenți corespunzător, 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 soluție de clorura de fier (III). Spoturile de paracetamol se colorează în galben-brun. Se determină valorile  $R_f$ . Sensibilitatea reției este de 10  $\mu$ g/ml. Sensibilitatea metodei ne dă posibilitate de a o aplica în extrasul organic din lichidul biologic cu conținut de diclofenac.

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 Diclofenacului sau înregistrat spectrele de absorbție în intervalul lungimilor de undă 250-300nm cu maxim de absorbție la 275 nm .

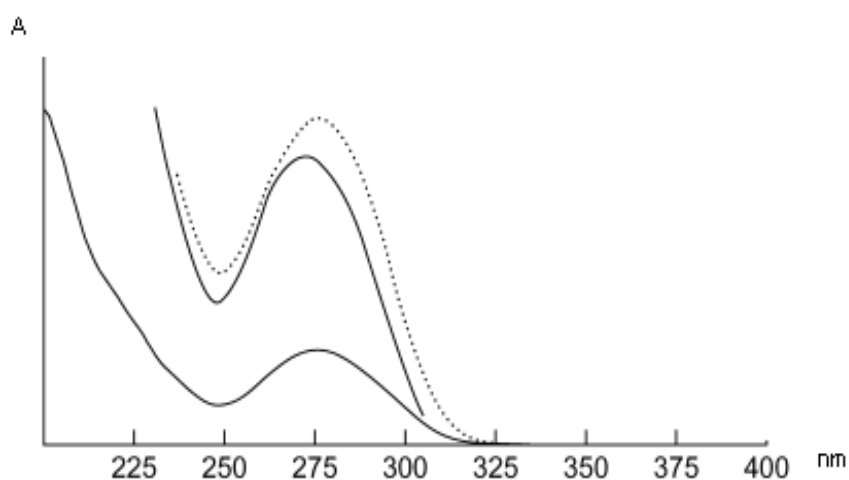


Fig.1 Spectru de absorbție al diclofenacului în UV

Pentru determinarea identității s-a aplicat spectrofotometria în IR, ce se reprezintă ca o metodă modernă și se caracterizează printr-o informație multilaterală despre structura chimică a substanței medicamentoase. Această metodă ne permite identificarea analogilor aceleși clase care prin altă metodă nu se poate diferenția[6].

Spectrul în IR al diclofenacului s-a înregistrat cu ajutorul aparatului „Specord 75” IR în intervalul 400 - 4000  $\text{cm}^{-1}$ , suspensie în ulei de vaselină, (0,01 g diclofenac și 5 picături ulei de vaselină)[4]. Discifrarea benzilor de absorbție al diclofenacului în spectru IR (fig.3.2) s-a efectuat în baza datelor din literatură[5].

Benzile de absorbție la lungimile de undă, corespund vibrațiilor valente asimetrice. Incepînd de la 1572  $\text{cm}^{-1}$  vibrațiile corespund grupărilor CH al inelului benzenic, vibrațiile deformaționale neplane a grupei CH din inelul benzenic se remarcă în regiunea 750 – 810  $\text{cm}^{-1}$ , iar în regiunea 1504  $\text{cm}^{-1}$  se remarcă vibrații valente de tipul  $\text{-C=C}$ , la gruparea C - Cl în regiunea 720  $\text{cm}^{-1}$  se depistează vibrații valente, pe cînd vibrații intensive se înregistrează în regiunile 1286  $\text{cm}^{-1}$  ce corespund grupei OH și C - O, la lungimea de undă 1308  $\text{cm}^{-1}$  se reflectă vibrații deformaționale a grupării C - C - C și vibrații valente a grupei  $\text{C=C}$  în  $\text{-C - (CO) - O}$ .

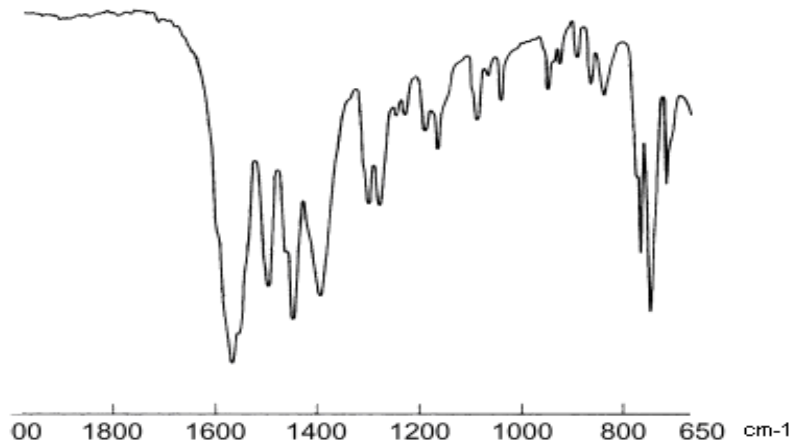


Fig.2 Spectru diclofenacului in IR.

### **Izolarea și extragerea diclofenacului în lichide biologice (în vitro)**

S-a studiat procesul de izolare al diclofenacului în lichide biologice cu apă acidulată cu acid sulfuric 10% și acid tricloracetic 30%.

La 4 ml plasmă sanguină se adaugă 3 ml soluție alcoolică de diclofenac 0,1 %, se lasă pe 24 ore. Apoi acidulăm cu soluție de acid sulfuric 10 % pînă la pH 2,0-2,5 (hîrtia de indicator universală). Amestecul se lasă pe 1-2 ore, agitîndu-se periodic, apoi se adugă 3 ml soluție de acid tricloracetic 30 %, se agită și se centrifughează timp de 10 min (5000 rot/min). Centrifugatul se separă, iar reziduu încă de 2 ori se prelucrează cu soluție de acid sulfuric 0,02 mol/l sub controlul pH 2,0-2,5 și din nou se centrifughează. Centrifugatele se unesc și se filtrează. Apoi se extrage cu cloroform de 3 ori cîte 5 ml. Extracțiunile cloroformice se unesc și volumul se aduce pînă la 20 ml.

În extractul cloroformic se determină conținutul de diclofenac prin metoda spectrofotometriei UV. Pentru aceasta extrasul cloroformic se spectrofotometrează, citindu-se absorbanta soluției la lungimea de undă 275 nm în cuva cu drumul optic de 10 mm. În calitate de soluție de referință se utilizează cloroformul. Paralel se analizează proba cu soluție diclofenac standard.

Prepararea soluției standard 0,05 g (masa exactă) paracetamol, substanță de referință, se trece cantitativ într-un balon cotate cu capacitatea de 100 ml, se dizolvă într-un volum de 10 ml și se aduce la cotă cu același solvent (sol. A). 1 ml soluție A se pasează în alt balon cotate cu capacitatea de 50 ml și volumul se completează pînă la cotă cu același solvent (sol. B). 1 ml soluție B conține 10 μg diclofenac.

### **Concluzii**

S-a făcut o analiză bibliografică în ceea ce privește metabolismul medicamentelor în organismul uman. S-au determinat metodele chimice de identificare a diclofenacului în substanță pură și după extracție din materialul biologic. Aplicînd metoda spectrofotometriă s-a stabilit maximul de absorbție al diclofenacului în acidul clorhidric și hidroxid de sodiu obținînd maxime de absorbție la lungimea de undă 275 nm respectiv. S-au stabilit condițiile de identificare prin metoda CSS . S-a determinat metoda de izolare și extragere a diclofenacului la pH 2,0-2,5.

### **Bibliografie**

1. Dutta NK, Annadurai S, Mazumdar K, Dastidar SG, Kristiansen JE, Molnar J, M Martins, Amaral L (2000). "Anti-bacterian de acțiune a diclofenac demonstrat prin inhibarea sintezei ADN-ului". Int. J. Antimicrob. De agenți 14 (3): 249-51

2. Informații pentru cadrele medicale. Medsafe - Noua Zeelandă Medicamente și dispozitive medicale Safety Authority. 2007-07-10. [Http://www.medsafe.govt.nz/profs/datasheet/v/voltarenrapid.htm](http://www.medsafe.govt.nz/profs/datasheet/v/voltarenrapid.htm). Adus de 2009-03-17
3. Juni P. Rutjes A. Dieppe P. Are selective COX2 inhibitors superior to traditional non st
4. Missir Al., Chiriță I. Chimie farmaceutică practică-analiza substanțelor medicamentoase, București: Tehnoplast, 1996- 224 p
5. Бабилев Ф.В., Андроник И.Я. Полиморфизм лекарственных веществ-Кишинев, Штиинца 1981.280

## INVESTIGAȚII CHIMICO-TOXICOLOGICE ASUPRA TIACLOPRIDEI

**Julia Cucereavaia,<sup>1</sup> Tamara Cotelea,<sup>1</sup> Efim Arama<sup>2</sup>, Oleg Bolotin<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică USMF „N. Testemișanu”

<sup>2</sup>Catedra Biofizică, informatică și Fiziologia omului „N. Testemișanu”

<sup>3</sup>Institutul de Geologie și Seismologie AȘM

### Summary

#### *Chemico-toxicological investigation on the tiaclopride*

Calypso® 480 SC (active ingredient of tiacloprid) is the chloronicotinil insecticide. It is a product with systematic high activity in the plant, acting on the vermin insects by contact or indigestion. The tiacloprid has an effect on the level of the insects' nervous system, blocking the fulfillment of the vital activity. In order to identify the Calypso, the method of UV spectrophotometry was applied. The spectrum of absorption of the Calypso solution in chloroform (0,001%) in the wavelength interval of 235-310 nm has a maximum of absorption of  $\lambda$  290 nm. In order to determine the specific character of tiacloprid in micro-crystalloscopy and carried out the following reactions: a) the microcrystalline reactions with 10% cadmium chloride; b) microcrystalline reaction with fuchsine-sulfurous acid. The determination of tiacloprid by the HPLC method is based on the determination of the tiacloprid after the isolation of the preparation with dichlormethane from the water, with soil acetone and apples; the extract's purification by applying the immiscible systems in solvents and by the column with silicagel. The mobile phase: acetonitrile – water (32.5-67.5); current rate 0.7 ml/min;  $\lambda$ =242 nm; time of retention 5.4 min.

### Rezumat

Calypso 480SC (ingredient activ de tiaclopridă) este un insecticid de cloronicotinil. Este un produs cu activitate sistemică în plantă, acționând pe insecte vermine prin contact sau ingestie. Tiacloprida are efect asupra nivelului sistemului nervos a insectelor, blocând satisfacția activității vitale. În scopul identificării Calypso, a fost aplicată metoda spectroclotometriei UV. Spectrul absorbției soluției Calypso în chloroform (0,001%) în intervalul de 235-310 nm are o absorbție maximă la 290 nm. În scopul determinării caracterului specific de tiaclopridă în microcristaloscopie s-au efectuat următoarele reacții: a) reacțiile microcristaline cu clorură de cadmiu de 10%; b) reacții microcristaline cu acid fucsinsulfuros. Determinarea tiaclopridei prin metoda HPLC este bazată pe izolarea preparatului cu diclormetan din apă, cu acetonă din pământ și mere; purificarea extractului prin aplicarea sistemului ioniscibil în sovenți și pe coloana cu silicagel. Faza mobilă: acetonitril – apă (32,5:67,5); rata curentului 0,7 ml/min;  $\lambda$ = 242nm, timpul de retenție 5,4 min.

### Actualitatea temei

Pesticidele, substanțe naturale sau sintetice de cele mai multe ori, nu sunt pure, dar în diferite combinații de diluanți și tensioactivi. Cunoaștem mai multe mii de ingrediente active, aplicate în practică aproximativ 500. Actualmente apare necesitatea de a crea condiții de a utiliza