

## Algunas Aplicaciones de la Potenciometría Diferencial de Barrido (PDB) en el Campo de las Ciencias Farmacéuticas

ERNESTINA LUNA, MIRIA BASCHINI y RUBEN H. MANZO

*Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas,  
Universidad Nacional de Córdoba, Sucursal N° 16, Casilla de Correo N° 61,  
5000 Córdoba, Argentina*

**RESUMEN.** La utilización de la técnica de PDB en el campo farmacéutico se ilustra mediante algunos ejemplos que comprenden la determinación de constantes de equilibrio ácido-base de nuevas moléculas de interés farmacéutico (succinil procaína, I y su clorhidrato, II), la determinación de pureza química (clorhidrato de nafazolina III) y el uso de la PDB en el diseño y control de calidad de una formulación de III. Se describe el sistema de adquisición y procesamiento de los datos, que fue implementado para ejecutar la técnica en forma automática.

**SUMMARY.** "Some Uses of Differential Scanning Potentiometry (DSP) in the Field of Pharmaceutical Sciences". The use of Differential Scanning Potentiometry (DSP) in the field of pharmaceutical analysis is illustrated through some examples; they involve the determination of acid-base equilibrium constants of new molecules of pharmaceutical interest (succinil procaine, I and its hydrochloride, II). The assay of the chemical purity of naphazoline hydrochloride (III) and the use of the technique in the design and quality control of a dosage form of it is also reported. A device to perform automatically the DSP experiments and data processing by using a personal computer is described.

### INTRODUCCION

La técnica de potenciometría diferencial de barrido (PDB) (o differential scanning potentiometry, DSP), ha sido desarrollada recientemente en nuestro laboratorio <sup>1, 2</sup> con el propósito de superar algunas de las limitaciones de las técnicas analíticas convencionales de determinación de ácidos y bases y, consecuentemente, ampliar su campo de aplicación.

La potenciometría ácido-base convencional en medio acuoso (PC), se basa en la obtención de puntos de inflexión nítidos

en gráficos *pH vs. Volumen* o *Volumen vs. pH*, que permitan determinar volúmenes equivalentes ( $V_e$ ), o valores de pH de hemiprotonación de ácidos o bases débiles. Tales puntos de inflexión son parcial o totalmente enmascarados por: (i) presencia de interferentes, (ii) la capacidad buffer ( $\beta$ ) del sistema, cuando el pH en que ocurre el fenómeno se aleja de la neutralidad, como sucede en la titulación de ácidos y bases débiles y, (iii) cuando la concentración de la especie a determinar es demasiado baja. Dado que la PDB se basa en la medición de áreas

**PALABRAS CLAVE:** Potenciometría Diferencial de Barrido (PDB); Constantes de Equilibrio ácido-base; Pureza Química; Control de Calidad.

**KEY WORDS:** Differential Scanning Potentiometry (DSP); Acid-base Equilibrium Constants; Chemical Purity; Quality Control.

en vez de puntos de inflexión (ver más adelante), es una técnica que se muestra particularmente útil en condiciones en que la PC no produce puntos de inflexión apropiados para una finalidad analítica. Además la PDB exhibe una mayor sensibilidad que la PC, tanto en lo que respecta a la calidad (fuerza ácida o básica) como a la cantidad (concentración) de muestra a determinar<sup>1-3</sup>.

En base a las propiedades mencionadas se investigaron algunas aplicaciones de la PDB en el campo del análisis farmacéutico<sup>3</sup>, tales como determinación de identidad y pureza química, determinación de  $pK$ , estabilidad de formulaciones farmacéuticas, etc. En conexión con esto se desarrolló un sistema automático de adquisición, colección y procesamiento de los datos.

El propósito de esta comunicación es informar algunos resultados experimentales que ilustran la utilidad de esta técnica en el campo farmacéutico.

#### TEORIA Y DESARROLLO PREVIO DE LA PDB

La Figura 1-a muestra dos titulaciones ácido-base: la curva de referencia  $R$  corresponde a la determinación de 20 ml de solución conteniendo 1,5 meq. de un ácido fuerte  $AH$  utilizando una base fuerte  $MOH$ , mientras que la curva  $P$  corresponde al mismo sistema, pero al que se agrega 0,3 meq. de muestra  $S$ , en este caso acetato de sodio, antes de la solución. La PDB se basa en la medición del área ( $A$ ) delimitada por las curvas  $P$  y  $R$ ; para ello se utiliza la función  $\Delta pH$ , la que se define como la diferencia entre el  $pH$  de la corrida de referencia ( $pH_R$ ) y el  $pH$  de la corrida problema ( $pH_P$ ), tomando ambos a la misma fracción titulada (ecuación 1), tal como se muestra en la Figura 1-b.

$$\Delta pH = (pH_P - pH_R) \times tit \quad (1)$$

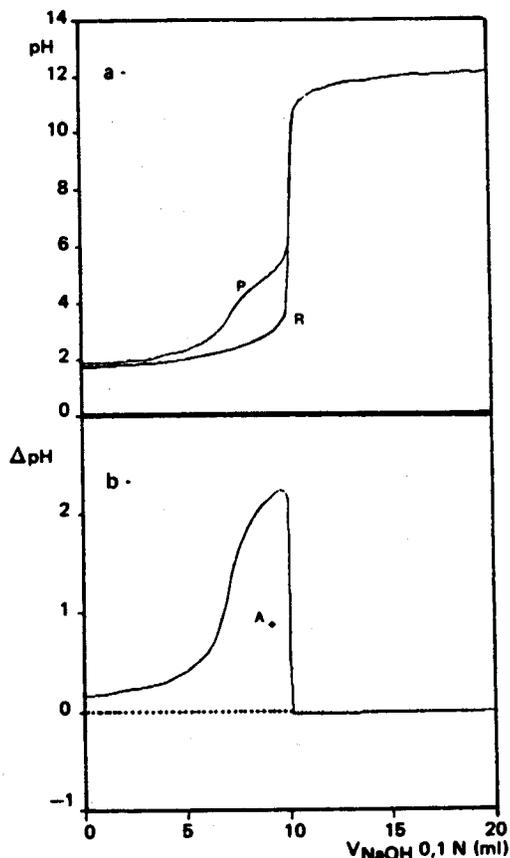


Figura 1. Curvas de referencia  $R$  y problema  $P$  (parte a) y variación de  $\Delta pH$  (parte b), ambas en función del volumen de titulante, correspondientes a la titulación de 0,3 mmoles de acetato de sodio.

Las ecuaciones 2 y 3, que sustentan la aplicación analítica de la PDB, fueron primero deducidas por simulación matemática de los experimentos y luego verificadas experimentalmente<sup>1</sup>.

La ecuación 2 establece que para una dada muestra  $S$  (base débil  $B$  o ácido débil  $BH$ ), el área  $A$  delimitada por la curva de un gráfico  $\Delta pH$  vs.  $V_{MOH}$ , como el de la Figura 1-b, es proporcional a la cantidad (o concentración) de muestra  $S$  agregada.

$$\int_{V_0}^V \Delta pH \cdot dV_{MOH} = A = a \cdot Cs \quad (2)$$

Debe destacarse que en la técnica de PDB, un sustrato con un grupo básico  $B$

que toma  $H^+$  de  $AH$  y luego los cede durante la corrida, origina un área positiva tal como la de la Figura 1-b, mientras que un grupo ácido  $BH$  que aporta sus propios  $H^+$  al medio durante la corrida (por ejemplo ácido benzoico, Figura 2-a), origina un área negativa como la de la Figura 2-b. Ambas

situaciones se describen en los esquemas 1 y 2, donde por simplicidad se asume la completa protonación de  $B$  en el primer caso, y la completa disociación de  $BH$  cuando termina la corrida en el segundo, y donde los coeficientes  $m$  y  $n$  se refieren a número de moles.

#### Esquema 1

*Introducción de la muestra*  $m AH + n B = n BH^+ + m A^- + (m-n) H^+$

*Corrida*  $n BH^+ + (m-n) H^+ + exc OH^- = n B + m H_2O + (exc-m) OH^-$

#### Esquema 2

*Introducción de la muestra*  $m AH + n BH = mA^- + mH^+ + n BH$

*Corrida*  $n BH + m H^+ + exc OH^- = n B^- + (m+n) H_2O + (exc-m-n) OH^-$

La ecuación 3 expresa la relación lineal que se encuentra entre el área  $A$  y el  $pK$  del grupo que se determina, cuando se comparan iguales cantidades (meq.) de muestras de ácidos y bases débiles ( $B$  y  $BH$ ) de diferente fuerza.

$$A = b.pK + C \quad (3)$$

Una molécula difuncional que posee un grupo ácido y uno básico exhibe un perfil como el de la Figura 3, donde la forma y el valor de las áreas positiva y negativa ( $A+$  y  $A-$ ) son función de la fuerza de cada grupo. Del mismo modo, todos los grupos ácidos y básicos que posee una molécula polifuncional contribuyen al perfil en forma proporcional a su fuerza.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Síntesis

*Obtención de clorhidrato de succinil procaína (II).* En 6 ml de etanol se disuelve 1 g de clorhidrato de procaína y se adicionan

0,74 g de anhídrido succínico. Se calienta a reflujo durante 30 minutos y se deja enfriar. Se elimina el etanol a presión reducida. El producto obtenido se recrystaliza de etanol-acetona (previo lavado con acetona), obteniéndose un sólido blanco de p.f. = 189-90 °C.

*Obtención de succinil procaína (I).* Se obtiene por neutralización de una solución acuosa de *II* con hidróxido de sodio. El precipitado obtenido se filtra y se recrystaliza de agua (p.f. = 160-61 °C).

#### Potenciometría Diferencial de Barrido

*Descripción del titulador.* Básicamente el sistema cuenta con una computadora personal Artéc PC/XT, de 640 Kb RAM con disco rígido de 20 Mb, monitor de alta resolución (dotada de una impresora Epson LX-800), como unidad de adquisición y procesamiento de los datos, conectada al sistema sensor (pH-metro Vega V, con electrodo combinado, vidrio-AG/ClAg) y a la

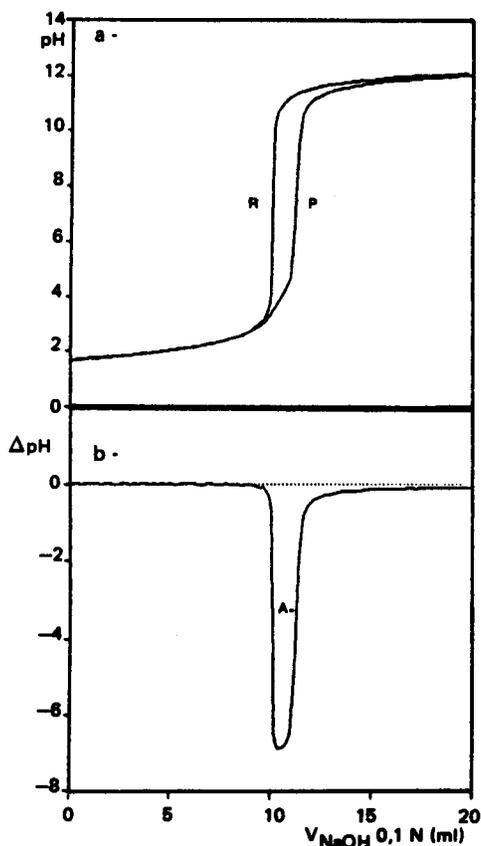


Figura 2. Curvas de referencia R y problema P (parte a) y variación de  $\Delta pH$  (parte b), ambas en función del volumen de titulante, correspondientes a la titulación de 0,1 mmoles de ácido benzoico.

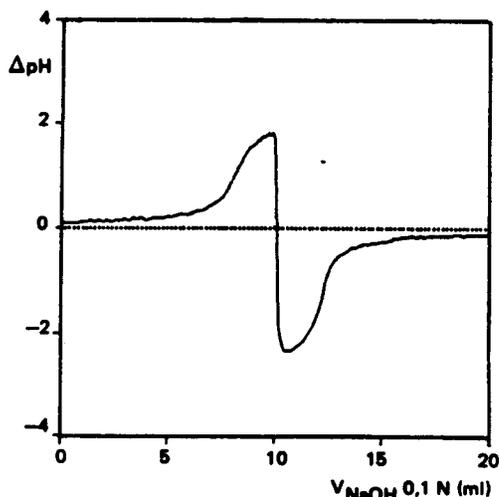


Figura 3. Perfil PDB correspondiente a la corrida de 0,1 mmoles de succinil procaína (I).

unidad dosificadora (bureta de émbolo T 80/20, Schott Geräte) mediante una interfase análogo/digital, tal como se indica en el esquema 3.

El sistema trabaja etapa por etapa: la bureta dosifica el volumen de reactivo específico, en sensor toma la medición luego de un tiempo de espera predeterminado, la unidad procesadora almacena el dato y ordena una nueva dosificación de reactivo.

Posteriormente, mediante los programas de procesamiento de datos correspondientes, se calculan las áreas positivas, negativas y/o totales, y se grafican los perfiles  $\Delta pH$  vs.  $V_{MOH}$  y los gráficos convencionales ( $pH$  vs.  $V_{MOH}$ ), proporcionando también los puntos de inflexión si los hubiere <sup>1, 2, 4</sup>.

**Procedimiento.** El procedimiento consiste en dos titulaciones convencionales independientes: *Referencia (R)* y *Problema (P)*.

Para la curva R se titularon 10 ml de ácido sulfúrico 0,1 N con hidróxido de sodio 0,1 N. En la curva P se utilizó la misma cantidad de ácido fuerte, se le agregó la muestra S (ácido y/o base débil mono- o poli-funcional), y se tituló con la base fuerte.

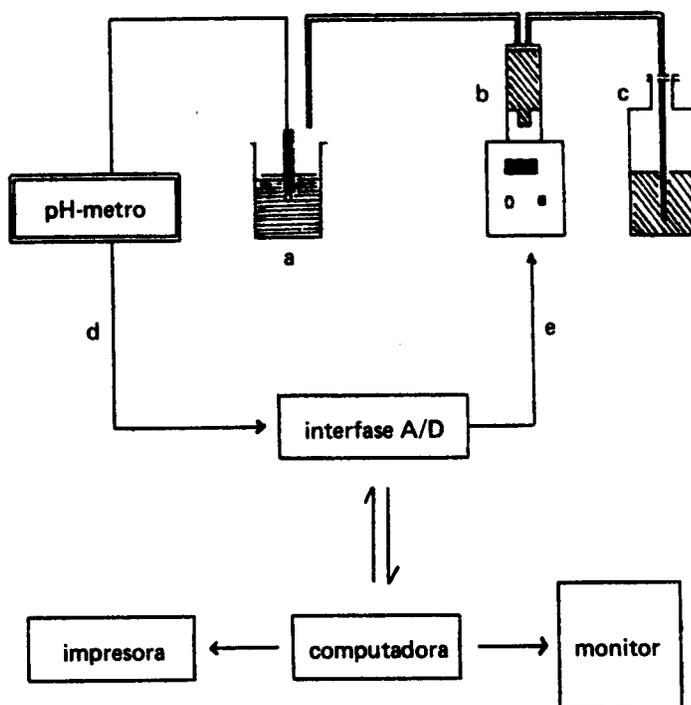
Las muestras se introdujeron en la solución de ácido fuerte como una cantidad pesada. El volumen de cada solución (P y R) se completó a 20 ml con agua bidestilada antes de cada titulación.

Las lecturas de pH se tomaron en el rango de 0 a 20 ml, a intervalos de 0,2 ó 0,1 ml de reactivo titulante según corresponda. Lecturas estables se obtuvieron dentro del intervalo de 20-40 seg después de cada adición de solución titulante.

## RESULTADOS Y DISCUSION

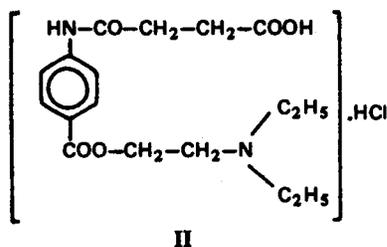
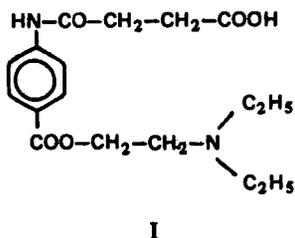
*Determinación de la presencia y fuerza de los grupos ácidos y básicos en la síntesis de nuevas moléculas*

La succinil procaína (I) y su clorhidrato



Esquema 3. a: vaso de titulación; b: bureta motorizada; c: reservorio de solución titulante; d: señal proveniente del sensor; e: señal que ordena la dosificación a la bureta automática.

(II), fueron preparados en nuestro laboratorio como parte de un programa de derivatización de drogas que modifican la conducción del impulso nervioso.



Dada la característica de los grupos ionizables que posee la molécula, la forma zwitteriónica (I-a) es la que predomina en una solución acuosa de I, tal como lo indica el esquema 4, donde se detallan los equilibrios ácido-base que genera esta especie.

El perfil PDB que muestra la Figura 3 fue obtenido con una muestra de 0,1 mmol (33,6 mg) de I. La porción positiva del perfil puede adjudicarse esencialmente a la determinación del equilibrio 1 del esquema, es decir a la presencia del grupo carboxilo, mientras que la porción negativa es consecuencia esencialmente de la deprotonación del grupo N-dietilamonio de acuerdo con el equilibrio 2. La ecuación 4 fue calibrada previamente mediante la determinación de sustancias de pK conocido, los que fueron ajustados a la fuerza iónica de los experimentos<sup>4</sup>.

$$A = 2,92 \cdot pK - 5,79 \quad (r = 0,995) \quad (4)$$

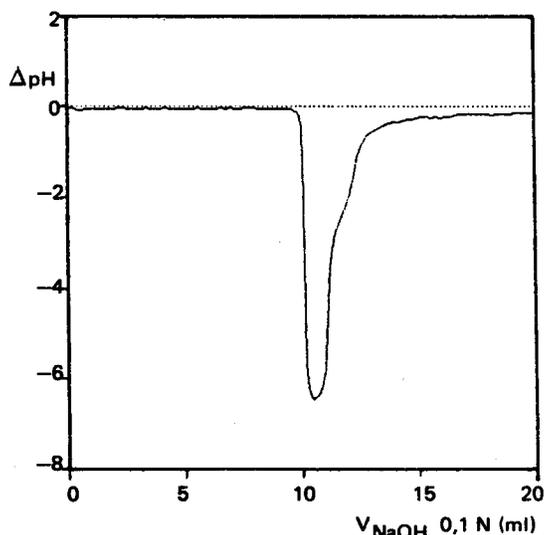
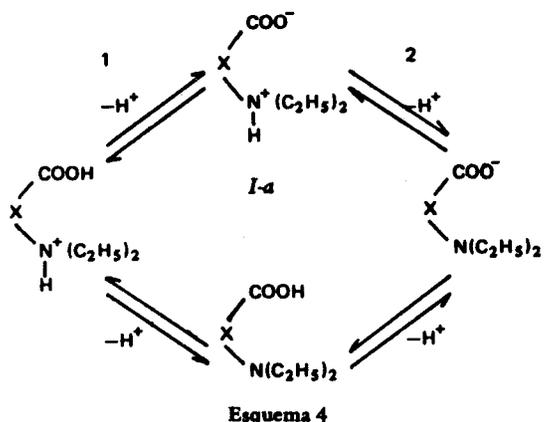


Figura 4. Perfil PDB correspondiente a la corrida de 0,1 mmoles de clorhidrato de succinil procaína (II).

Los valores obtenidos a partir de la ecuación 4 fueron extrapolados a fuerza iónica cero, resultando  $pK_{a1} = 4,8$  (a partir del valor de  $A^+$ ) y el  $pK_{a2} = 8,6$  (a partir del valor de  $A^-$ ).

Debe destacarse que debido a la ausencia de cromóforos vecinos a los grupos ionizables de la molécula, en este caso las técnicas espectrofotométricas directas de determinación de los equilibrios ácido-base no son de utilidad.

El perfil de la Figura 4 corresponde a una corrida de 0,1 mmol de II. La inspec-

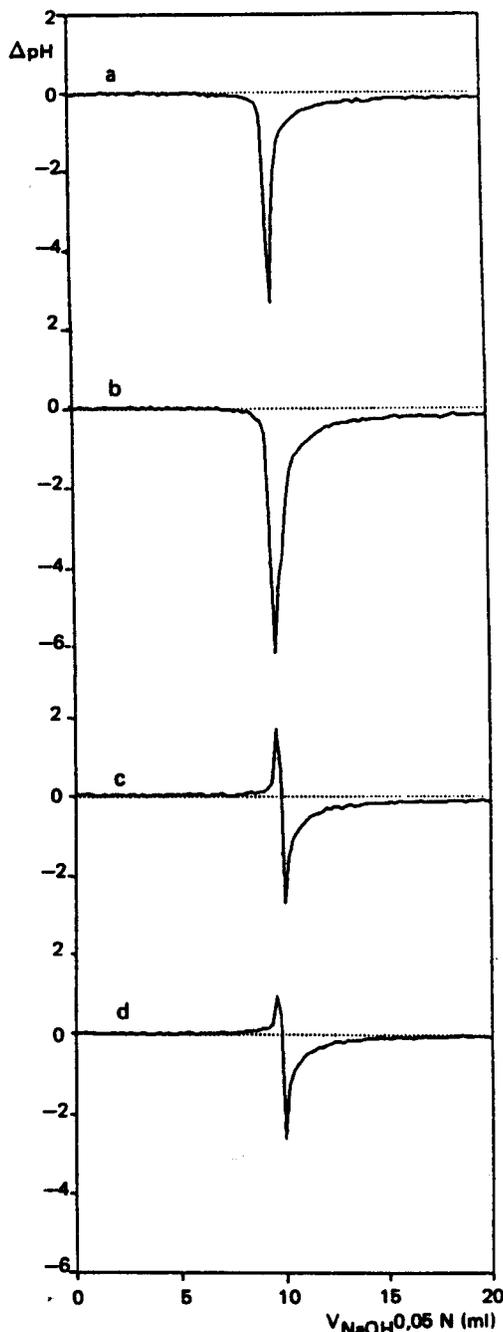


Figura 5. Perfil PDB correspondiente a la corrida de: a: 0,041 mmoles de clorhidrato de nafazolina (III); b: perfil obtenido con una mezcla de III y fosfato monosódico; c: formulación de III (gotas nasales) preparada en nuestro laboratorio; d: formulación comercial.

ción visual del perfil revela la ausencia de grupos básicos en la muestra, lo que es co-

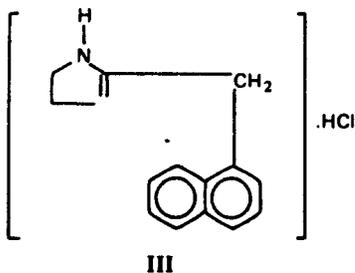
herente con la estructura propuesta; además la forma de la porción negativa indica la presencia de dos grupos ácidos (carboxílico y N-dietilamonio) de diferente fuerza; el valor de  $A-$  es proporcional a la suma de los  $pK_{a1}$  y  $pK_{a2}$  obtenidos de la corrida de *I*.

Estos resultados muestran la utilidad de la PDB para determinar tanto la presencia como la fuerza de los grupos ácidos y básicos en una molécula de interés farmacéutico. Los perfiles que se obtienen se pueden interpretar y racionalizar fácilmente en términos de las áreas corrientes relativas a los fenómenos ácido-base.

Otro aspecto de interés concierne con la normalización de la calidad de las drogas, dado que es posible establecer un criterio de pureza potenciométrico, basado en la forma de los perfiles y en el valor de los parámetros que se obtienen de los mismos.

#### La PDB en el desarrollo y control de calidad de formulaciones farmacéuticas

Como parte de un convenio de asistencia técnica al Servicio Farmacéutico de la Municipalidad de Córdoba, se desarrolló una formulación de gotas nasales de clorhidrato de nafazolina (*III*).



Con los objetivos de: (i) disponer de técnicas de control de calidad de la droga, los demás ingredientes y la fórmula completa por una parte y (ii) comparar la nueva formulación con productos comerciales, se utilizó la técnica de PDB tal como se detalla a continuación:

El perfil de la Figura 5-a corresponde a una corrida de 0,041 mmoles (10,12 mg) de *III*, mientras que el de la Figura 5-b fue producido por *III* más el agregado de fosfato monosódico ( $PO_4H_2Na - IV$ ) en la misma proporción que se utilizan en la formulación comercial.

En ambos perfiles aparecen solamente áreas negativas, adjudicables a la forma protonada de la nafazolina en el primer caso, y a la suma de ésta y el fosfato monosódico ( $pK_a = 7,21$ )<sup>5</sup> en el segundo.

El pH de la solución resultante de la mezcla de *III* y *IV* en las concentraciones que indica la formulación es 5,34 y el agregado de 0,025 mmoles de hidróxido de sodio cada 100 ml de la misma produce una solución de pH 6,10, el que fue considerado apropiado para la formulación. Una muestra de esta solución produjo el perfil de la Figura 5-c, en el que puede observarse la aparición de una porción positiva, debida a la parcial neutralización de las especies ácidas por el hidróxido de sodio.

La corrida de la Figura 5-d corresponde a una muestra de una formulación comercial que utiliza el mismo buffer que la fórmula desarrollada y que permite comparar las características de ambas formulaciones.

Por último, ni el timerosal ni los isotónicos alteraron significativamente el perfil de la Figura 5-c.

Los resultados presentados ilustran acerca de la utilidad de la PDB para proporcionar información analítica detallada sobre los componentes de formulaciones de este tipo, en las que tanto el pH como la capacidad buffer son variables críticas desde el punto de vista farmacéutico.

#### CONCLUSIONES

Los resultados presentados destacan la capacidad de la PDB para resolver problemas analíticos en el campo farmacéutico.

La automatización de la técnica le confiere la necesaria practicidad, que la convierte en una herramienta analítica atractiva.

Es posible concluir entonces que la PDB constituye una técnica versátil y práctica, que puede incrementar significativamente el campo de aplicación de la PC en el contexto de la problemática analítica farmacéutica.

#### AGRADECIMIENTOS:

- Al CONICOR y CONICET por los subsidios N° 726/88 y 0498/88 respectivamente, y por las becas de CONICOR (Miria Baschini) y CONICET (Ernestina Luna).
- Al Ing. José Luis Vargas por la colaboración en la implementación del "hardware".
- Al Farm. Daniel Giacomino por la colaboración en la preparación de las soluciones de III.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Manzo, R.H. y E. Luna (1986) *Analytical Chemistry* 58: 1055-7
2. Manzo, R.H. y E. Luna (1987) *Anales de la Asociación Química Argentina* 75: 63-71
3. Manzo, R.H., E. Luna *IV Congreso Argentino de Farmacia y Bioquímica Industrial*, Setiembre de 1987, Buenos Aires, Argentina
4. Luna, E. (1989) "*Potenciometría Diferencial de Barrido (PDB)*" Tesis, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba
5. Martin, A., J. Swarbrick y A. Cammarata (1969) "*Physical Pharmacy*", Lea & Febiger, Philadelphia, pág. 194.