

Análisis por solubilidad de fases del lobenzarit disódico

Nancy Alberto-Pizarro, Lauro Nuevas-Paz* y Ulises Jáuregui-Haza.

Centro de Química Farmacéutica, Calle 200 y Avenida 21, Reparto Atabey, Playa, Apartado Postal 16042, Ciudad de La Habana, Cuba. email: lauro.nuevas@cqf.sld.cu

Recibido: 4 de diciembre de 2007. Aceptado: 15 de febrero de 2008.

Palabras clave: ácido 4-cloro-2,2'-iminodibenzoico, sal disódica de lobenzarit, análisis por solubilidad de fases, material de referencia químico, determinación de pureza.

Key words: 4-chloro-2,2'-iminodibenzoic acid, disodium lobenzarit salt, phase solubility analysis, chemical reference substances, purity determination.

RESUMEN. El análisis cuantitativo de medicamentos necesita, en muchos casos, del uso de materiales de referencia químicos de pureza conocida. La pureza de un material de referencia se evalúa mediante el uso de métodos absolutos de análisis químico. Dentro de ellos, se encuentra el análisis por solubilidad de fases, el cual tiene la ventaja que no requiere conocer la naturaleza de las impurezas. La utilización de este método está limitada por el cuidado que se debe tener con los sistemas de disolventes, los tiempos de equilibrio y el intervalo de peso de la muestra. Sin embargo, es relativamente simple de optimizar, si se cuenta con el equipamiento necesario del que se dispone normalmente en un laboratorio analítico. El lobenzarit, ácido 2-[(2-carboxifenil)amino]-4-clorobenzoico, pertenece a la familia de los fenamatos; se comercializa como sal disódica y se utiliza en el tratamiento de la artritis reumatoide. En este trabajo, se utilizó el método de análisis por solubilidad de fases para determinar la pureza del lobenzarit disódico para ser utilizado como material de referencia químico. La solubilidad y el tiempo de equilibrio del lobenzarit disódico fueron estudiados para varios disolventes y en mezclas preparadas con agua a las temperaturas de 20 y 40 °C. El sistema de disolventes y la temperatura del análisis fueron seleccionados de forma tal que la solubilidad del lobenzarit disódico estuvo en el intervalo de 4 a 25 mg de soluto por gramo de disolvente y el tiempo en que se alcanzó el equilibrio fue el mínimo. Los datos fueron ajustados por el método de los mínimos cuadrados, lo que brindó un coeficiente de correlación superior al 0,99. La pureza del lobenzarit disódico determinada fue del 99,61 %.

ABSTRACT. Assay of drugs needs in most cases the uses of Chemical Reference Substances of know purity. The purity of CRS is evaluated by absolute methods. Phase solubility analysis has the advantage of being an absolute method and it does not require knowledge of the nature of the impurities. Lobenzarit, 2-[(2-carboxifenil)amino]-4-chlorobenzoic acid, is from fenamate family. The commercial drug is prepared as the disodium salt and used in the treatment of rheumatoid arthritis. In this work phase solubility analysis was used to establish the purity of lobenzarit disodium standard. The solubility and the equilibrium time of lobenzarit disodium were studied in several solvents and its mixtures with water at 20 and 40 °C. Solvent system and temperature of the analysis were chosen such that solubility of lobenzarit disodium was in the range 4-25 mg of solute per gram of solvent and the reached equilibrium time was minimal. Data were analysed by the least squares method with a resulting correlation coefficient better than 0.99. The purity found for lobenzarit disodium was 99.61 %.

INTRODUCCIÓN

El análisis cuantitativo de medicamentos necesita, en muchos casos, del uso de materiales de referencia químicos de pureza conocida. La pureza de un material de referencia se evalúa a través de métodos absolutos de análisis químico, lo cual adquiere una especial importancia en el análisis farmacéutico moderno. Dentro de estos métodos absolutos se encuentra el análisis por solubilidad de fases (ASF),¹ esta técnica fue descrita en 1920 y perfeccionada por Mader² en 1954 y desde entonces

permanece casi inalterable. Se basa en el principio termodinámico de que una disolución saturada no altera su composición con la adición de más sólido a temperatura constante.¹ Sin embargo, si una o varias impurezas están presentes, la composición de la disolución va a cambiar en la medida en que se incrementa la cantidad de sólido que se le añade hasta que esta se sature con respecto a cada componente.¹ El experimento consiste en equilibrar varias cantidades del sólido en la misma cantidad del disolvente a temperatura constante y pos-

*Correspondencia:

Ing. Lauro Nuevas-Paz

Centro de Química Farmacéutica, Calle 200 y Avenida 21, Reparto Atabey, Playa, Apartado Postal 16042, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: lauro.nuevas@cqf.sld.cu

teriormente determinar su peso en la disolución.¹ La pureza del sólido se determina mediante el empleo del gráfico de solubilidad de fases que relaciona la composición de la disolución (miligramos de soluto/gramo de disolvente) *versus* la composición del sistema (miligramos de muestra/gramo de disolvente). A continuación, se determina la pendiente de cada uno de los segmentos que se observan en el gráfico por el método de los mínimos cuadrados y se restan al valor teórico del 100 %. Las ventajas que posee es que no requiere del conocimiento previo de la naturaleza de las impurezas y que a través de ella, se pueden obtener los datos de solubilidad del compuesto de interés, así como de las impurezas presentes.¹ Otra ventaja es que por su simplicidad puede realizarse con el equipamiento normal de cualquier laboratorio del país. Entre algunos de los problemas asociados con el método para ser empleado en la práctica común se tiene: que el sistema de disolventes a seleccionar debe ser específico para la sustancia a analizar. No es adecuado para determinar la pureza de mezclas líquidas, así como para el análisis de sólidos que forman suspensiones y por último, es un método laborioso que requiere de una cuidadosa manipulación. No obstante, es el recomendado junto con la calorimetría diferencial de barrido, para la determinación de la pureza de los materiales de referencia químicos por la Organización Mundial de la Salud (WHO)³ y la Farmacopea de los Estados Unidos (USP).⁴ El método no solo se ha utilizado en el análisis cuantitativo,^{5,6} sino también, para la purificación de compuestos⁷ y en los últimos años, para estudiar la solubilidad, estequiometría, estabilidad e interacciones de los complejos formados por diversas drogas poco solubles en medios acuosos con distintos tipos de compuestos que se utilizan para aumentar su solubilidad respectiva en estos medios, por ejemplo, las ciclodextrinas.⁸⁻¹¹

El lobenzarit, ácido 2-[(2-carboxifenil)amino]-4-clorobenzoico, pertenece a la familia de los fenamatos, es similar en estructura a los ácidos flufenámico, mefenámico y meclofenámico. Es preparado como sal disódica y se utiliza en el tratamiento de la artritis reumatoide.¹²

El objetivo de este trabajo consistió en determinar la pureza del lobenzarit disódico por ASF, para ser certificado como material de referencia químico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

El lobenzarit disódico fue sintetizado y purificado en los laboratorios de síntesis orgánica del Centro de Química Farmacéutica para ser evaluado y certificado como material de referencia químico primario. Su identidad fue confirmada por Resonancia Magnética Nuclear (RMN), Espectroscopia Infrarroja (IR) y Espectrometría de Masas (EM). Todos los disolventes y reactivos empleados fueron suministrados por Merck (Alemania) y de calidad puro para análisis.

Equipos

Para el análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), se empleó un equipo compuesto por una bomba inteligente modelo L-6200 (Merck-Hitachi, Alemania), un detector de arreglo de diodos (DAD) modelo L-3000 (Merck-Hitachi), detector de índice de refracción (KNAUER, Alemania), ambos acoplados a una computadora provista de los programas: HPLC Manager (Merck-Hitachi) y Biocrom ver. 1.3 (Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba) para la adquisición

de los datos provenientes de los detectores de arreglo de diodos y de índice de refracción, respectivamente.

Los estudios de solubilidad, equilibrio y de solubilidad de fases, se realizaron en una zaranda (Retomed, Cuba) acoplada a un baño de temperatura constante (modelo K15-DC3, Haake, Alemania). Las muestras se pesaron en una balanza analítica A200S (Sartorius, Alemania) con precisión $\pm 0,1$ mg. Para el secado se empleó una estufa de recirculación de aire (Mettler, Alemania).

Análisis por cromatografía líquida de alta resolución

La separación cromatográfica se efectuó según el procedimiento desarrollado por Nuevas y cols.¹³ En una columna Superspher 100 RP-18 (Merck, Alemania) de 125 mm de largo y 4,6 mm de diámetro con un tamaño de partícula de 5 mm. La fase móvil empleada contiene acetonitrilo, agua y ácido acético glacial en las proporciones siguientes 50 : 50 : 0,1 (v/v). La determinación se realizó en un intervalo de longitud de onda de 200 a 560 nm y a un flujo de 1 mL/min. La concentración de la muestra inyectada fue de 1 mg/mL.

Estudio de la solubilidad y del tiempo de equilibrio

Para seleccionar el disolvente, la temperatura y el tiempo del análisis, se colocaron 4,0 g de lobenzarit disódico y 100 mL de etanol, tetrahidrofurano, acetona y sus mezclas con 10, 30, 50, 60, 70, 80 90 % (v/v) de agua en un vaso de reacción a 20 y 40 °C. Se tomaron muestras de 5 mL de cada una de las disoluciones con una pipeta a 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 36, 48, 72 y 96 h de iniciado el experimento. Las alícuotas se filtraron a través de un filtro de membrana de 0,45 μ m y 3 mL del filtrado se transfirieron a pesafiltros previamente tarados. Posteriormente, fueron colocados en la estufa y secados a 105 °C hasta peso constante. La solubilidad del lobenzarit disódico para cada una de las mezclas se determinó por diferencia entre el peso inicial y final del pesafiltro. Para cada experimento se realizaron tres réplicas, el error relativo fue menor del 2 % para cada una de las determinaciones efectuadas.

Análisis por solubilidad de fases

El ASF se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito por Mader.² En ampollitas de vidrio de 15 mL de capacidad se pesaron exactamente alrededor de 2,5; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35 y 40 mg de lobenzarit disódico y a cada una se le adicionaron 5 g de la mezcla del disolvente seleccionado en el estudio de solubilidad. Todas las ampollitas se sometieron a idénticas condiciones de agitación (450 min⁻¹) y temperatura (40 °C). La cantidad de lobenzarit disuelto se determinó por gravimetría de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSION

Con el objetivo de precisar la pureza aproximada del producto en estudio, se realizó un análisis por CLAR. La presencia de un solo pico homogéneo con un tiempo de retención de 9,16 min en los cromatogramas obtenidos para los dos detectores empleados indicó la presencia de un compuesto de una elevada pureza (Fig. 1).

El lobenzarit resultó insoluble en etanol, tetrahidrofurano y acetona. Los resultados coincidieron con los reportados por Suzuki y cols.,¹⁴ sin embargo, resultó soluble en cada una de las mezclas de los disolventes anteriores con agua en las proporciones estudiadas (Tabla 1). En las mezclas tetrahidrofurano-agua se observó la aparición de una coloración rosada al cabo de las 48 h. Esta

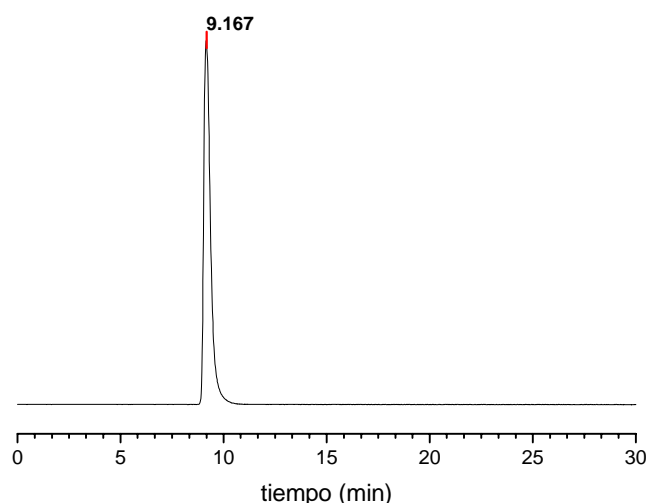


Fig. 1. Cromatograma obtenido para el lobenzarit disódico.

probablemente se debe a cambios físico químicos en el sistema. Por este motivo, se decidió eliminar a la mezcla tetrahidrofurano-agua como disolvente en la determinación. Por otro lado, se pudo observar que la solubilidad del lobenzarit disódico es más elevada en las mezclas acetona-agua que en las de etanol-agua. El tiempo en que se alcanzó el equilibrio para ambas mezclas fue de 24 h.

Para realizar el análisis por solubilidad de fases se seleccionó la mezcla etanol-agua [50 : 50 (v/v)] a 40 °C. La selección se realizó teniendo en cuenta dos factores, el primero es el criterio de Mader¹ que reporta, como solubilidad óptima de la sustancia para realizar el análisis por solubilidad de fases, un intervalo entre 4 y 25 mg de soluto/gramo de disolvente y el segundo fue la volatilidad de los disolventes que componen la mezcla, ya que es conocido que la mezcla de etanol-agua es menos volátil que la de acetona-agua.

El diagrama de solubilidad de fases obtenido para el lobenzarit disódico (Fig. 2) es un diagrama típico para sustancias que presentan un elevado grado de pureza (> 99 %), ya que solo se observan dos segmentos en el gráfico, el segmento 0C y el CC'. El segmento 0C corresponde a la zona no saturada y el segundo, a la zona saturada del componente principal de mezcla, en este caso, el lobenzarit disódico.

La pendiente de los dos segmentos que se observan en la figura fue determinada por el método de los mínimos cuadrados (Tabla 2). Los coeficientes de regresión fueron superiores al 0,995 para cada uno de los segmentos calculados en todos los experimentos realizados.

Los resultados están en concordancia con los obtenidos (99,7 %) por medio de una valoración potenciométrica mediante el procedimiento desarrollado por Nuevas y cols.¹⁵

CONCLUSIONES

Se determinó la solubilidad del lobenzarit disódico en los sistemas de disolventes etanol-agua y acetona-agua, así como el tiempo en que se alcanza el equilibrio en cada uno de ellos. Teniendo en cuenta el criterio de Mader y la volatilidad de la mezcla, se seleccionó la mezcla etanol-agua [50 : 50 (v/v)] para llevar a cabo el ASF a una temperatura de 40 °C. La pureza del lobenzarit disódico determinado por esta técnica fue del 99,61 %.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rolando Pellón Condom por el suministro de las muestras de lobenzarit disódico.

Tabla 1. Solubilidad de lobenzarit disódico en mezclas de etanol-agua y de acetona-agua a 20 y 40 °C.

Porcentaje de agua en el sistema de disolventes (v/v)	Mezcla			
	Etanol-agua		Acetona-agua	
	20 °C	40 °C	20 °C	40 °C
Solubilidad del lobenzarit disódico (mg/g)				
10	1,2	1,4	0,4	0,5
30	9,7	10,8	5,9	9,8
50	18,5	24,6	24,5	25,5
60	21,2	28,0	31,0	38,4
70	21,6	29,8	34,8	42,9
80	24,9	32,9	38,3	45,0
90	31,5	34,9	39,8	46,7

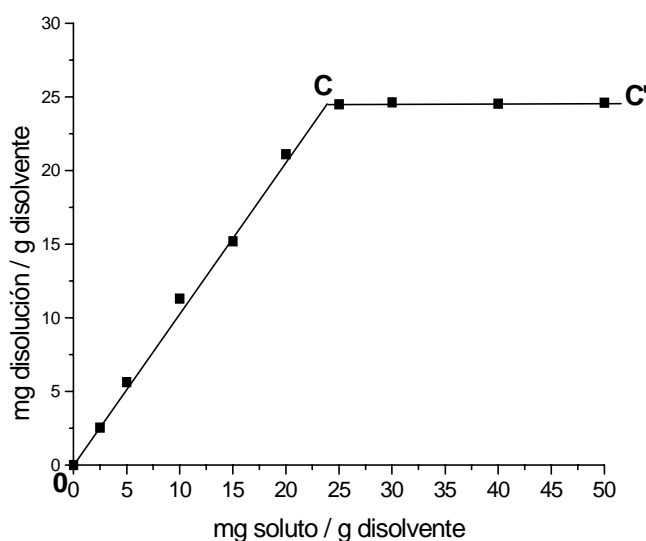


Fig. 2. Diagrama de solubilidad por fases del lobenzarit disódico en etanol-agua 50 : 50 (v/v).

Tabla 2. Resultados de la determinación de la pureza del lobenzarit disódico por análisis de solubilidad de fases.

Experimento	Pendiente		Pureza (%)
	0C	CC'	
1	0,997 1	0,000 3	99,71
2	0,994 1	0,000 2	99,41
3	0,997 1	0,000 2	99,71
Promedio			99,61
DE			0,17
CV (%)			0,17

DE desviación estándar. CV coeficiente de variación.

BIBLIOGRAFÍA

- Schirmer R.E. Modern Methods of Pharmaceutical Analysis, Chapter 6, 2nd Edition. Vol. I. CRC Press Inc., USA, 1991.
- Mader W.J. Organic Analysis, Vol. 2, First Edition, Interscience Publication, N.Y. 253-275. 1954.
- WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. General Guidelines for the establishment and distribution of chemical reference substances. **World Health Organization technical reports series**, No. 681, 9-83, 1982.
- The United States Pharmacopoeia, USP 29-NF24, Chapter <1171> 3016. Rockville: Mack Printing, 2005.

5. Repta J.A. and Bansal P. Phase Solubility Analysis employing Solubility product relationships: Purity determination of monobasic amines and their salts. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, **61**, 1069-1075, 1972.
6. Smith B.G. and Downing G.V. Phase Solubility Analysis as the basis of a separation method. **Analytical Chemistry**, **51**, 2290-2293, 1979.
7. Lesser H.J. and Massil E.S. Phase Solubility Analysis of some Organochlorine Fungicides. **J. Assoc. Anal. Chem.**, **70**, 638-640, 1987.
8. Devarakonda B., Hill R.A., Liebenberg W., Brits M., De Villiers M.M. Comparison of aqueous solubilization of practically insoluble niclosamide by polyamidoamine (PAMAM) dendrimers and cyclodextrins. **Int. J. Pharm.**, **300**, 193-209 2005.
9. Gupta U., Bharat H., Kumar J.A and Kumar J.N. Polypropylene Imine. Dendrimer Mediated Solubility Enhancement: Effect of pH and Functional Groups of Hydrophobes. **J. Pharm. Pharmaceut Sci.**, **10**, 358-367, 2007.
10. Tenarla S., Puranajoti P., Kasina R., Mandal T. Preparation, characterization, and evaluation of miconazole-cyclodextrin complexes for improved and topical delivery. **J. Pharm. Sciences**, **87**, 425-429, 1998.
11. Beezer A. E., King A.S.H., Martin I.K., Mitchel J.C., Twyman, L.J., Wain C.F. Dendrimers as potential drug carriers; encapsulation of acidic hydrophobes within water soluble PAMAM dendrimers. **Tetrahedron**, **59**, 3873-3880, 2003.
12. Martindale. The Extra Pharmacopeia. 29 Edition. The Pharmacopoeial Press, London, 1989.
13. Castillo B., Alberto N., Nuevas L. and Peris J.E. Determination of lobenzarit disodium in human plasma by high-performance liquid chromatography. **J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.**, **21**, 1063-1072, 1998.
14. Suzuki Y., Kikuchi M., Morita T., Haneda M., Nagai H., Itoh M., Yutani Y., Kuriki Y., Mituhashi K. and Shiba M. Physico Chemical Properties and Stability of Lobenzarit Disodium. **Iyaku hin Kenyu**, **15**, 195-206, 1984.
15. González R., Nuevas L., Alberto N., Castillo B. and Capote R. Potentiometric determination of lobenzarit in bulk drugs. **Analytical letters**, **31**, 411-427, 1998.