

ELABORAREA METODEI SPECTROFOTOMETRICE UV-VIS DE DETERMINARE CANTITATIVĂ A IZOHIDRAFURALULUI, METILURACILULUI ȘI BENZOCAINEI DIN UNGUENTUL COMBINAT

Elena Donici,
Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică,
IP USMF „Nicolae Testemițanu”

Rezumat

Utilizarea medicamentelor combinate în tratamentul plăgilor infectate facilitează cu mult farmacoterapia. Izohidrafural este un compus organic care are acțiune antibacteriană, metiluracilul este o substanță regenerantă și benzocaina este un anestezic local. Combinația acestor trei substanțe medicamentoase într-un unguent combinat are un efect mai benefic și mai rapid în tratarea plăgilor purulente. S-a elaborat metoda spectrofotometrică UV-VIS de determinarea cantitativă a izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei din unguentul combinat. Metoda este exactă și precisă, erorile fiind în limitele admise de exigențele controlului medicamentelor pentru substanțele active (valorile RSD pentru izohidrafural – 1,464%, metiluracil – 0,554% și benzocaină – 0,392%).

Cuvinte-cheie: metoda spectrofotometrică UV-VIS, benzocaină, metiluracil, izohidrafural

Summary. Development of UV-VIS spectrophotometric method for quantitative determination of izohydrofural, methyluracil and benzocaine in combined ointment

The use of combined drugs for the treatment of infected wounds facilitates the pharmacotherapy. Izohydrofural is an organic compound that has antibacterial effect, methyluracil is a regenerating substance and benzocaine is a local anesthetic. The combination of these three drugs in a combined ointment has a beneficial effect in treating more easily the purulent wounds. It was developed the UV-VIS spectrophotometric method for the quantitative determination of izohydrofural, methyluracil and benzocaine in the combined ointment. The method is accurate and precise, the errors are within the limits of drug control requirements for active substances (RSD values for izohydrofural - 1,464% methyluracil – 0,554% and benzocaine – 0,392%).

Key words: UV-VIS spectrophotometric method, benzocaine, methyluracil, izohydrofural

Резюме. Разработка спектрофотометрического метода в УФ- и видимой области для количественного определения изогидрафура, метилурацила и бензокаина в комбинированной мази

Применение комбинированных препаратов для лечения инфицированных ран значительно облегчает фармакотерапии. Изогидрафурал это органическое соединение, которое обладает антибактериальными свойствами, метилурацил является регенерирующим веществом и бензокаин – местным анестетиком. Сочетание этих трех препаратов в комбинированной мази оказывает благотворное действие при лечении гнойных ран. Был разработан спектрофотометрический метод в УФ - и видимой области для количественного определения изогидрафура, метилурацила и бензокаина в комбинированной мази. Метод является верным и точным, погрешности находятся в пределах требований по контролю активных веществ (значения RSD для изогидрафура – 1,464% метилурацила – 0,554% и бензокаина – 0,392%).

Ключевые слова: УФ-В спектрофотометрический метод, бензокаин, метилурацил, изогидрафурал

Introducere

Terapia plăgilor infectate continuie să fie o problemă actuală din mai multe considerente: incidența înaltă, dezvoltarea rezistenței microorganismelor la antibiotice dar și necesitatea administrării mai multor

medicamente. Metodele contemporane de tratament în plăgi infectate includ diverse combinații medicamentoase, care asigură tratarea rănii în toate fazele sale. În prima fază, exudativă, este necesar administrarea preparatelor antiinflamatoare, antibacteriene

și analgezice care ar reduce inflamația, durerea și ar asigura distrugerea bacteriilor. În fazele de proliferare și epitelizare sunt necesare preparate cu acțiune regenerantă pentru a stimula formarea țesutului nou [9].

Astfel, au fost selectate următoarele substanțe active pentru formularea medicamentelor combinate pentru tratamentul plăgilor infectate: izohidrafural, metiluracil și benzocaină.

Izohidrafural (izonicotinoilhidrazona alhidei 5-nitro-2-furanice) este un compus organic nou, din rândul nitrofuranilor, care se caracterizează prin acțiune antibacteriană pronunțată, toxicitate joasă și stabilitate înaltă [6]. Acest principiu activ a fost deja inclus în formele farmaceutice: soluția „Izofural” 0,05% și unguent Izofural 0,1%, ambele fiind pentru uz extern. Metiluracil (6-methylpirimidine-2,4-diol) este un derivat al pirimidinei, folosit pentru tratarea diferitor forme de leucopenie, plăgi și arsuri [3]. Benzocaina, un ester al acidului para-aminobenzoic, este un anestezic local utilizat pentru anestezia de suprafață [4, 5]. Substanțele medicamentoase descrise au fost combinate în aceeași formă farmaceutică – unguent, care are un efect benefic în afecțiunile inflamatorii dermatologice asociate cu infecții bacteriene. Elaborarea metodelor de analiză calitativă și cantitativă a unguentului elaborat va permite standardizarea acestuia și întocmirea documentelor analitice de normare a calității [7].

Metoda spectrofotometrică în ultraviolet și vizibil este considerată una dintre metodele clasice de analiză a medicamentelor, deși importanța ei nu s-a diminuat în timp [7].

În contextul celor menționate, scopul lucrării a fost elaborarea metodei spectrofotometrice UV-VIS de determinare cantitativă simultană a benzocainei, metiluracilului și izohidrafuralului din unguentul combinat.

Material și metode

În calitate de substanțe medicamentoase, reactivi și solvenți s-au folosit: izohidrafural, sintetizat la Catedra Chimie organică a USM; metiluracil (Sigma Aldrich), benzocaină (Sigma Aldrich), dimetilformamidă (Reag.Ph.Eur. for analysis, ACS, ISO). A fost utilizat spectrofotometrul Agilent Technologies 95-00.

S-au preparat soluțiile standard de izohidrafural, metiluracil și benzocaină cu concentrațiile 5 μg/ml în dimetilformamidă.

Tehnica de preparare a soluției standard de izohidrafural: 0,005 g (masă exactă) substanță standard de izohidrafural se dizolvă în dimetilformamidă într-un balon cotat de 50 ml, se aduce la cotă cu același solvent (sol. A). 2,5 ml sol. A se plasează în balon cotat de 50 ml și se aduce la cotă cu același solvent (sol. etalon B).

Tehnica de preparare a soluției standard de metiluracil: 0,005 g (masă exactă) substanță standard de metiluracil se dizolvă în dimetilformamidă într-un balon cotat de 50 ml, se aduce la cotă cu același solvent (sol. A). 2,5 ml sol. A se plasează în balon cotat de 50 ml și se aduce la cotă cu același solvent (sol. etalon B).

Tehnica de preparare a soluției standard de benzocaină: 0,005 g (masă exactă) substanță standard de benzocaină se dizolvă în dimetilformamidă într-un balon cotat de 25 ml, se aduce la cotă cu același solvent (sol. A). 2,5 ml sol. A se plasează în balon cotat de 50 ml și se aduce la cotă cu același solvent (sol. etalon B).

Se măsoară absorbanta soluțiilor standard la spectrofotometru în cuvele cu grosimea 1 cm, în regiunea 200 – 350 nm. În calitate de soluție de referință a servit dimetilformamida (figurile 1,2,3).

Pentru stabilirea intervalului de concentrații în care se respectă legea absorbantei s-a construit curba de etalonare pentru izohidrafural, metiluracil și benzocaină. Pentru aceasta s-a preparat soluțiile etalon de bază (sol. A) pentru fiecare substanță standard: 0,005 g (masă exactă) de fiecare substanță standard se dizolvă în dimetilformamidă în câte un balon cotat de 50 ml și se aduce la cotă cu același solvent. Soluțiile etalon de lucru s-au preparat prin diluarea soluției A într-o regresie pătratică. Pentru izohidrafural s-au obținut 4 soluții cu concentrațiile de 2, 4, 6 și 8 μg/ml. Pentru metiluracil s-au obținut 4 soluții cu concentrațiile de 5, 10, 15 și 20 μg/ml. Pentru benzocaină s-au obținut 4 soluții cu concentrațiile de 1, 5, 10 și 15 μg/ml. S-au obținut spectrele de absorbție ale acestor soluții. S-a urmărit variația lungimii de undă la absorbanta maximă și valoarea maximelor de absorbantă.

Pentru a elabora tehnica de dozare spectrofotometrică a benzocainei, metiluracilului și izohidrafuralului din unguentul combinat, s-a efectuat extracția principiilor active din unguent. Astfel, 0,5 g de unguent (masă exactă), se pune în patentulă de porțelan, se adaugă 10 ml de dimetilformamidă și se încălzește pe baia de apă până la topirea excipientului, amestecând cu bagheta de sticlă. După răcire se separă stratul de dimetilformamidă într-un balon cotat de 25 ml. Extracția cu dimetilformamidă se repetă de 3 ori cu câte 5 ml de dimetilformamidă, unind fracțiunile, apoi se aduce la cotă cu același solvent. În rezultat s-a obținut o extracție limpede și transparentă, de culoare galben-oranj.

Tehnica de preparare a probei de izohidrafural: 4 ml de extract se dizolvă în dimetilformamidă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu același solvent.

Tehnica de preparare a probei de metiluracil: 0,2 ml de extract se dizolvă în dimetilformamidă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu același solvent.

Tehnica de preparare a probei de benzocaină: 0,5 ml de extract se dizolvă în dimetilformamidă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu același solvent.

Au fost obținute spectrele UV-VIS ale soluțiilor obținute în regiunea 200-350 nm, în cuva cu grosimea 1 cm. În calitate de soluție de referință a servit dime-tilformamida (figurile 1,2,3).

Conținutul de substanță medicamentoasă în un-quent s-a calculat conform formulei:

$$X = \frac{A_x * m_{st} * V_{pst}}{A_{st} * m_{ung} * V_{px}} * P, \text{ în care:}$$

- A_x – absorbanța soluției probă de analizat;
- A_{st} – absorbanța soluției substanței standard;
- m_{st} – masa substanței medicamentoase standard,
- g;
- m_{ung} – masa unguentului luat pentru analiză, g;
- V_{pst}, V_{px} – diluțiile folosite prepararea probelor și soluțiilor standard, ml
- P – masa totală a unguentului, g.

Rezultate

Au fost obținute spectrele UV-VIS ale soluțiilor probe și ale substanțelor standard de izohidrafural,

metiluracil și benzocaină în regiunea 200-350 nm (fi-gurile 1,2,3).

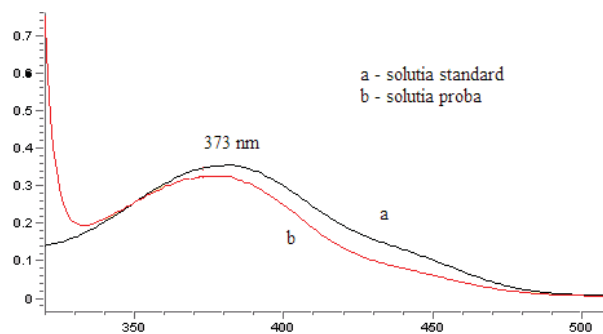


Figura 1. Spectrul de absorbție al soluției standard de izohidrafural 5 μg/ml și soluției probă de izohidrafural 4 μg/ml

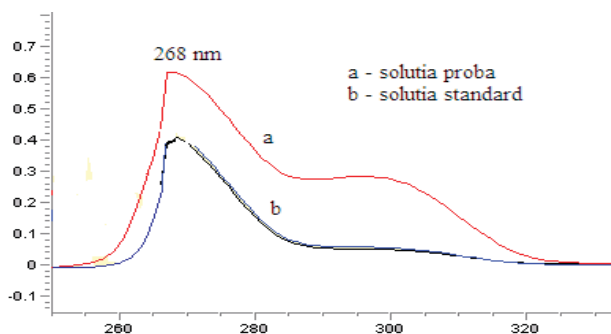


Figura 2. Spectrul de absorbție al soluției standard de metiluracil 5 μg/ml și soluției probă de metiluracil 10 μg/ml

Tabelul 1

Rezultatele determinării cantitative ale izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei din unguentul combinat

Parametrii statistici	Unguentul combinat	Izohidrafural probă	Metiluracil probă	Benzocaină probă
Numărul de măsurători	n	5	5	5
Valoarea medie a conținutului de substanță, g	\bar{X}	0,104	5,05	1,011
Abaterea standard	2S	$2*10^{-5}$	$8*10^{-4}$	$2*10^{-5}$
	S	0,004	0,028	0,004
Coeficientul Student, 95%	t	2,776	2,776	2,7764
Abaterea medie pătratică	$S_{\bar{X}}$	0,0007	0,013	0,0018
Abaterea standard relativă	RSD,%	1,464	0,554	0,392
Intervalul de încredere	$\Delta\bar{X}$	0,002	0,035	0,0049
Rezultatul final	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	0,102	5,015	1,0059
	$\bar{X} + \Delta\bar{X}$	0,105	5,086	1,0157
Eroarea relativă	E%	1,818	0,688	0,4867

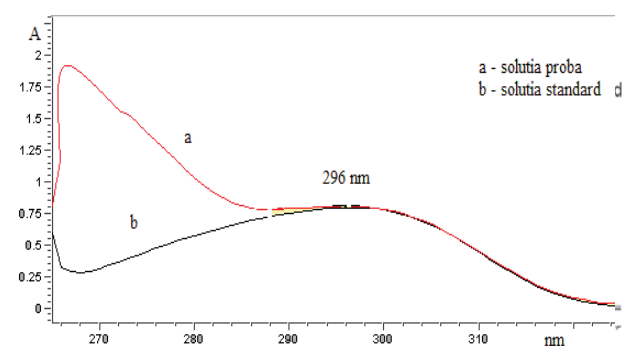


Figura 3. Spectrul de absorbție al soluției standard de benzocaină 5 µg/ml și soluției probă de benzocaină 5 µg/ml

Rezultatele determinării cantitative ale substanțelor active din unguentul combinat sunt redate în tabelul 1.

Discuții

S-a cercetat posibilitatea determinării cantitative a izohidrafuralului (0,1%), metiluracilului (5%) și benzocainei (1%) din unguentul combinat prin metoda spectrofotometrică.

S-au analizat trei probe, pentru fiecare din acestea efectuându-se câte cinci determinări conform metodei descrise la dozare. Rezultatele obținute au fost supuse evaluării statistice (tabelul 1). S-a determinat pentru izohidrafural: valoarea medie 0,104 g; coeficientul de variație (abaterea relativă standard) este 1,464%. După cum se observă, această condiție este îndeplinită, așa dar metoda este precisă (tabelul 1). Pentru metiluracil: valoarea medie 5,05 g; coeficientul de variație (abaterea relativă standard) este 0,554%. Pentru benzocaină: valoarea medie 1,011 g; coeficientul de variație (abaterea relativă standard) este 0,392%. Condiția de admisibilitate prevede, că o metodă poate să fie considerată reproductivă dacă

coeficientul de variație este mai mic sau egal cu 2%. Astfel, metoda spectrofotometrică UV-VIS elaborată poate fi considerată reproductivă.

Concluzie

A fost elaborată metoda spectrofotometrică UV-VIS de determinare cantitativă simultană a benzocainei, metiluracilului și izohidrafuralului din unguentul combinat. Eroarea relativă la dozarea izohidrafuralului a fost 1,818%, metiluracilului a fost 0,688% și benzocainei: 0,4867%.

Bibliografie

1. George C.S. Hoffman, Melmon BB Kenneth L., Nierenberg D.W. *Melmon and morrelli's clinical pharmacology*. 4th ed. McGraw Hill Publishers. 2000; 713-733.
2. Goyal R.K. *Derasari and gandhi's elements of pharmacology*. 16th ed. BS Shah Prakashan. 2007; 228, 567.
3. I.I. Brekhman. *Man and biologically active substances: The Effect of Drugs, Diet and Pollution on Health*. 1st ed. Pergamon, 1980, 102.
4. Jelvehgaria M., Mohammad-Reza R., Hedayte S., *Mucoadhesive and Drug Release Properties of Benzocaine Gel*. Ir. J. of Pharm. Sciences, 2006; 2(4): 185-194.
5. Martindale the extra Pharmacopeia, London: Pharmaceutical Press, 2005; Vol.2; p. 1370.
6. Prisacari V., Buraciov S., Dizdari A., Stolicov S., Diug E., *Izohidrafural – remediou nou antibacterian*. Comunicare I. Studiul acțiunii antibacteriene, Anale șt. ale USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 2003, 240-243.
7. Tihon I., Uncu L., Valica V., Vâslouh O., Ciobanu R., *Elaborarea metodei spectrofotometrice de dozare a metiferonului*. Anale șt. ale USMF „Nicolae Testemițanu”, ed. IX (1), 2008, 279-282.
8. United States Pharmacopoeia 30, NF 25. United States Pharmacopoeial Convention, Inc. 2007; 2263-2264.
9. Привольнев В.В., Каракулина Е.В., *Основные принципы местного лечения ран и раневой инфекции*. Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия, Том 13 (3), 2011, 210.