

Estudio de la Estabilidad de Soluciones Parenterales de Fenol

JUSTO A.R. MARTIN*, HECTOR M. CHECHILE y PABLO LUFRANO

*Cátedras de Farmacotecnia Industrial y Ensayo y Valoración de Medicamentos
Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata
Calles 47 y 115, La Plata, 1900, Argentina.*

RESUMEN: En esta publicación preliminar comunicamos las técnicas analíticas desarrolladas: titulación volumétrica, espectrofotometría UV, colorimetría, separación por cromatografía en capa fina y extracción líquida, a los efectos de controlar la concentración de soluciones parenterales de fenol realizadas entre 2 y 5%

SUMMARY. *Study of the stability of phenol's parenteral solutions.* In this preliminary publication we impart the analytical techniques performed: volumetric titration, spectrophotometry, colorimetry, separation by thin-layer chromatography and liquid extraction, in order to check the concentration of phenol's parenteral solutions made in 2 to 5%.

En las últimas décadas, la elaboración de los medicamentos ha pasado de modo creciente de la oficina farmacéutica a la industria. La diferencia más notable de los productos logrados en éstas radica en el hecho de que las preparaciones magistrales están destinadas a una administración casi siempre inmediata, mientras que las especialidades medicinales están preparadas para ser utilizadas luego de transcurrido un período desde el instante de su fabricación. Esta característica de los productos obtenidos en escala industrial generó la necesidad de conocer la fecha de vencimiento del fármaco y, simultáneamente, nace la preocupación de buscar la mejor preparación farmacotécnica, es decir aquella que prometa mayor estabilidad.

El presente trabajo constituye para nosotros el inicio de una labor muy peculiar: el estudio de la estabilidad de formulaciones farmacéuticas que se vie-

nen elaborando en aquellas instituciones sanitarias de la Provincia de Buenos Aires que no disponen de la posibilidad de abordar esta tarea. En esta instancia comunicamos la metodología analítica ensayada a efectos de controlar la vida en estante de una solución acuosa de fenol preparada entre un 2% y 5%. Esta formulación es utilizada como analgésico¹⁻³ en pacientes que padecen de fuerte crisis de dolor y se viene preparando en la Farmacia del Policlínico General San Martín de la ciudad de La Plata, sin poseer aún un tiempo de vencimiento determinado.

La bibliografía, a partir de los años '70, reporta una serie de trabajos sobre la determinación analítica del fenol en presencia de sus derivados, basados en la aplicación de modernas técnicas fisicoquímicas⁴⁻⁶.

Nuestro grupo de trabajo no dispone del instrumento al que requiere la

* Becario del Departamento Científico del Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires.

PALABRAS CLAVE: Fenol, Estabilidad de soluciones, Cromatografía en capa fina.

KEY WORDS: *Phenol, Stability of solutions, Thin-layer chromatography.*

práctica de tales técnicas, por lo que hemos planificado la valoración del fenol en presencia de sus productos de degradación, recurriendo a algunos de los métodos más utilizados en el dosaje de estas sustancias, como ser: método volumétrico de la Farmacopea Nacional Argentina VI Ed., espectrofotometría ultravioleta, técnicas colorimétricas y por último separación de la fracción degradada mediante una extracción líquido-líquido y cromatografía en capa fina, con posterior evaluación del fenol íntegro.

Los resultados registrados fueron seleccionados según criterio de la prueba Q^7 , y analizados mediante el ensayo estadístico de las diferencias significativas de Student⁸.

PARTE EXPERIMENTAL

Método volumétrico. Las soluciones de fenol rectificado y degradado, preparadas al 3%, fueron valoradas siguiendo las indicaciones que formula Farmacopea Nacional Argentina VI Ed. en la monografía de Fenol; el punto final fue detectado por desaparición del color azul, originado por el agregado de 1 ml de engrudo de almidón al 1%, en el instante de producirse la pérdida del color pardo del yodo.

Espectrofotometría ultravioleta. En un espectrofotómetro Beckman M26 de doble haz, dotado de cubetas de cuarzo de 1 cm. de camino óptico, se efectuaron barridos espectrales en la región UV, con soluciones de 20 γ /ml de fenol recientemente rectificado y de fenol visiblemente degradado a valores de pH 6 y 12 para cada solución.

Métodos colorimétricos. Para estas técnicas se tuvieron en cuenta dos reacciones en particular: a) con cloruro fé-

rrico y b) con 2,6-dicloro-benzoquinonclorimida⁹.

a) Este método colorimétrico fue ensayado sobre 5 ml de soluciones de fenol rectificado y sobre 5 ml de soluciones de fenol degradado de idénticas concentraciones (8,94 mg/ml), a las que se les añadió 1 ml de solución de cloruro férrico al 1,8% preparada en una solución de ácido clorhídrico al 5%; la absorbancia en cada caso fue registrada contra un blanco de reactivos en un Spectronic 20 a 550 nm antes de los 10 minutos de producida la reacción.

b) En 5 matraces de 25 ml fueron colocados 5 ml de soluciones de fenol rectificado, preparadas a pH 9,4 con una concentración de 5 γ /ml, sobre las cuales se añadió 0,4 ml de una solución etanólica de 2,6-diclorobenzoquinonclorimida al 0,8%. A los 50 minutos de haberse producido la reacción se completó el volumen de cada matraz con agua destilada y se procedió a medir los valores de absorbancia a 615 nm en un Spectronic 20. En idénticas condiciones se registraron las absorbancias correspondientes a 5 soluciones de fenol degradado.

Extracción líquido-líquido y posterior valoración. El método colorimétrico con el 2,6-diclorobenzoquinonclorimida, tal como fue descrito anteriormente también fue utilizado con la intención de valorar la fracción íntegra de una solución preparada con un fenol degradado, sometida previamente a una extracción líquido-líquido.

Descripción de la técnica. Una cantidad de 50 mg de una muestra de fenol es disuelta en agua destilada, se ajusta el pH a 12,8 mediante el agregado de hidróxido de potasio y se completa el volumen a 200 ml. Con 10 ml

de esta solución se practica una separación líquido-líquido empleando 10 ml de cloroformo y agitando continuamente durante 5 minutos. Se permite separar a las fases, se toman 5 ml de la solución acuosa y se llevan a 250 ml, previo ajuste del pH a un valor de 9,4; de esta solución se toman 5 ml y se desarrolla el color con 0,4 ml de la solución etanólica de 2,6-diclorobenzoquinonclorimida y a los 50 minutos se completa el volumen a 25 ml con agua destilada y se leen las absorbancias a 615 nm.

A efectos de obtener el título por ciento de fenol, se comparan los valores registrados con las absorbancias de un fenol recientemente rectificado sujeto al mismo procedimiento analítico.

Con la finalidad de evaluar la eficiencia de la extracción, fue analizada una muestra de fenol degradado. Los valores registrados fueron cotejados con los datos obtenidos de la misma muestra de fenol sometida a las mismas diluciones y ajustes de pH, pero sin haber practicado la separación.

Con el objeto de verificar si una extracción simple separaba por completo la fracción degradada, como así también si a pH 12,8 el cloroformo posee la propiedad de extraer fenol íntegro, se efectuaron ensayos de control de acuerdo a la técnica descripta.

Separación cromatográfica y posterior valoración. Se desarrolló experimentalmente una técnica cromatográfica que permitiera la separación del fenol de la de sus productos de degradación, y en especial de aquellos derivados hidroxilados tales como resorcina, pirocatequina e hidroquinona. El sistema seleccionado fue el siguiente:

Cromatoplasmas: placas de vidrio de 20 x 20 cm, cubiertas de una capa de

Silicagel GF254 tipo 60 de 500 μ de espesor.

Disolvente: metanol-benceno-ácido acético (8:90:4).

Muestras: soluciones metanólicas de 200 γ / 100 μ l de fenol rectificado y de un fenol degradado.

Desarrollo: hasta que el frente del solvente ascienda una distancia de 10 cm desde el punto de siembra.

Localización: por pulverización de las placas con una solución etanólica de 2,6-diclorobenzoquinonclorimida de 10 mg/25 ml, sometiénolas posteriormente a los vapores de amoníaco hasta aparición de manchas azules.

Técnica: a un centímetro de uno de los bordes de una placa cromatográfica previamente activada a 105 °C durante 2 hs se deposita en forma de banda de aproximadamente dos centímetros 100 μ l de la muestra a cromatografiar, la que es introducida en una cuba de vidrio equilibrada con el solvente de la fase móvil; se interrumpe el desarrollo cromatográfico en el instante en que el frente del solvente alcanza una distancia de 10 cm a partir de la siembra. Luego la cromatoplasca se deja a 40 °C bajo corriente de aire, hasta total eliminación del solvente de corrida y en ese instante se revelan las zonas cromatográficas mediante la pulverización con solución etanólica de 2,6-diclorobenzoquinonclorimida seguida de la exposición de las placas a los vapores de amoníaco. Las zonas correspondientes al desplazamiento del fenol adquieren color azul y son cuidadosamente transferidas a un vaso de precipitado de 50 ml, conteniendo 10 ml de buffer de pH 9,4. El contenido de los vasos es agitado constantemente durante 5 minutos, para luego filtrarlo y completar la colorimetría con el agregado de 0,4 ml de solu-

ción etanólica de 2,6-diclorobenzoquinonclorimida en matraces de 25 ml.

Los solventes empleados en la fase móvil fueron rectificadas por destila-

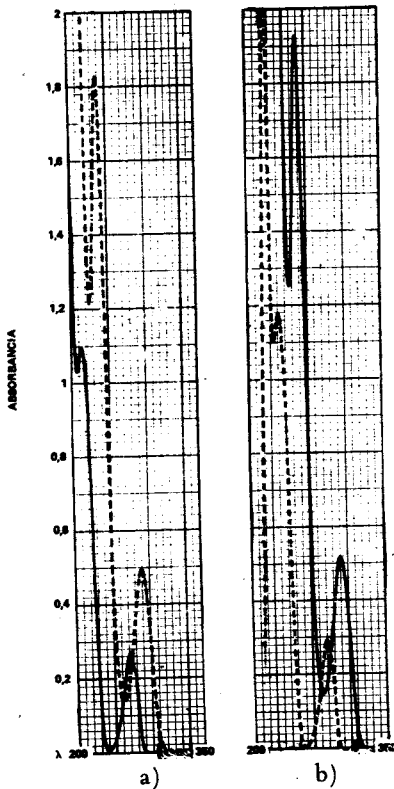
ción fraccionada. El benceno ha sido purificado siguiendo las indicaciones de Vogel ¹⁰.

RESULTADOS

Método Volumétrico.

| | Fenol rectificado | | Fenol degradado | |
|---|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | T% | di ² | t% | di ² |
| 1 | 98.06 | 0.62 | 99.32 | 0 |
| 2 | 99.32 | 0.22 | 96.70 | 7.18 |
| 3 | 98.69 | 0.025 | 99.38 | 0 |
| 4 | 99.32 | 0.22 | 102.07 | 7.23 |

Análisis de la diferencia significativa: $60 < P < 70$



Espectrofotometría ultravioleta

- a) — Fenol degradado en solución de pH 6 de 20 γ /ml
- - - Fenol degradado en solución de pH 12 de 20 γ /ml
- b) — Fenol rectificado en solución de pH 6 de 20 γ /ml
- - - Fenol rectificado en solución de pH 12 de 20 γ /ml

Fig. 1. Comportamiento espectrofotométrico de soluciones de fenol.

Métodos colorimétricos.

a) Reacción con cloruro férrico.

| | Fenol rectificado | | Fenol degradado | |
|---|-------------------|-----------------------------------|-----------------|-----------------------------------|
| | Absorb. | (di) ² 10 ⁵ | Absorb. | (di) ² 10 ⁵ |
| 1 | 0,403 | 3,6 | 0,403 | 22,5 |
| 2 | 0,387 | 10 | 0,382 | 3,6 |
| 3 | 0,395 | 0,4 | 0,382 | 3,6 |
| 4 | 0,395 | 0,4 | 0,387 | 0,1 |
| 5 | 0,403 | 3,6 | 0,387 | 0,1 |

Análisis de la diferencia significativa: $10 < P < 20$

b) Reacción con 2,6-diclorobenzoquinonclorimida.

| | Fenol rectificado | | Fenol degradado | |
|---|-------------------|-----------------------------------|-----------------|-----------------------------------|
| | Absorb. | (di) ² 10 ⁵ | Absorb. | (di) ² 10 ⁵ |
| 1 | 0,286 | 0,9 | 0,305 | 0,9 |
| 2 | 0,292 | 0,9 | 0,296 | 3,6 |
| 3 | 0,286 | 0,9 | 0,305 | 0,9 |
| 4 | 0,290 | 0,1 | 0,305 | 0,9 |
| 5 | 0,292 | 0,9 | 0,301 | 0,1 |

Análisis de la diferencia significativa: $0,1 < P < 1$ *Extracción líquido-líquido y posterior valoración*

a) Control de la extracción con sol. de fenol rectificado.

| | Con Extracción | | Sin Extracción | |
|---|----------------|-----------------------------------|----------------|-----------------------------------|
| | Abs. | (di) ² 10 ⁵ | Abs. | (di) ² 10 ⁵ |
| 1 | 0,280 | 3,13 | 0,286 | 1,02 |
| 2 | 0,284 | 0,25 | 0,292 | 0,78 |
| 3 | 0,290 | 1,93 | 0,286 | 1,02 |
| 4 | 0,290 | 1,93 | 0,290 | 0,06 |
| 5 | 0,284 | 0,25 | 0,292 | 0,78 |

Análisis de la diferencia significativa: $10 < P < 20$

b) Eficiencia de la extracción con sol. de fenol degradado.

| | Con Extracción | | Sin Extracción | |
|---|----------------|-----------------------------------|----------------|-----------------------------------|
| | Abs. | (di) ² 10 ⁵ | Abs. | (di) ² 10 ⁵ |
| 1 | 0,284 | 0,4 | 0,305 | 0,67 |
| 2 | 0,288 | 3,6 | 0,305 | 0,67 |
| 3 | 0,284 | 0,4 | 0,305 | 0,67 |
| 4 | 0,279 | 0,9 | 0,296 | 4,09 |
| 5 | 0,275 | 4,9 | 0,301 | 0,196 |

Análisis de la diferencia significativa: P < 0.1

c) Control del número de extracciones con sol. de fenol degradado.

| | Simple extracción | | Doble extracción | |
|---|-------------------|-----------------------------------|------------------|-----------------------------------|
| | Abs. | (di) ² 10 ⁵ | Abs. | (di) ² 10 ⁵ |
| 1 | 0,3010 | 0,841 | 0,305 | 7,39 |
| 2 | 0,3054 | 5,32 | 0,305 | 7,39 |
| 3 | 0,296 | 0,441 | 0,292 | 1,94 |
| 4 | 0,296 | 0,441 | 0,296 | 0,016 |
| 5 | 0,292 | 3,72 | 0,284 | 15,3 |

Análisis de la diferencia significativa: 70 < P < 80%

Cromatografía y posterior valoración de la zonas eluidas

a) Estudio de la precisión y exactitud.

Se analizan los resultados de 9 zonas eluidas de cromatogramas desarrollados según la técnica descrita mediante la siembra de 100 µl de una solución metanólica de fenol rectificado preparada en una concentración de 2.000 γ /ml, considerando como referencia la misma solución de fenol sin cromatografiar.

| | Abs. | (di) ² 10 ⁵ |
|------|--------|-----------------------------------|
| 1 | 0,3565 | 7,05 |
| 2 | 0,3767 | 13,90 |
| 3 | 0,3565 | 7,05 |
| 4 | 0,3767 | 13,90 |
| 5 | 0,3565 | 7,05 |
| 6 | 0,3716 | 4,48 |
| 7 | 0,3665 | 0,25 |
| 8 | 0,3565 | 7,05 |
| 9 | 0,3665 | 0,25 |
| Ref. | 0,3716 | |

Er% = 1,80%

$$X \pm t_{n-1;0,05} \times S = 0,3649 \pm 0,02$$

b) Comparación de la separación cromatográfica y la extracción líquida;

Se cotejan los valores obtenidos de 5 zonas eluidas de un cromatograma y 5 extracciones, practicadas con una misma solución de fenol degradado preparada en una concentración de 2.410 γ /ml, utilizándose como referencia una solución de fenol rectificado de igual concentración.

| | Separación Cromatográfica C% | Extracción Líquida C% |
|---|------------------------------------|-----------------------------|
| 1 | 81,30 | 87,72 |
| 2 | 80,11 | 87,72 |
| 3 | 78,93 | 86,44 |
| 4 | 80,11 | 86,44 |
| 5 | 78,93 | 87,72 |

Análisis de las diferencias significativas:

$$0,1 < P < 1$$

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

El análisis estadístico de los resultados de la volumetría y la colorimetría con cloruro férrico, no nos permitió observar diferencias significativas en la valoración de fenol rectificado y fenol degradado.

Los espectros registrados en la zona de ultravioleta señalan un solapamiento en las regiones correspondientes a los máximos de absorbancia, lo que dificulta toda cuantificación directa.

La valoración de fenol rectificado y fenol degradado mediante el método colorimétrico del 2,6-diclorobenzoquinonclorimida mostró diferencias significativas; sin embargo este método no permite determinar la cantidad de "fenol íntegro" en una muestra degradada.

La cuantificación de una misma muestra de fenol degradado mediante el método colorimétrico del 2,6-diclorobenzoquinonclorimida en forma directa y luego de practicar una extracción con cloroformo, evidencia diferencias significativas.

Los controles efectuados en la extracción líquida no indicaron diferencias significativas.

La exactitud y precisión del análisis colorimétrico con el 2,6-diclorobenzoquinonclorimida de las zonas eluidas del cromatograma, son aceptables para nuestros fines.

La valoración de una misma muestra de fenol degradado mediante el método colorimétrico con el 2,6-diclorobenzoquinonclorimida ensayado en dos formas distintas (previa separación cromatográfica y luego de una extracción líquida), arrojó diferencias significativas en el análisis de los resultados.

De esta discusión surge que la aplicación de la separación cromatográfica posibilita una mejor estimación cuantitativa del "fenol íntegro" en una muestra visiblemente degradada. En consecuencia, esta metodología será aplicada a la valoración de las distintas formulaciones parenterales, que se desarrollarán con el objeto de lograr las condiciones farmacotécnicas que permitan una mayor estabilidad en estante.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Bonica, J. J. y V. Ventafridda (1979) "Advances in Pain Research and Therapy" Vol. 2, Raven Press, New York, pág. 304
2. Mehta, M. (1977) "Dolor rebelde" Salvat Editores S.A., Barcelona, pág. 55

3. Lipton, S. (1979) "*Relief of Pain in Clinical Practice*", Blackwell Scientific Publications, Oxford, pág. 8
4. DiCorcia, A.; R. Samperi, E. Sebastiani, y C. Severini (1981), *Chromatographia*, 14: 86-8
5. Realini, P.A. (1981) *J. Chromatogr. Sci.* 19: 124-9.
6. Ashitoni, K., H. Ohtani y M. Kajino (1980) (*C.A.*, 95: 6737a).
7. Connors, K.A. (1980) "*Curso de Análisis Farmacéutico*", Editorial Reverté, Barcelona, pág. 631
8. del Pozo, A. y G. de Iriarte (1963). "*Enciclopedia Farmacéutica*". Tomo III, Editorial Científico-médica, Barcelona, pág. 777-80
9. Siggia, S. (1972) "*Instrumental methods of organic functional group analysis*" Wiley Interscience Editors, pág. 23
10. Vogel, A.I. (1978) "*Practical Organic Chemistry*". 4a. Ed. Spottiswoode, Ballantyne and Co. LTD, London and Colchester, pág. 266-7.