

Enantioanaliza butaclamolului utilizand electrozi enantioselectivi, potentiometrici

Raluca-Ioana van Staden¹, Jacobus Frederick van Staden,

Marius C. Mirica, Ionel Balcu, Nicolae Mirica, Mirela Iorga

Laboratorul de Electrochimie din Bucuresti, Institutul National de Cercetare-Dezvoltare pentru Electrochimie si Materie Condensata Timisoara, Str. Splaiul Independentei Nr. 202, 060021, Bucuresti, Romania; e-mail: iustinavanstaden@yahoo.com

REZUMAT

Trei electrozi potentiometrici enantioselectivi au fost propusi pentru enantioanaliza butaclamolului. Constructia electrozilor s-a bazat pe imobilizarea maltodextrinelor (MD) cu diferite grade de hidroliza (DE) (DE 4.0 – 7.0 (I), 13 –17 (II), 16.5 -19.5 (III)) in pasta de grafit. Electrozii bazati pe MD I si MD II au fost utilizati la enantioanaliza S-butaclamolului in domeniul de concentratie 10^{-10} - 10^{-7} (limita de detectie 5.52×10^{-11} mol/L) si 10^{-10} - 10^{-8} (limita de detectie 9.04×10^{-11} mol/L), respectiv cu pante de 51.20 si 57.59 mV/decada de concentratie; in timp ce electrodul bazat pe MD III a fost utilizat la enantioanaliza R-butaclamolului pe domeniul de concentratie 10^{-10} - 10^{-7} (limita de detectie 3.19×10^{-11} mol/L) cu o panta de 58.50 mV/decada de concentratie. Butaclamolul s-a regasit in probele de analizat (probe de urina) intr-un procent mai mare de 90%.

¹Autorul pentru corespondenta. E-mail: iustinavanstaden@yahoo.com

INTRODUCERE

S-Butaclamolul este un antagonist al dopaminei^{1,2} fiind prescris pacientilor cu schizofrenie. In timp ce S-butaclamolul stimuleaza eliberarea dopaminei, R-butaclamolul este inactiv³ (Figura 1).

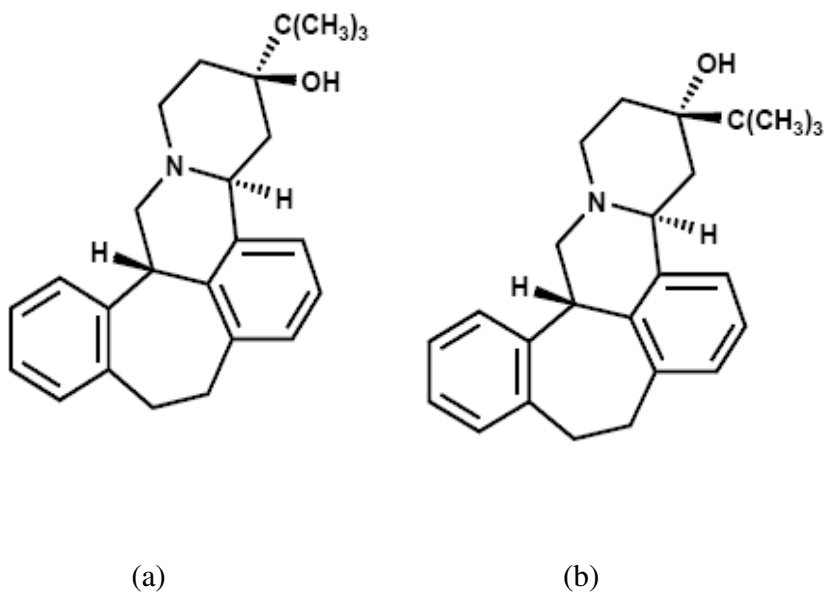


Figure 1. Enantiomerii butaclamolului. (a) S-butaclamol, (b) R-butaclamol.

Comportamentul celor doi enantiomeri ai butaclamolului evidentiaza inca o data faptul ca enantiomerii aceleiasi substante active chirale pot avea proprietati farmacologice si toxicologice diferite⁴. De aceea, enantioanaliza produselor farmaceutice este de mare importanta.

Pana in prezent, metodele propuse pentru analiza/enantioanaliza butaclamolului sunt: fluorimetria⁵ si cromatografia de lichide, in varianta HPLC³. Utilizarea electrozilor enantioselectivi pentru enantioanaliza maresc sensibilitatea, acuratetea si rapiditatea determinarilor⁶.

In aceasta lucrare sunt propusi trei electrozi potentiometrici enantioselectivi bazati pe maltodextrine pentru enantioanaliza butaclamolului. Pentru ca fiabilitatea informatiei analitice este direct corelata cu fiabilitatea design-ului electrozului am ales pasta de grafit ca matrice pentru imobilizarea maltodextrinelor.

PARTEA EXPERIMENTALA

Design-ul electrozului

Uleiul de parafina si pudra de grafit s-au amestecat in proportie de 1:4(m/m) pentru a forma o pasta de grafit omogena, la care ulterior s-a adaugat solutia apoasa de maltodextrina (DE 4.0-7.0 (I), 13-17 (II), sau 16.5-19.5(III); 10^{-3} mol/ L; 100 μ L solutie de selector chiral la 100 mg pasta de grafit). Un varf de micropipeta a fost umplut cu pasta de grafit nemodificata (ulei de parafina si pudra de grafit) lasand in varf 3-4 mm pentru a fi umpluti cu pasta de grafit modificata cu maltodextrina. Diametrul sensorului astfel obtinut este de 3 mm. Contactul electric s-a obtinut cu ajutorului unui fir din Ag/AgCl care are si rol de electrod de referinta intern. Solutia interna aleasa este de KCl 0.1mol/L.

Electrodul se conditioneaza cu ajutorul unei solutii de butaclamol de concentratie 10^{-3} mol/L.

Aparatura

Un PGSTAT 302 (Eco Chemie, Utrecht, The Netherlands) controlat total de un software 4.9 a fost utilizat pentru toate masuratorile potentiometrice. Electrocul de referinta extern a fost cel de Ag/AgCl (0.1 mol/L KCl).

Procedeu recomandat

Potentiometria directa

Calibrarea electrozilor s-a facut utilizand solutii de S- sau R-butaclamol (Bcl) cu concentratii cuprinse intre 10^{-10} si 10^{-3} mol/L. Electrozii au fost introdusi in aceste solutii si s-au trasat grafice E(mV) versus pS-Bcl ($pS-Bcl = -\log[S-Bcl]$) sau E(mV) versus pR-Bcl ($pR-Bcl = -\log[R-Bcl]$), unde E este f.e.m. masurata a celulei electrochimice. Concentratiile necunoscute de S- si R-butaclamol au fost determinate din curbele de calibrare.

Determinarea butaclamolului in probe de ser

Mici cantitati de S- si R-butaclamol au fost introduce in probe reale de ser si tamponate la pH=5.00 cu tampon fosfat (50%, v/v tampon fosfat). Cantitatile de S- si R-butaclamol au fost determinate din probele de ser utilizand potentiometria directa.

Rezultate si discutii

Caracteristicile de raspuns ale electrozilor enantioselectivi

Caracteristicile de raspuns ale electrozilor potentiometrici, enantioselectivi sunt prezentate in Tabelul 1. Electrozii bazati pe MD I si MD II au un raspuns aproape Nernstian pentru S-butaclamol, limitele de detectie fiind mici, in timp ce electrodul bazat pe MD III are un raspuns aproape Nernstian pentru R-butaclamol. Electrozii pot fi folositi la enantioanaliza butaclamolului in concentratii cuprinse intre 10^{-10} si 10^{-7} mol/L; existenta domeniului linear de concentratii foarte mici este datorat folosirii solutiei de KCl 0.1 mol/L drept solutie interna pentru design-ul electrozilor. Valorile coeficientilor de corelatie, r, ai dreptelor de calibrare sunt mai mari decat 0.9970.

Tabelul 1

Caracteristicile de raspuns ale electrozilor potentiometrici, enantioselectivi utilizati la determinarea S- si R-butaclamolului.

Electrod bazat pe	Enantiomerul butaclamolului	Panta (mV/pBcl)	Potentialul standard E° (mV)	Domeniul linear de concentratie (mol/L)	Limita de detectie (mol/L)
MD I	S	51.20	525.20	10^{-10} - 10^{-7}	5.52×10^{-11}
MD II	S	57.50	577.50	10^{-10} - 10^{-8}	9.04×10^{-11}
MD III	R	58.50	614.00	10^{-10} - 10^{-7}	3.19×10^{-11}

Toate masuratorile au fost efectuate la 25°C ; toate valorile reprezinta media a 10 determinari.

Timpul de raspuns al electrozilor este mai mic de 1 minut. Caracteristicile de raspuns au fost reproductibile pe o perioada de 6 luni (RSD<0.1%).

Efectul pH-ului asupra raspunsului electrozilor

Efectul pH-ului asupra raspunsului electrozilor a fost determinat prin masurarea f.e.m. a unei celule continand o solutie de S-butaclamol 10^{-8} mol/L la diferite valori ale pH-ului (pH 1-10) pentru electrozii bazati pe MD I si respectiv MD II, si o solutie de R-butaclamol 10^{-8} mol/L la diferite valori ale pH-ului (pH 1-10) pentru electrodul bazat pe MD III. Variatia f.e.m. a celulei cu pH-ul (Figura 2) arata independenta acesteia de valoarea pH-ului in urmatoarele domenii de concentratie: 3.0-6.0, 3.0-5.0 si 3.0-5.0 pentru electrozii bazati pe MD I, MD II si respectiv MD III.

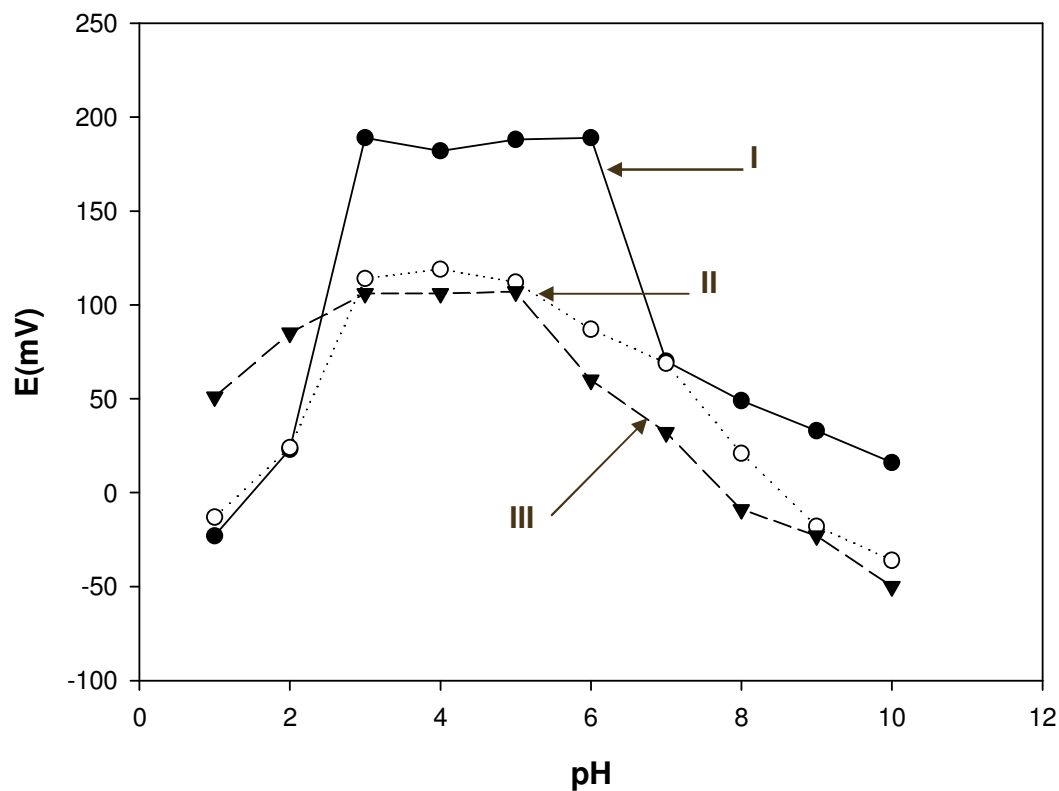


Figura 2 Efectul pH-ului asupra raspunsului electrozilor potentiometrici, enantioselectivi bazati pe I – MD I; II – MD II si III – MD III.

Selectivitatea electrozilor

Selectivitatea și enantioselectivitatea electrozilor s-au determinat utilizând metoda soluțiilor mixte. Creatina și creatinina au fost selectate ca posibili interferenți. Polivinilpirolidona (PVP) este un excipient de comprimare des utilizat în industria farmaceutică și contribuția sa la f.e.m. a celulei trebuie determinată. Rezultatele prezentate în Tabelul 2 arată că electrozii propuși sunt enantioselectivi și selectivi față de creatina, creatinina și PVP.

Tabelul 2

Coeficienții potentiometrici de selectivitate pentru electrozii propuși

Interferentul	Electrod bazat pe		
	MD I	MD II	MD III
R-Bcl	4.61×10^{-3}	$\ll 10^{-4}$	-
S-Bcl	-	-	3.93×10^{-3}
Creatina	3.60×10^{-3}	8.26×10^{-3}	3.00×10^{-3}
Creatinina	9.44×10^{-3}	8.51×10^{-3}	4.10×10^{-3}
PVP	$\ll 10^{-4}$	7.63×10^{-3}	$\ll 10^{-4}$

Toate măsurătorile au fost efectuate la 25°C; toate valorile reprezintă media a 10 determinări.

Aplicații analitice

Electrozii potentiometrici enantioselectivi pot fi utilizați cu succes la determinarea enantiopurității butaclamolului – substanța activă sau din produsele farmaceutice corespunzătoare și din probe biologice cum ar fi probele de ser. Determinarea unui enantiomer în prezența celuilalt s-a făcut pentru a demonstra că indiferent de raportul în care aceștia se găsesc într-o soluție, electrozii pot fi utilizați cu succes la testele de enantiopuritate (Tabelele 3 și 4).

Tabelul 3

Determinarea S-butaclamolului in prezenta R-butaclamolului.

S:R (mol/mol)	Determinarea S-Butaclamolului, %	
	Electrod bazat pe	
	MD I	MD II
2:1	98.90±0.02	100.00±0.01
1:1	100.00±0.01	99.01±0.02
1:2	99.75±0.01	98.89±0.01
1:4	99.65±0.02	99.40±0.02
1:9	99.24±0.01	99.47±0.01

Toate masuratorile au fost efectuate la 25°C; toate valorile reprezinta media a 10 determinari.

Tabelul 4

Determinarea R-butaclamolului in prezenta S-butaclamolului.

R:S (mol/mol)	Determinarea R-Butaclamolului, %
	Electrod bazat pe III
2:1	99.21±0.01
1:1	99.43±0.01
1:2	100.00±0.01
1:4	99.23±0.01
1:9	100.00±0.01

Toate masuratorile au fost efectuate la 25°C; toate valorile reprezinta media a 10 determinari.

Rezultatele obtinute pentru enantioanaliza butaclamolului in probe de ser: $97.42 \pm 0.25\%$ si $97.02 \pm 0.30\%$ pentru proba 1 respectiv $95.85 \pm 0.50\%$ si $96.50 \pm 0.31\%$ pentru proba 2 cand S-butaclamolul a fost determinat utilizand electrozii bazati pe MD I si MD II; si $92.00 \pm 0.30\%$ in proba 3 si $91.85 \pm 0.25\%$ in proba 4 cand R-butaclamolul a fost determinat utilizand electrodul bazat pe MD III.

CONCLUZII

Electrozii propusi prezinta mari avantaje fata de metodele standard cum ar fi metodele cromatografice si spectrometrice, cand sunt utilizati pentru enantioanaliza produselor

farmaceutice. Constructia senzorului este simpla, rapida si reproductibila, asigurand fiabilitatea informatiei analitice obtinute. Selectivitatea si enantioselectivitatea electrozilor a facut posibila utilizarea lor la determinarea butaclamolului in produse farmaceutice si probe biologice.

BIBLIOGRAFIE

1. Meltzer, H.Y., What's atypical about atypical antipsychotic drugs? 2004 Current Opinion Pharmacol. 4, 53-57.
2. Newman-Tancredi, A.; Gavaudan, S; Conte, C.; Chaput, C.; Touzard, M.; Verrielle, L.; Audinot, V.; Millan, M.J. Agonist and antagonist actions of antipsychotic agents at 5-HT_{1A} receptors: a [³⁵S]GTPγS binding study. 1998 Eur. J. Pharmacol. 355, 245-256.
3. Aboul-Enein, H.Y.; Hefnawy, M.M., Chiral analysis of butaclamol enantiomers in human plasma by HPLC using macrocyclic antibiotic (vancomycin) chiral stationary phase and solid phase extraction. 2004 Chirality, 16, 147-152.
4. Aboul-Enein, H.Y.; Wainer, I.W. The Impact of Stereochemistry on Drug Development and Use, Wiley, New York, 1997.
5. Hasegawa, J.; Hurwitz, A.; Krol, G.; Davis, R. Analysis of butaclamol in serum by fluorescence induction. 1976 J. Pharm. Sci., 65, 508-511.
6. Stefan, R.I.; van Staden, J.F.; Aboul-Enein, H.Y. Electrochemical sensors in bioanalysis, Marcel Dekker, New York, 2001.