

La técnica propuesta es aplicable, con pequeñas adaptaciones, a la dosificación del fármaco en sus distintas formas farmacéuticas.

Agradecimientos.

Los autores agradecen la donación de valiosos equipos por las Embajadas de la Gran Bretaña y del Japón, que hicieron posible el estudio. Al Dr. Hugo Pereira por muestras de ácido dipropilacético. Y a los numerosos contribuyentes de muestras de plasma sanguíneo, que por muchos deberán permanecer anónimos.

BIBLIOGRAFIA

1. - *Mitruka, B. Editor. "Gas chromatographic applications in microbiology and medicine". Wiley, New York, 1977.*
2. - *Leal, K.W. y A.S. Troupin. Clin. Chem. 23, 1964 (1977).*
3. - *Anónimo. Supelco Bulletin 768A. Supelco Inc. Bellefonte, PA. 1977*
4. - *Loscher, W. Epilepsia 18, 225 (1977).*
5. - *Simon, D. y J.K. Penry, Epilepsia 16, 549 (1975).*
6. - *Gram, L., H. Flachs, A. Wurtz-Jorgensen, J. Parnas y B. Andersen, Epilepsia 20, 303 (1979).*
7. - *Meijer, J.W.A. y L. Hessing-Brand. Clin. Chim. Acta 42, 215 (1973).*
8. - *Cremers, H.M.H.G. y P.E. Verheesen. Pharm. Weekblad 109, 1 (1974).*
9. - *Dijkhuis, I.D. y Verbloet, E. Pharm. Weekblad 109, 42 (1974).*
10. - *Fontan, C.R. y H.H. Hill. J. Chromatog. 170, 249 (1979).*

CRITERIOS GENERALES PARA DOSIFICAR PREDNISONA Y PREDNISOLONA EN PREPARACIONES FARMACEUTICAS DE POLIFARMACOS

DOSIFICACION DE PREDNISONA Y PREDNISOLONA EN PRESENCIA DE ANALGESICOS

Q.F.E.C. CALVERMATER de MIRALLES
Q.F.A. IBÁÑEZ

RESUMEN

Se presenta un esquema analítico sencillo para dosificar Prednisona y Prednisolona en un gran número de asociaciones con otros fármacos. Sin embargo; en presencia de ciertos analgésicos la sistemática propuesta pierde validez. Se expone entonces, una puesta a punto de la dosificación de Prednisona y Prednisolona en una asociación con Dipirona, Fenilbutazona y un tranquilizante y/o relajante muscular (Meprobamato o Carisoprodo).

1) Criterios generales para dosificar prednisona y prednisolona en preparaciones farmacéuticas de polifármacos.

El análisis de preparaciones farmacéuticas de polifármacos es siempre para el Químico Analista un trabajo de búsqueda.

La bibliografía disponible, Farmacopeas en primer lugar y publicaciones especializadas en segundo lugar, es muy pobre en análisis de asociaciones medicamentosas.

Este hecho conocido, se debe principalmente, a que son muy pocas las asociaciones que tienen realmente significado farmaco-

clínico y además las técnicas analíticas de las especialidades (Marcas de fábrica) con polifármacos, no son publicitadas.

El trabajo dividirá el enfoque de la siguiente forma:

A) Resumen de métodos dados por diferentes farmacopeas para Prednisona, Prednisolona y algunos preparados y derivados.

B) Características de las diferentes reacciones utilizadas para dosificar Prednisona y Prednisolona. (Ampliando a otros corticoesteroides).

C) Generalizaciones de los métodos oficiales para preparaciones de mono y polifármacos.

D) Validez experimental de los esquemas propuestos.

A) RESUMEN DE METODOS DADOS POR DIFERENTES FARMACOPEAS PARA PREDNISONA, PREDNISOLONA Y ALGUNOS PREPARADOS Y DERIVADOS.

En el cuadro 1, se esquematan los métodos de algunas farmacopeas, los cuales se pueden clasificar en cuatro grandes grupos analíticos. La numeración creciente, va acompañada también con complejidad analítica en aumento. Así dentro de una misma farmacopea y en diferentes ediciones, observamos crecimiento de la numeración y nunca decrecimiento. Como es

FARM	IX Codex Fran- cés	U.S.P XVI	U.S.P XVII	U.S.P. XVIII XIX	B.P 1958	B.P 1968	B.P 1973-77	FARMC. Intern. 1967	FARM Rusa X	FARM Argen- V	FARMC Europea 1967-77
PREDNISONA	II		II	IV	I	II	II	II	I	I	II
PREDNISOLONA	II		II	IV	I	II	II	II		I	II
PREDNISONA COMPRIMIDOS		III	III	IV	I	III	III	III	I		
PREDNISOLONA COMPRIMIDOS		III	III	IV	I	III	III	III	I		
PREDNISOLONA ACETATO	II		II	IV	I			II			
PREDNISOLONA UNGUENTO		I	II								
PREDNISOLONA ACETATO SUSPENSION			III	IV							

CUADRO 1

lógico, dicha complejidad analítica corresponde a la búsqueda de métodos más específicos y precisos.

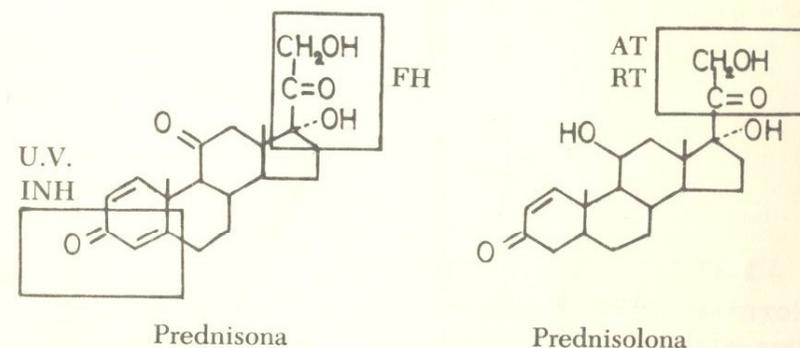
En las figuras 2,3,4 y 5 se diagramó, en forma simplificada, la secuencia de los cuatro grandes métodos.

B) CARACTERISTICA DE LAS DIFERENTES REACCIONES UTILIZADAS PARA DOSIFICAR PREDNISONA Y PREDNISOLONA (Ampliando a otros Corticoesteroides).

Dentro de la variedad de métodos de medida encontrados en la bibliografía, para dosificar corticoesteroides, se resumen las características de los más utilizados.

- 1) Medida directa en el máximo de su espectro U.V.
- 2) Reacción con Isonicotinhidrazida (INH).
- 3) Reacción con Azul o Rojo de Tetrazolio (AT o RT).
- 4) Reacción con Fenilhidrazina sulfúrica (FH).

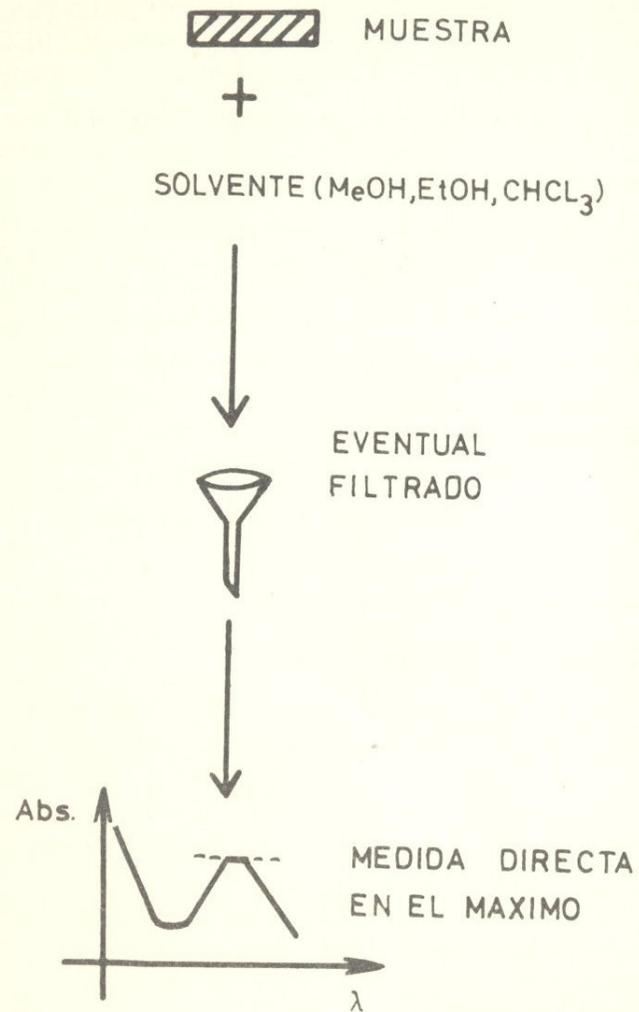
Dada la estructura de Prednisona y Prednisolona (Ver dibujo), la medida en el U.V. o reacciones, corresponde principalmente a las partes de la molécula marcadas.



Siendo la zona más lábil de la molécula la correspondiente a la cadena lateral del C-17, los dos últimos métodos serán los más específicos frente a productos de degradación (1).

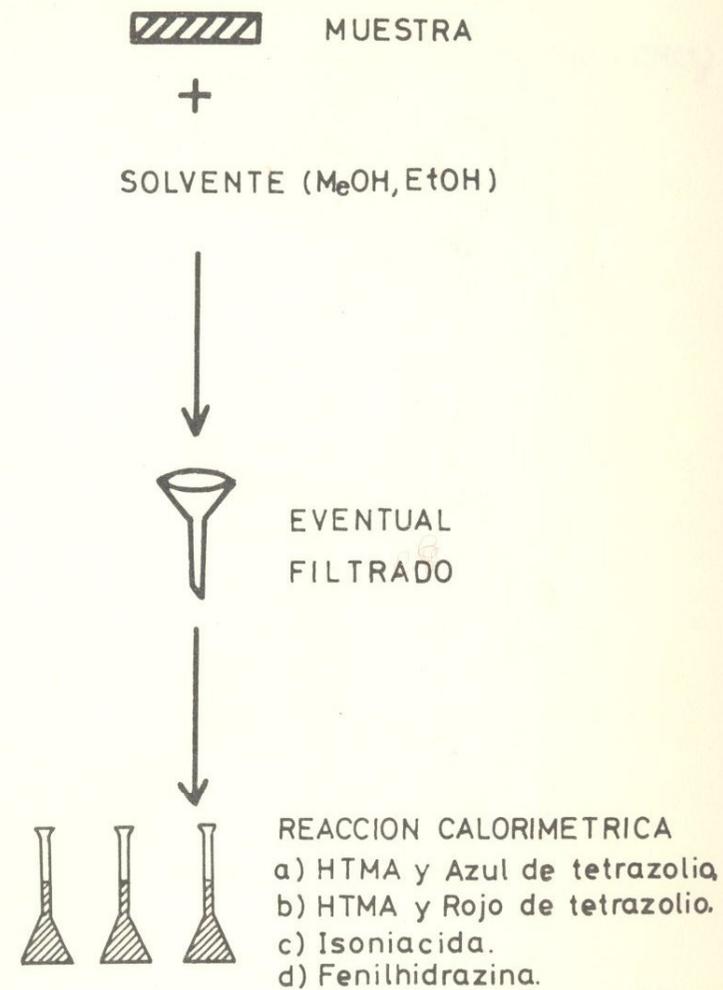
- 1) Medida directa en el máximo de su espectro U.V.
Esta medida es limitada por la absorbancia de las sustancias acompañantes. Hecho que prácticamente lo inutiliza en las preparaciones de polifármacos. Salvo que se logre un aislamiento cuantitativo.

FIGURA 2



METODO I

FIGURA 3



METODO II

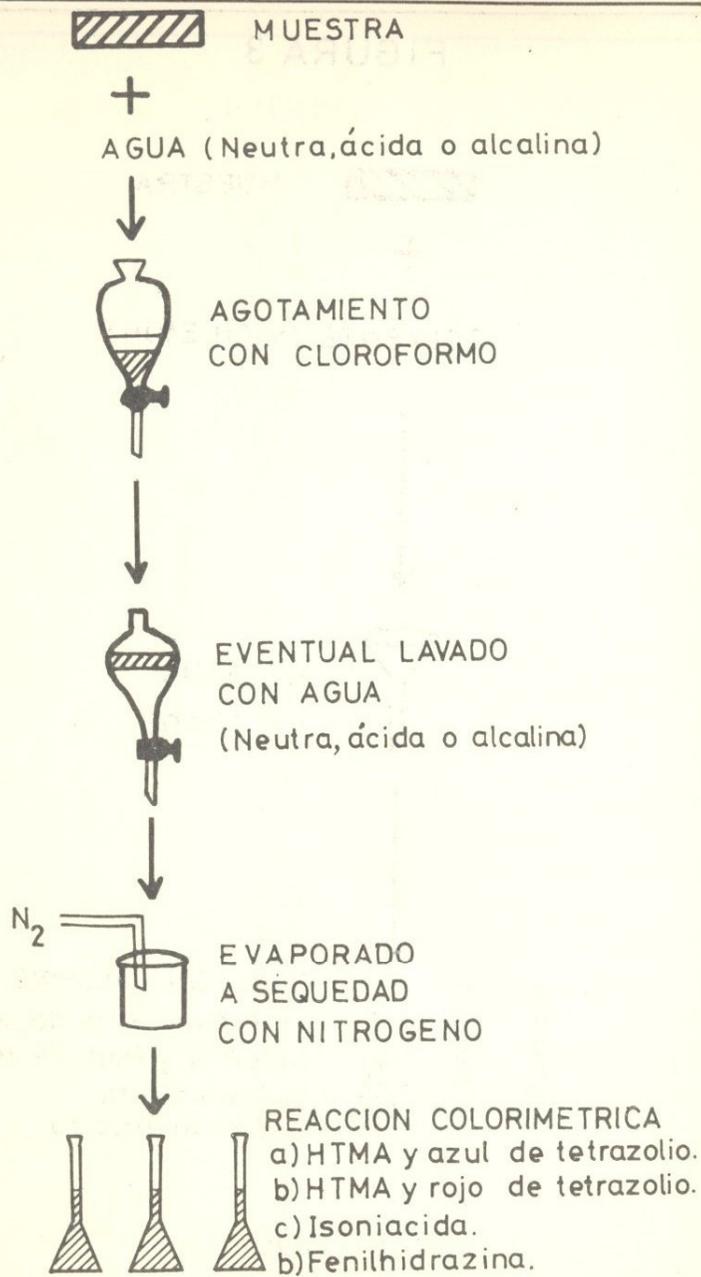
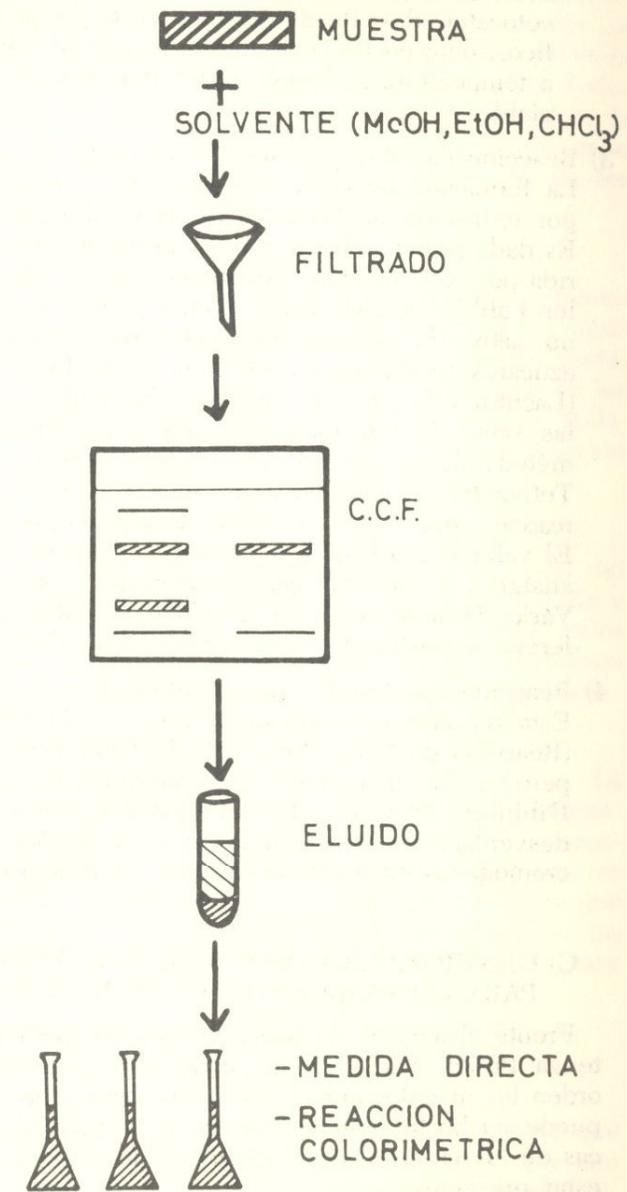


FIGURA 4 METODO III

FIGURA 5



METODO IV

2) Reacción con Isonicotinhidrazida.

Esta, corresponde a la formación de hidrazonas con los Δ^4 -3 cetoesteroides. Puede ser interferida por otros grupos cetólicos, pero en las condiciones de alcohol-clorhídrico, 1 hora a temperatura ambiente, la interferencia parece ser despreciable (2).

3) Reacción con Azul y Rojo de Tetrazolio.

La formación de color se debe a los Formazanos obtenidos por reducción de las sales de Tetrazolio en medio alcalino. Es dada principalmente por los grupos α -cetoles, pero interferida por otras muchas estructuras: Δ^4 -3 cetoesteroides (3); Fenoles Polihídricos, Quinonas, Tioles y compuestos con hidrógeno activo (4). Además sustancias reductoras, como algunos azúcares utilizados en excipientes de formas farmacéuticas (Lactosa y Fructosa entre otras), dan reacción a tal grado con las sales de tetrazolio, que Mattson (1950) (5), propone un método de dosificación de azúcares reductores con sales de Tetrazolio. La presencia de agua y el pH en el medio de reacción, son críticos, como fue demostrado por Graham (1973) (6). El valor del pH, es importante considerarlo en presencia de analgésicos, que son generalmente de carácter ácido.

Varios fármacos y excipientes han sido tabulados dando interferencias positivas o negativas con las sales de Tetrazolio (1).

4) Reacción con Fenilhidrazina sulfúrica.

Esta reacción corresponde al grupo 17,21 dihidroxi 20 Ceto (Reacción de Porter Silver) (1) (7). Tiene buena especificidad, pero se ha encontrado que determinadas estructuras 17,21 Dihidroxi 20 Ceto esteroides, no dan reacción (7). La mayor desventaja de este método, es la formación inespecífica de cromógenos en medio ácido, que interfieran en la medida (7).

C) GENERALIZACIONES DE LOS METODOS OFICIALES PARA PREPARACIONES DE MONO Y POLIFARMACOS.

Frente al análisis de una asociación de polifármacos que contenga Prednisona o Prednisolona, se recomienda seguir en el orden los métodos numerados. El descarte teórico de un método, puede ser hecho teniendo en cuenta las propiedades físico-químicas de los fármacos acompañantes y los excipientes que puedan estar presentes.

Se desarrollan a continuación las características y limitaciones de dichos métodos.

Método I.

Este método puede ser usado para fármacos puros, formas farmacéuticas con monofármacos o asociaciones en las cuales los acompañantes no tengan absorbancia en las longitudes de onda de medida (238-243 nm para Prednisona y Prednisolona). Todas las impurezas de síntesis y degradativas, están presentes en la solución de medida. Cuando se aplique este método, debe utilizarse una solución standard de referencia, en lugar de los coeficientes de extinción.

Método II.

La aplicación principal de este método, es en formas farmacéuticas plásticas (Cremas, pomadas, ungüentos, etc.). La separación de las sustancias acompañantes tiene las mismas limitaciones que el método I. La solubilización total o parcial de los productos degradativos neutros y ácidos, formados por oxidación de la cadena lateral al C-17, pueden dar, según la reacción de coloración utilizada resultados equívocos.

Método III.

En este caso, se obtiene en general buena separación del corticoesteroide de sus acompañantes. El uso de medio ácido y alcalino en la fase acuosa, permite retener hidrosolubilizados gran cantidad de fármacos y excipientes. Entre las sustancias separadas, se encuentran los productos degradativos ácidos.

Método IV

Este método es el más universal de los presentados. La selectividad que permite la C.C.F., elimina todas las interferencias acompañantes. En la mayoría de los casos, se logrará separación de los productos degradativos. Los inconvenientes, se encuentran en el equipamiento y en la manualidad analítica que requiere este método. En algunos casos, puede aplicarse las fases móviles de la U.S.P. XIX para corticoesteroides, en caso contrario debe buscarse experimentalmente.

D) VALIDEZ EXPERIMENTAL DE LOS ESQUEMAS PROPUESTOS.

De la experiencia recogida en nuestro medio, se concluye que la mayoría de las preparaciones de mono y polifármacos con Prednisona y Prednisolona (Se puede ampliar a los demás corticoesteroides), puede realizarse su análisis por los Métodos II o III. Son muy pocas las asociaciones que en un análisis de rutina

METODO II

Asociaciones en que se ha aplicado el método II con buenos resultados.

% del corticoide en la preparación	DROGAS ACOMPAÑANTES	Cantidad relativa a 5 mg de Corticoide	REACCION DE COLORACION	FORMA FARMACEUTICA
0.15	Clorhidrato de Dibucaina Hexaclorofono Undecilato de Clemizol	17 mg 17 mg 33 mg	HTMA Rojo de T.	Pomada
0.25	Cloranfenicol Maleato de Clorfeniramina.	47 mg 50 mg	HTMA Azul de T.	Ungüento
1	Vitamina A Vitamina D ₂ Ac. Bórico.	2500 UI 300 UI 10 mg	HTMA Rojo de T.	Pomada
0.05	Clorhidrato de Fenilfrina. Diclorhidrato de Lidocaina	10 mg 250 mg	INH	Ungüento
0.25	Clorhidrato de Nafazolina. Clorhidrato de Lidocaina Sulfato de Neomicina Polimixina Vitamina A Vitamina D ₂	1 mg 40 mg 5 mg 1 mg. 10.000 UI 2.000 UI	HTMA Azul de T.	Pomada
1	Nitrato de Miconazol	10 mg	HTMA Azul de T.	Pomada

FIGURA 6

HTMA = Hidróxido de tetrametil amonio.

Azul de T. = Azul de Tetrazolio.

Rojo de T. = Rojo de Tetrazolio. (Cloruro de Trifeniltetrazolio).

INH = Isoniazida (Isonicotinilhidrazina).

Las condiciones de la reacción de coloración, tiene pequeñas variaciones según la Farmacopea, se puede adoptar en forma general U.S.P. XIX.

con un $\pm 10\%$ de variación sobre la cantidad declarada, necesitan recurrir al método IV o métodos en columna, ejemplo de Diatomeas (8). Debiéndose reservar el método IV, para asociaciones como la que se verá en la segunda parte de este trabajo, o en aquellos casos que se requiere una determinación rigurosa, eliminando totalmente interferencias y productos degradativos.

En las tablas 6 y 7, se aprecian asociaciones en las cuales se ha aplicado el método II o III, con buenos resultados. ($\pm 10\%$ de la cantidad declarada del Corticoesteroide).

METODO III

Asociaciones en que se ha aplicado el método III con buenos resultados.

% o cantidad del corticoesteroide en la preparación	DROGAS ACOMPAÑANTES	Cantidad relativa a 5 mg. de cortico esteroide	REACCION DE COLORACION	FORMA FARMACEUTICA
2.5 mg/Comp	Acido Ascórbico Maleato de Clorfeniramina.	150 mg 4 mg	FH	Comprimidos
5.0 mg/Comp	Carisoprodol Fenilbutazona cálcica	200 mg 200 mg	AT	Comprimidos
1.0 mg/Comp	Fenilbutazona Clordiacepoxido	500 mg 25 mg	INH	Comprimidos
2%	Cloranfenicol Alantoína	20 mg 4 mg	AT	Crema
0.10%	Nafazolina Nitrato Tetracaina Clorhidrato.	2.5 mg 5.0 mg	AT	Suspensión

FIGURA 7

Debido a la similitud físico-química y funcional, los criterios analíticos expresados para Prednisona y Prednisolona, se pueden hacer extensivos para otros corticoesteroides 20, 21 α cetoles y Δ^4 -3 Cetoesteroides, así como algunos de sus ésteres. (Hidrocortisona, Fluorhidrocortisona, 16 Metilprednisolona, Betametasona, Capronato de prednisolona, Acetato de prednisolona, etc.)

Cuando se aplican los métodos vistos, las cantidades de las soluciones extractivas, el medio de la solución a extraer, la concentración de los reactivos de coloración y otros detalles operativos, deben ser ajustados en cada caso a las características de la preparación. Sin indicar una técnica standard, puede tomarse como referencia las condiciones de las farmacopeas mencionadas.

2) Dosificación de prednisona y prednisolona en presencia de analgésicos.

La dosificación de Prednisona o Prednisolona en comprimidos de la siguiente composición:

Prednisona o Prednisolona	2.5 mg
Fenilbutazona u Oxifenbutazona	200,0 mg
Dipirona	200,0 mg
Carisoprodol o Meprobamato	200,0 mg

no puede realizarse por los métodos I, II o III vistos en la primera parte de este trabajo.

Los resultados obtenidos por la aplicación del método III, usando como reacción final de coloración Azul de Tetrazolio o Isonicotinhidrazida, variaron entre 11.2 y 175,8% la cantidad de Prednisona o Prednisolona que contenía la muestra.

La explicación probable de resultados tan dispares, está dada por la interferencia principal de la Dipirona y el cambio de pH producido por la presencia de las sustancias acompañantes. La no interferencia de la Fenilbutazona asociada a Prednisolona o Prednisona, usando como reacción final al Azul de Tetrazolio, ya se había demostrado en la primera parte de este trabajo (Ver cuadro 7) y también en la bibliografía consultada⁽⁹⁾. La poca o

nula interferencia del Meprobamato y Carisoprodol se verificó experimentalmente (Carisoprodol ver cuadro 7). La Oxifenbutazona, en cambio, muestra un aumento de la Coloración obtenida con el Azul de Tetrazolio o la INH; pero en ambos casos el aumento es menor del 3%.

No se pudo obtener en ningún caso por aplicación del método III, resultados aceptables.

La aplicación del Método IV, se intentó primero con las fases móviles de la U.S.P XIX para corticoesteroides. La separación no fue buena obteniéndose nuevamente resultados discordantes.

El uso de Acetato de Etilo como fase móvil, permite una adecuada separación de Prednisona o Prednisolona de Fenilbutazona, Oxifenbutazona, Dipirona, Salicilamida, Carisoprodol y Meprobamato. (Ver dibujo 8).

C.C.F

Placa de Silica Gel G-HR 254 U.V. 0.5 mm de espesor.

Fase móvil: Acetato de Etilo.

Placa activada 2 hs a 105° C. en el momento anterior al uso.

Rf aproximados (Promedio de varias corridas).

FENILBUTAZONA
OXIFEMBUTAZONA
SALICILAMIDA
PREDNISOLONA
PREDNISONA
DIPIRONA Mancha A
Mancha B

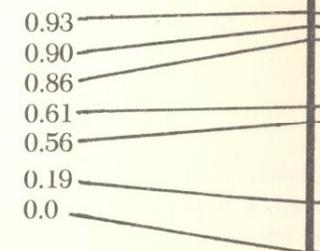


FIGURA 8

Parte Experimental

1) Reactivos y Equipo.

Espectrofotómetro PYE UNNICAM SP 500 serie 2.
Placas de Silica Gel MN Kieselgel G-HR UV 254. 0.5 mm de espesor.

Acetato de Etilo J.T. Baker.
 Cloroformo anhidro "PHOTREX" J.T. Baker.
 Azul de Tetrazolio Merck
 Hidróxido de Tetrametilamonio Merck.
 Alcohol Absoluto A.N.C.A.P.

2) Método

a) La demostración de la función del PH explicando valores bajos en la dosificación de Prednisolona o Prednisona por el método III, queda clara en la siguiente experiencia. Disolver los cuatro principios activos en etanol y realizar la reacción con Azul de tetrazolio e Hidróxido de Tetrametilamonio (En cantidades de la U.S.P XIX), da una coloración casi nula, pero su alcalinización con Hidróxido de Sodio al 36%, da mayor coloración que la debida exclusivamente al corticoesteroide. Estos hechos son coherentes con la bibliografía (6) y los resultados obtenidos.

b) La dosificación del corticoesteroide en la preparación de polifármacos propuesta, se realizó sobre una preparación realizada por pesada exacta de los componentes del comprimido.

Una toma de polvo, fue tratada con Cloroformo anhidro, se filtró por placa porosa G 3. Se llevó a una concentración de 250 mg/ml (*) en Cloroformo. Se sembraron en banda, 0.5 ml de esta solución. Placa de 0.5 mm recién activada. La no activación reciente de la placa, produce malas separaciones. Fase móvil Acetato de Etilo. Corrida 17-18 cm. Revelado luz U.V. 254 nm. Se eluye en etanol absoluto y se realiza la reacción con Azul de Tetrazolio según U.S.P XIX. (Ver dibujo 9).

Resultados

De las cantidades colocadas de Prednisona, se obtuvieron los siguientes porcentajes de recuperación 1) 98.3 2) 93.5 3) 94.7 4) 102.0%. Promedio 97.1%.

(*) del corticoide.

Dibujo de la C.C.F. para el extraído del problema. Condiciones de placa y corrida, especificadas arriba.

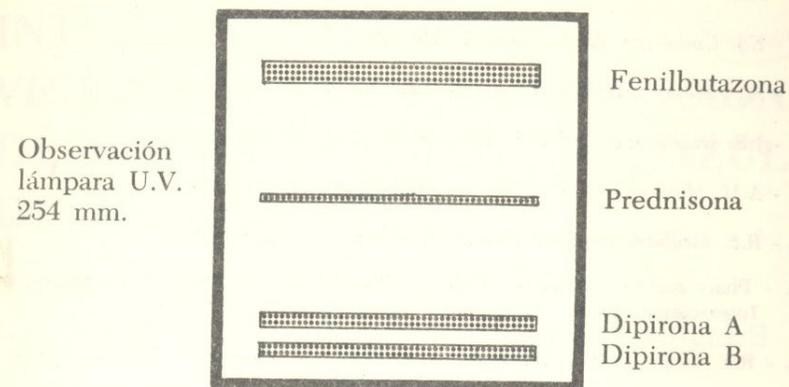


FIGURA 9

Resultados obtenidos en la preparación problema. Posterior a la elución y reacción con el HTMA y Azul de tetrazolio.

1) 98.3%	Porcentajes de recuperación de las cantidades colocadas.
2) 93.5 %	
3) 94.7%	
4) 102.0%	

FIGURA 10

Conclusiones

La aplicación del método IV, con una adecuada fase móvil, permite la resolución del problema planteado y también a mezclas con Salicilamida. La interferencia de la Salicilamida en la reacción con Azul de Tetrazolio, ha sido marcada por la bibliografía (6), y puede también resolverse por este método.

AGRADECIMIENTOS

Dra. Q.F. Sara R. Cambón. Laboratorio Hoechst.
 Q.F. Nilda Gardini, Laboratorio Galien. Por la bibliografía consultada. Y a todos aquellos colegas que colaboraron en la presentación de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. - R.E. Graham, P.A. Williams and C.T. Kenner. *J. Pharm. Sci.* 59, 1152 (1970)
2. - E.J. Umberger. *Anal. Chem.* 27,768 (1955).
3. - A.S. Meyer and M.C. Lindberg. *Anal. Chem.* 27,813 (1955).
4. - J.E. Sinsheimer and E.F. Salim. *Anal. Chem.* 37,566 (1965).
5. - A.M. Mattson and C.O. Jensen. *Anal. Chem.* 22,182 (1950).
6. - R.E. Graham and C.T. Kenner. *J. Pharm. Sci.* 62,103 (1973).
7. - *Pharmaceutical Analysis*. Edit. T. Higuchi and E. Brochmmam Hanssen. Interscience 1961.
8. - R.E. Graham, P. Williams and C.T. Kenner. *J. Pharm. Sci.* 59, 1472 (1970).
9. - M. Costa Reis e O. Pinto. *Revista Portuguesa de Farmacia.* 19,55 (1969).

Farmacopeas mencionadas en el cuadro N° 1



INTERFERENCIA DEL VIOFORMO EN LA DOSIFICACION DE HIDROCORTISONA CON AZUL DE TETRAZOLIO

Q.F. EVANGELINA CALVERMATER DE MIRALLES

RESUMEN

Al dosificar la hidrocortisona, en presencia de 5-cloro-8-Hidroxi-7-iodoquinolina, con azul de tetrazolio (reacción de alfa-cetol) se constató una disminución en la formación del formazán con una correspondiente disminución de la absorbancia a 525 nm.

INTRODUCCION.

En primer lugar debo comunicarles que dicho estudio se efectuó en la preparación farmacéutica pomada.

Dicha preparación consta de dos principios activos:

1º) la 5-cloro-7 yodo-8 hidroxiquinolina, cuyo nombre genérico es el de Vioformo. Sus usos terapéuticos son: amibicida intestinal, tricomonocida y como antiséptico local.

Este último uso es el que da origen a la preparación de dicha forma farmacéutica.

2º) la Hidrocortisona, hormona obtenida de la corteza suprarrenal o preparada sintéticamente. Cualitativamente tiene las mismas propiedades y uso que la cortisona. Tanto el alcohol como