

CONTRIBUȚII LA DOZAREA NAPOTONULUI DIN URINĂ

Eva Balogh, Maria Kincses Ajtay

Napotonul (Clordiazepoxid, Librium, Librax etc.) este un medicament psihotrop răspîdit în ultimii ani și la noi în țară, care se întrebunțează în neuro-psihiatric în primul rînd ca anxiolitic și antidepresiv.

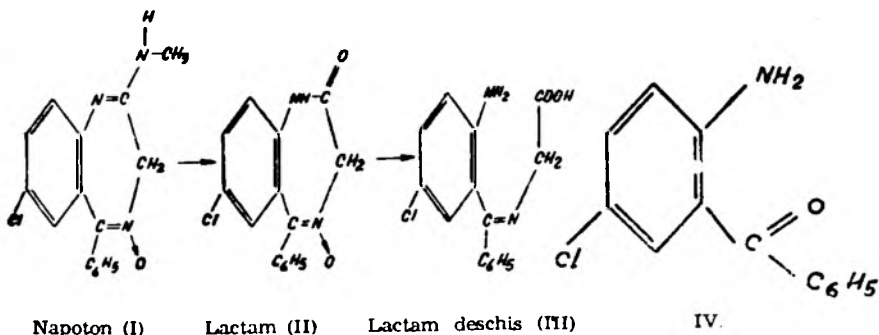
Din punct de vedere chimic este un derivat al azepinei: 7-clor-2-metil-amino-2-fenil 3H-1, 4-benzodiazepin-4-oxid. De obicei este comercializat sub formă de clorhidrat, care se prezintă ca o pulbere cristalină albă, solubilă în apă, cu punctul de topire la 230°C. În soluție apoasă este instabilă, datorită produșilor de hidroliză sub influența luminii se colorează în galben. Ca bază liberă este solubilă în solvenți organici.

A acțiunea farmacologică a Napotonului este vast tratată în literatura de specialitate (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Toxicitatea lui este redusă, DL₅₀p.o.: 1315 mg/kg pentru șobolani (1). La animalele de experiență, procedînd la administrarea cronică a Napotonului nu s-au observat modificări toxice în tabloul sanguin, în sistemele enzimatice serice, în funcțiile hepatice sau în țesuturi (3, 6). Efectele lui secundare în cursul tratamentului sînt minime (grefuri, obstipație, amețeală, somnolență, iritabilitate, ușoară ataxie), de obicei se datoresc supradozării și dispar repede la întreruperea administrării medicamentului (9). În literatură s-a menționat un singur caz de agranulocitoză, ce s-a ivit în urma unui tratament îndelungat cu Napoton.

Metabolismul Napotonului a fost studiat în primul rînd de *Randall*, apoi de *Koechlin* și *Schwartz*. Experiențele efectuate cu Clordiazepoxid marcat cu C¹⁴ au arătat că la șobolani din doza administrată 45% se elimină prin urină, iar majoritatea lui este excretat prin fecale. În timp ce la șobolani eliminarea are loc în decurs de 48 de ore, la om acest proces necesită un timp mai îndelungat. Astfel din doza administrată 60% se elimină în decurs de 2 săptămîni prin urină, iar 20% din el se poate evidenția din fecale timp de 10 zile (1, 11). Ritmul eliminării variază și în funcție de individ. (13).

Numai o mică parte (1—2%) a Napotonului se elimină ca atare, restul se metabolizează repede în organism. Astfel la om după 22—24 ore, la șobolani după 4—6 ore se va găsi numai jumătate din doza administrată (1).

Metabolizarea Napotonului are loc prin hidroliză. În primul rînd prin desprinderea grupării metilaminice, "el se transformă în lactam, care prezintă încă proprietăți farmacologice — asemănătoare cu ale Napotonului. Pe urmă, prin ruperea nucleului diazepinic se transformă într-un lactam deschis, care este deja inactiv din punct de vedere farmacologic.



Cei doi metaboliți (II, III) se găesc în urina umană. (12). În mediu acid produsul III se transformă în 2-amino-5-clorobenzofenon (IV). (13, 14).

Deși toxicitatea Napotonului este redusă, s-au ivit numeroase intoxicații în urma ingerării cantităților masive (2—3000 mg) de Napoton în scop de sinucidere. Cu toate că nu sînt cunoscute pînă în prezent intoxicații mortale, totuși trebuie pusă problema identificării și determinării toxicologice a Napotonului din materiale biologice.

În literatura de specialitate am găsit rela'iv puține date referitoare la această problemă.

În general calitativ se identifică prin metoda cromatografiei în strat subțire. Napotonul și metabolitul II se evidențiază cu reactivul Munier dînd spoturi colorate în roșu portocaliu. După un alt procedeu printr-o hidroliză preliminară se transformă în produsul IV, care prin diazotare și cuplare cu β naftol dă spoturi colorate în roșu (13, 14). Smyth recomandă metoda microcristalografică pentru identificarea Napotonului din resturi de medicamente. (15).

Napotonul pur poate fi determinat cantitativ prin metoda spectrofotometrică (avînd în soluție de HCl 0.1 N un maximum de absorbție în ultraviolet la 245 m μ). Alți autori recomandă în acest scop metoda polarografică (16). În cazul examinărilor din materiale biologice, care conțin mai ales metaboliții Napotonului este mai recomandabilă metoda colorimetrică bazată pe diazotarea produsului de hidroliză IV. (13, 14). Dacă materialul biologic (urină, ser) este supus unei hidrolize directe metoda permite dozarea cantității totale de Napoton și a metaboliților săi. Pentru a putea determina cantitatea Napotonului nemodificat, se procedează la extragerea lui prealabilă din materialul de analizat și apoi se supune hidrolizei.

Hidroliza are loc în prezența HCl prin încălzire. Pentru acest procedeu *Baumler* recomandă un mediu cu pH 1, iar *Pribilla* cu pH 4. Produsul 2-amino-5-clorobenzofenon format poate fi extras din mediu alcalin cu eter sau cloroform (13, 14). După diazotare cuplarea se face cu β naftol alcalin sau N-1-naftiletilendiamină-dihidroclică. Cu această metodă în urina bolnavilor s-a obținut 6—7% din cantitatea de Napoton administrată în tot cursul (4—14 zile) eliminării lui (13).

Partea experimentală

Pentru identificarea și dozarea Napotonului total din urină am folosit metoda colorimetrică amintită, cu anumite modificări.

În prima variantă s-a folosit pentru hidroliză HCl 36%, lichidul de cercetat avînd pH 1. În acest caz însă și în urina normală se formează a serie de produși de descompunere, care cu metoda folosită dau și ele rezultate pozitive. În continuare hidroliza s-a făcut după indicațiile lui *Pribilla* la pH 4, care asigură hidroliza Napotonului fără producerea altor produși de descompunere, care ar putea perturba determinarea. Pentru extragerea cît mai completă a produsului de hidroliză, extracția cloroformică s-a efectuat atît din mediu acid, cît și alcalin. Pentru cuplarea diazoderovatului s-a folosit α naftilamină.

Metoda de lucru

Din urina de cercetat 100 ml se acidulează cu HCl 10%, pînă la un pH 4, și se hidrolizează prin fierbere timp de 2 ore într-un balon prevăzut cu refrigerent reflux. După răcire se extrage de 2 ori cu cîte 20 ml cloroform din mediu acid, apoi după ce se alcalinizează cu NaOH pH 10, se repetă extracția cloroformică. Extractele unite se usucă cu Na_2SO_4 sicc și se filtrează prin hirtie de filtru. Se adaugă 10 ml HCl 10% și se încălzește pe baie de apă pînă la evaporarea solventului. Dacă este cazul, reziduu acid se supune unei purificări ulterioare. În acest scop lichidul se recalcalinizează și se repetă procedeele de mai sus.

Lichidul rămas după evaporarea cloroformului se trece într-un balon cotat de 25 ml și se încălzește timp de 30 de minute la o temperatură de 125°C ($\pm 5^\circ$).

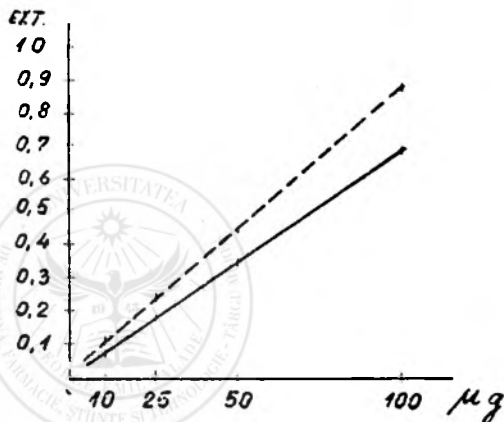
în vederea unei hidrolize complete. După răcire se efectuează diazotarea: se adaugă 1 ml sol. 0.1% NaNO_2 , iar după 10 minute 1 ml sol. 10% uree. După un repaus de 10 minute se tratează cu 1 ml sol. alcoolică 1% α naftilamină și se menține timp de 5 minute pe baia de apă în fierbere, apoi se completează cu apă distilată până la semn. După 30 de minute se fotometrează (fotometru Pulfrich) în cuva de 2 ml, folosind filtrul spectral S_{53} . Măsurind extincția, se determină cantitatea de Napoton interpolând pe curba etalon.

Pentru pregătirea curbei etalon s-a folosit o soluție standard de Napoton (100 $\mu\text{g/ml}$), din care s-au preparat diluții conținând 10, 25, 50, 100 și 200 μg Napoton și care au fost supuse hidrolizei și diazotării în condiții asemănătoare probei. Curba etalon respectă legea Lambert-Beer pentru valori cuprinse între 10 și 100 μg Napoton.

Pentru verificarea exactității metodei, curba etalon a fost efectuată și cu probe de urină. În acest caz cantitățile amintite din soluția standard au fost adăugate la cîte 100 ml urină, executîndu-se determinări analoage probei. Curbele etalon obținute sînt reprezentate în graficul nr. 1.

După cum reiese din grafic, curba etalon obținută cu probe de urină este mai aplatizată, ceea ce înseamnă că în cazul determinărilor din materialele biologice trebuie să se țină cont de o oarecare pierdere din substanța de analizat. Folosind metoda descrisă, pierderile înregistrate (10—15%) sînt mai mici față de cele găsite în literatura studiată, (13).

În continuare am determinat cantitatea Napotonului și a metaboliților săi în urina de 24 de ore a persoanelor, cărora în prealabil li s-a administrat cîte o tabletă (10 mg) de Napoton. Rezultatele obținute sînt trecute în tabelul de mai jos.



----- Napoton în soluție apoasă
 ————— Napoton în urină

Nr. crt.	mg Napoton administrat	ml urină de 24 ore	μg Napoton găsit		
			în 100 ml urină	în urină de 24 de ore	%
1.	10	700	59	394	3.94
2.	10	700	49	343	3.43
3.	10	900	27	243	2.43
4.	10	2000	23	460	4.60
5.	10	700	35	245	2.45
6.	10	800	40	320	3.20
media					3.34

După cum reiese din tabel în primele 24 de ore în urină s-a putut determina un procent de 3.34% din cantitatea totală de Napoton administrat. Vom continua cercetările noastre studiind metabolismul și ritmul eliminării Napotonului din organism.

Concluzii

Napotonul și metaboliții săi se transformă prin hidroliză acidă în 2-amino-5-clorobenzofenonă, care poate fi determinată cantitativ prin metoda colorimetrică sub formă de azoderivat.

Metoda este sensibilă, specifică și se poate aplica în practica toxicologică pentru determinarea cantităților minime (10 μg) de Napoton din materiale biologice.

Sosit la redacție: 4 octombrie 1967.

Bibliografie

1. RANDALL L. O.: Current Therap. Res. (1965) 7, 9, 590; 2. RANDALL L. O.: Journ. Pharmacol. (1960), 129, 163; 3. RANDALL L. O.: Dis. of the Nervous System XXII, Supl. (1961), 7, cit. Pribilla; 4. BANZIGER R. F.: Archiv. Int. Pharmacodyn. (1965), 154, 1, 131; 5. BANCIU D., OARDĂ: Intoxicațiile acute, Ed. Med. 1964, 322; 6. ZBINDEN G.: Toxicology and applied Pharmacology (1961), 3, 6, 619; 7. LOCKER A.: Experientia (1962), 18, 1, 28; 8. LOCKER A.: Experientia (1962), 18, 8, 363; 9. JENNER F.: The Lancet (1960), II, 816; 10. KAEBLING R.: J.A.M.A. (1960), 174, 14, 1863; 11. KOEHLIN B. A.: Feder. Proced. (1961), 20, 1, 171; 12. KOEHLIN B. A.: J. Pharm. and Exper. Therap. (1965), 148, 399; 13. PRIBILLA O.: Arzneimittel Forschung (1964), 14, 6, 723; 14. BAUMLER J., RIPPSTEIN S.: Helvetica Chim. Acta (1961), 4, 2208; 15. SMYTH D.: Arch. Int. Pharmacodyn. (1963), 145, 1-2, 147; 16. OELSCHLÄGER H.: Arch. der Pharmazie (1963), 296, 6, 396.