

Resolución de Mezclas de Noscapina y Morfina mediante Espectrofotometría UV/Visible

Yolanda C. MICALIZZI, Sonia E. BLANCO, Claudia ORTEGA,
María C. CHICO, Susana A. SALMERON * y Ferdinando H. FERRETTI

*Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia,
Universidad Nacional de San Luis, 5700 San Luis, Argentina*

RESUMEN. Se desarrollaron procedimientos de fácil aplicación para resolver espectroscópicamente mezclas de noscapina (I) y morfina (II). Las absorptividades molares de las bases anhidras de I y II se determinaron en metanol a 285 y 312 nm, y en disoluciones acuosas a 284 y 314 nm la de los clorhidratos correspondientes. Se prepararon y analizaron disoluciones patrones conjuntas de I y II en diversas relaciones molares (1:1 hasta 1:10), a 25 °C. Los resultados obtenidos en la resolución de mezclas de I y II (como bases y como clorhidratos), muestran una confiabilidad y exactitud satisfactoria. Las técnicas presentadas, caracterizadas por la simplicidad de las operaciones y de instrumental que requieren, son de fácil y rápida ejecución.

SUMMARY. "Noscapine and Morphine Mixture Resolution by UV/Visible Spectrometry". Procedures of simple application were developed for the spectroscopic resolution of noscapine (I) and morphine (II) mixtures. The molar absorptivities were determined at 285 nm and 312 nm methanol for the anhydrous bases of I and II, and at 281 nm in aqueous solutions for the corresponding hydrochlorides. Mixed standard dissolutions of I and II were prepared and analyzed in different molar relations (1:1 to 1:10), at 25 °C. The results obtained in the I and II mixture resolutions (both as bases and as hydrochlorides), present satisfactory reliability and accurateness. The techniques developed, characterized by simplicity of both operation and type of instrumental required, are of easy and fast application.

INTRODUCCION

Morfina y noscapina figuran entre los alcaloides del opio más antiguamente conocidos. Actualmente, noscapina y su clorhidrato son muy utilizados por la potente actividad antitusígena que manifiestan, ofreciendo la ventaja adicional respecto de otras drogas con acciones similares, que en dosis terapéuticas no producen efectos adversos significativos ¹. La morfina, de acuerdo con las numerosas y variadas acciones farmacológicas que ejerce, se usa como analgésico, coadyuvante de la anestesia, antitusígeno y antidiarreico inespecífico ².

Si se considera la gran importancia farmacéutica y medicinal de noscapina y morfina, queda claro por qué desde décadas atrás, los métodos de caracterización

* Autor a quien debe dirigirse la correspondencia.

PALABRAS CLAVE: Noscapina; Morfina; Determinación.

KEY WORDS: Noscapine; Morphine; Determination.

y cuantificación de estas sustancias en diferentes vegetales, productos alimenticios y químicos, fluidos biológicos, etc., constituyen materia de continuas y dinámicas investigaciones. Los procedimientos analíticos específicos desarrollados son de naturaleza adsortiva ³, polarográfica ⁴, espectrométrica ⁵, cromatográfica ⁶, absorbiva atómica ⁷, etc. En los últimos años, la utilización de técnicas de HPLC en la detección y cuantificación de noscapina y morfina ⁸⁻¹¹, ha experimentado un crecimiento notable.

Es conocido que en los análisis cuantitativos de conjuntos numerosos de muestras, las técnicas espectroscópicas (caracterizadas por su simplicidad operativa y exactitud de las determinaciones) se emplean frecuentemente ¹². En este trabajo, se realizaron diversas experiencias con el propósito de elaborar un procedimiento espectroscópico UV simple y de fácil aplicación, de utilidad para resolver simultáneamente mezclas de noscapina y morfina, como bases anhidras o clorhidratos.

PARTE EXPERIMENTAL

En la Figura 1 se presentan las fórmulas de las sustancias utilizadas que fueron obtenidas directamente de productos comerciales.

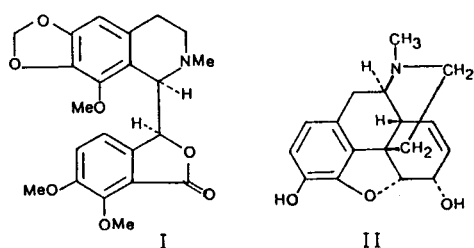


Figura 1. Estructura de los compuestos empleados. I. Noscapina. II. Morfina

La purificación de I y II (como bases) se efectuó mediante reiteradas cristalizaciones por cambio de solvente (etanol y agua) y de temperatura. El control de pureza de las sustancias se efectuó por medio de espectroscopía UV/Visible (metanol y agua), cromatografía en capa delgada sobre cromatofolios de poliamida 11F 254, utilizando metanol-agua-ácido acético (18:1:1) como eluyente, y determinaciones del punto de fusión.

Los espectros UV de las sustancias examinadas se registraron en agua y en metanol a 25 °C, utilizando un espectrómetro Spectronic 21. Las correspondientes absorptividades molares de I y II se determinaron a 285 y 312 nm en metanol, y a 284 y 314 nm en agua. En la realización de las experiencias para resolver cuantitativamente mezclas de noscapina y morfina, se procedió del modo siguiente:

a) Se prepararon disoluciones madres del orden de $2 \cdot 10^{-4}$ M de I y II como bases, en metanol, y también soluciones madres acuosas aproximadamente $5 \cdot 10^{-4}$ M de los clorhidratos de I y II.

b) Se pesaron cantidades convenientes de las disoluciones metanólicas madres de I y II, para conseguir soluciones patrones con ambas drogas como solutos, en relaciones molares noscapina:morfina dentro del intervalo 1:1 a 1:10.

c) Análogamente, se obtuvieron disoluciones patrones acuosas conteniendo los clorhidratos de I y II como solutos, en diversas relaciones molares de noscapina:morfina, dentro del intervalo antes precitado.

d) Fracciones de 5 g a 8 g de las disoluciones metanólicas patrones de I y II se diluyeron con cantidades adecuadas de metanol (0,2 a 2,5 g) y se leyeron sus absorbancias a 25 °C, a las longitudes de onda seleccionadas (285 y 312 nm).

e) A cantidades variables (7 a 10 g) de las disoluciones patrones acuosas de I

y II se les adicionó de 0,5 a 2,5 g de agua destilada. Luego se leyeron las absorbancias de las diluciones obtenidas a 25 °C, a las longitudes de onda elegidas (284 y 314 nm).

RESULTADOS Y DISCUSION

Las absorbancias espectroscópicas de las disoluciones acuosas y metanólicas de los compuestos investigados (como solutos únicos o mezclados en diferentes relaciones molares), se analizaron en el intervalo de 240 a 300 nm. Los valores de las absorptividades de I y II puras, determinados a las longitudes de onda seleccionadas, se informan en la Tabla 1.

Absortividad molar	Metanol		Agua	
	285 nm	312 nm	284 nm	314 nm
E_N	2940	4230	2120	3269
E_M	1225	27	1340	136

Tabla 1. Absortividades molares de noscapina (E_N) y de morfina (E_M) en metanol y agua a 25 °C. Los valores de E_N y E_M en 1/(mol.cm), se determinaron en disoluciones con soluto único.

Es conocido que, en general, el elevado punto de fusión (PF) de sustancias sólidas está vinculado a la baja solubilidad que ellas presentan en diversos solventes polares ^{13,14}. Es razonable suponer, entonces, que las fuertes asociaciones homo-moleculares que existen en un compuesto sólido persisten con cierto grado de importancia en medio líquido, oponiéndose a las interacciones soluto-solvente que favorecen la solubilidad del mismo. En el caso de los fármacos analizados, los PF que caracterizan a sus bases anhidras son de magnitudes considerables ^{2,15}, a saber:

$$PF(I) = 175\text{ °C}$$

$$PF(II) = 250\text{ °C}$$

Estos valores de PF están en completo acuerdo con la bajísima solubilidad que noscapina y morfina exhiben en medios con permitividades altas. Por esto puede inferirse que en las drogas I y II en fase sólida existen fuerzas cohesivas que se oponen a la dispersión de las mismas en un disolvente polar dado, dificultando su disolución.

Por otra parte, si se considera la apreciable diferencia de los valores de las constantes de disociación ácida de noscapina y morfina ^{16,17},

$$pKa(I) = 6,20$$

$$pKa(II) = 8,20$$

es razonable imaginar que en disoluciones que posean los dos compuestos como solutos, tengan lugar, además de las mencionadas anteriormente, otras importantes interacciones hetero-moleculares de probable naturaleza ácido-base. Obviamente, la concentración de I y II en una disolución de ambos fármacos constituye un factor determinante de la naturaleza e intensidad de las interacciones moleculares totales que ocurran en la fase líquida. En consecuencia, queda claro que si se desea resolver mezclas de I y II disueltas en metanol (constante dieléctrica 32) o en agua (constante dieléctrica 79), se deben preparar disoluciones que posean la menor

concentración posible de drogas. De esta forma, y conjuntamente con una selección adecuada de otras condiciones operativas de trabajo, se logra reducir la importancia de las interacciones moleculares que dificultan y limitan la aplicabilidad de leyes fisicoquímicas básicas. En particular, si se utilizan técnicas UV para cuantificar simultáneamente a I y II en mezclas de ambos fármacos ¹⁸, es necesario disponer de disoluciones del orden de 10^{-4} M a 10^{-5} M. En este intervalo de concentraciones, no puede desecharse la existencia de interacciones moleculares que compliquen las determinaciones espectroscópicas.

Si la absorbancia de una disolución (que contenga a I y II como solutos) a una cierta longitud de onda se indica con A_D y se utilizan celdas UV con paso óptico de 1 cm, basados en la ley de Beer se puede formular que:

$$A_D = E_N \cdot C_N + E_M \cdot C_M \quad [1]$$

En esta expresión, E_N y E_M representan las absorptividades molares en $1/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ de noscapina y morfina en la disolución, en tanto que C_N y C_M simbolizan las molaridades (mol/l) de I y II en la solución referida. Si en la ecuación [1] se reordenan términos, se obtiene la relación

$$(A_D / C_M) = E_N \cdot (C_N / C_M) + E_M \quad [2]$$

Si se grafican las cantidades (A_D / C_M) frente a (C_N / C_M) , es posible calcular las absorptividades molares E_N y E_M , a partir de la pendiente y ordenada al origen de la recta resultante. En las figuras 2 y 3 se muestran las representaciones lineales de la ecuación [2] para noscapina y morfina en disoluciones metanólicas y acuosas.

En la Tabla 2 se consignan los valores de las absorptividades molares a 25 °C de noscapina (E_N) y de morfina (E_M), determinados en metanol y agua, mediante la técnica gráfica descrita.

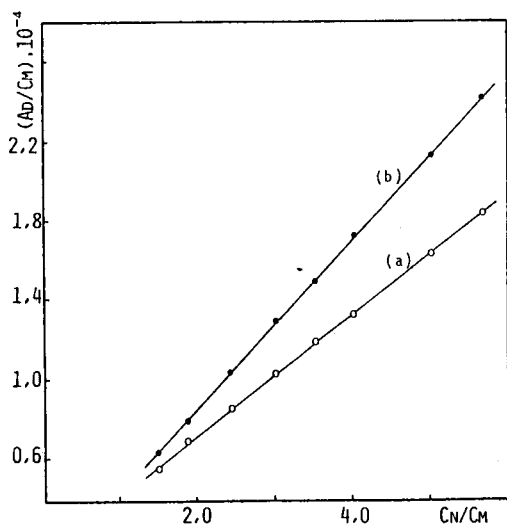


Figura 2. Determinación gráfica de las absorptividades molares de noscapina (E_N) y morfina (E_M) a 25 °C, en soluciones metanólicas conjuntas de ambos solutos. A_D : absorbancia de la solución conjunta de morfina y noscapina; C_N y C_M : molaridades de noscapina y morfina, respectivamente; (a): 285 nm, (b): 312 nm.

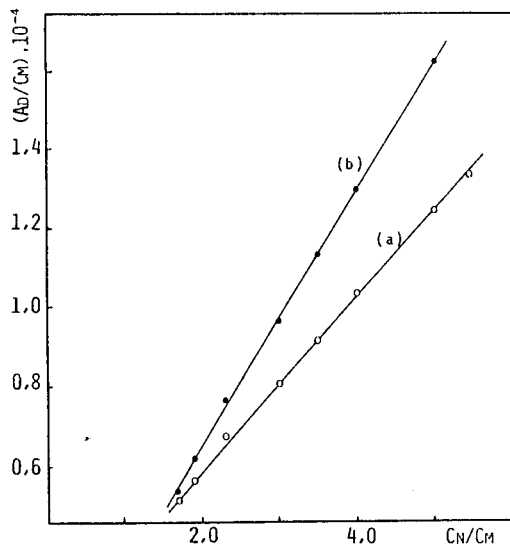


Figura 3. Determinación gráfica de las absorptividades molares de noscapina (E_N) y morfina (E_M) a 25 °C, en soluciones acuosas conjuntas de ambos solutos. A_D : absorbancia de la solución acuosa de morfina y noscapina; C_N y C_M : molaridades de noscapina y morfina, respectivamente; (a): 284 nm, (b): 314 nm.

Absortividad molar	Metanol		Agua	
	285 nm	312 nm	284 nm	314 nm
E _N	3028	4251	2172	3243
E _M	1274	135	1635	61

Tabla 2. Absortividades molares de noscapina (E_N) y de morfina (E_M) en disoluciones conjuntas de ambos solutos en metanol y agua a 25 °C. I: noscapina; II: morfina. Los valores de E_N y E_M en 1/(mol.cm), se determinaron en disoluciones con dos solutos (mezclas de I y II en relaciones molares variables).

Si se cotejan los resultados informados en las Tablas 1 y 2, se observa que los valores de E_N, determinados en disoluciones puras de noscapina en metanol y en agua, presentan diferencias pequeñas (1% a 3%) con respecto a los valores de E_N establecidos en disoluciones conjuntas de noscapina y morfina, con idénticos solventes y longitudes de onda de trabajo. No sucede lo mismo con las absortividades molares de morfina (E_M), las cuales difieren significativamente entre sí, según sea la composición de las disoluciones empleadas en su determinación. Este hecho pone de manifiesto que de las dos sustancias investigadas y dentro de los intervalos de concentración ensayados, es morfina la que muestra mayores e importantes interacciones moleculares, tanto en disoluciones acuosas como en disoluciones metanólicas.

Los resultados de las series de experiencias efectuadas para cuantificar simultáneamente noscapina y morfina en disoluciones patrones acuosas (clorhidratos de I y II como solutos) y en disoluciones patrones metanólicas (bases anhidras de I y II como solutos), se especifican en las Tablas 3 y 4. Debe señalarse que las absortividades molares empleadas en el cálculo de las concentraciones molares de noscapina (C_{NC}) y de morfina (C_{MC}), son las informadas en la Tabla 2.

Si se analizan los resultados obtenidos en las series de experiencias realizadas (Tablas 3 y 4), pueden efectuarse las siguientes observaciones:

Noscapina			Morfina		
C _{NE} .10 ⁴	C _{NC} .10 ⁴	Er%	C _{ME} .10 ⁵	C _{MC} .10 ⁵	Er%
1,298	1,296	-0,2	7,798	7,738	-0,8
1,416	1,420	0,3	7,535	7,500	-0,5
1,529	1,542	0,8	6,573	6,677	1,6
1,630	1,618	-0,7	5,461	5,418	-0,8
1,760	1,761	0,0	4,416	4,452	0,8
1,816	1,813	-0,1	3,335	3,252	-2,5
1,955	1,957	-0,1	2,240	2,261	0,9

Tabla 3. Análisis espectroscópico simultáneo de disoluciones patrones acuosas de clorhidratos de noscapina y de morfina (25 °C, 284 y 314 nm). C_{NE} y C_{NC}: molaridades experimental y calculada de noscapina en la solución acuosa patrón; C_{ME} y C_{MC}: molaridades experimental y calculada de morfina en la disolución acuosa patrón; Er%: error % en la concentración calculada respecto de la empírica; relaciones molares (C_{NE}/C_{ME}) ensayadas: 1,67; 1,88; 2,33; 3,01; 3,99; 5,45 y 8,73.

Noscapina			Morfina		
$C_{NE} \cdot 10^4$	$C_{NC} \cdot 10^4$	Er%	$C_{ME} \cdot 10^5$	$C_{MC} \cdot 10^5$	Er%
1,160	1,155	-0,4	7,821	7,483	-4,3
1,269	1,265	-0,3	6,838	6,993	2,3
1,424	1,423	-0,1	5,887	6,058	2,9
1,475	1,483	0,5	4,914	4,777	-2,8
1,570	1,590	1,3	3,893	3,814	-2,0
1,661	1,662	0,1	2,936	3,098	5,5
1,776	1,775	-0,1	2,016	1,935	-4,0

Tabla 4. Resolución espectroscópica simultánea de disoluciones patrones metanólicas de noscapina y de morfina a 25 °C (285 y 312 nm). C_{NE} y C_{NC} : molaridades experimental y calculada de noscapina en la solución metanólica patrón; C_{ME} y C_{MC} : molaridades experimental y calculada de morfina en la disolución metanólica patrón; Er%: error % de la concentración calculada respecto de la empírica; relaciones molares (C_{NE}/C_{ME}) usadas: 1,48; 1,86; 2,42; 3,00; 4,03; 5,66 y 8,81.

1. El cálculo de las concentraciones de noscapina en las disoluciones patrones acuosas y metanólicas examinadas es bastante exacto, notándose en general que las diferencias entre los valores de C_{NC} y C_{NE} son inferiores al 1%.

2. Los errores en la predicción de las concentraciones molares de morfina son mayores que los de noscapina. En las disoluciones patrones de clorhidratos de I y II, las desviaciones de las magnitudes calculadas están por debajo del 2,5% respecto de los valores experimentales. En el caso de las disoluciones patrones de I y II como bases anhidras, los errores de cálculo oscilan entre un 2% y un 6%. La magnitud de estos errores en la evaluación de C_{MC} podrían ser debidos principalmente a las relativamente bajas concentraciones de morfina experimentadas, a los pequeños valores de absorptividades molares que presenta la droga a las longitudes de onda escogidas y a interacciones moleculares de la sustancia, del tipo de las comentadas precedentemente.

3. Las desviaciones de los valores de concentración calculadas con respecto a los valores experimentales son positivas o negativas, azarosamente. Esto asegura que el procedimiento aplicado no proporciona resultados afectados sistemáticamente de errores positivos o negativos, como ocurre con otras metodologías espectroscópicas empleadas por otros autores ¹².

4. El grado de exactitud logrado en el cálculo de las concentraciones de I y II (C_{NC} y C_{MC}) como clorhidratos es bastante alentador, dada la simplicidad de los procedimientos y recuños instrumentales utilizados. Los resultados logrados con noscapina y morfina como bases son menos satisfactorios que los anteriores, no obstante lo cual presentan una confiabilidad razonable.

CONCLUSIONES

Si las absorptividades molares de noscapina y morfina se determinan mediante la representación gráfica o resolución numérica de la ecuación [2] (a longitudes de onda debidamente seleccionadas), es posible resolver mezclas de las drogas men-

cionadas en disoluciones acuosas o metanólicas de manera fácil y rápida. La confiabilidad y exactitud de los resultados obtenidos con la simple metodología desarrollada, tanto del punto de vista operativo como del instrumental utilizado, es satisfactoria y comparable a la conseguida con otros procedimientos conocidos más elaborados.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Swinyard, E.A. (1987) "Drogas respiratorias" en *"Remington Farmacia"*, Edit. Médica Panamericana, 17a. ed., Bs. As., Vol. 1, pág. 1194.
2. Swinyard, E.A. (1987) "Analgésicos y Antipiréticos" en *"Remington Farmacia"*, Edit. Médica Panamericana, 17a. ed., Bs. As., Vol. 2, págs. 1498-9
3. Levi, G.R. y F. Castelli (1938) *Gazz. Chim. Ital.* **68**: 459-70
4. Kirkpatrick, H.F.W. (1945) *Quart. J. Pharm. and Pharmacol.* **18**: 338-50
5. Berman, E. y H.N. Wright (1953) *Arch. Ind. Hyg. and Occupational Med.* **8**: 518-21
6. Jane, I. y J.F. Taylor (1975) *J. Chromatogr.* **109**: 37-42
7. Minamikawa, T. y K. Matsumara (1976) *Yakugaki Zasshi* **96**: 440-6
8. Umans, J.G., T.S.K. Chiu, R.A. Lipman, M.F. Schultz, S.U. Shin y C.E. Inturrisi (1982) *J. Chromatogr.* **233**: 213-26
9. Nelson, P.E., S.L. Nolan y K.R. Bedford (1982) *J. Chromatogr.* **234**: 407-14
10. Huizer, H. (1983) *J. Forens. Sci.* **28**: 40-8
11. Lucangioli, S.E., G. Fernández Otero, V. Rodríguez y C.N. Carducci (1993) VI Congreso Argentino de Farmacia y Bioquímica Industrial, Bs. As.
12. Andreetta, H.A., R.S. Rimada y N.T. Giménez (1989) *Acta Farm. Bonaerense* **8**: 157-63
13. Martin, A.N., J. Swarbrick y A. Cammarata (1969) *"Physical Pharmacy"*, Lea-Febriger, 2a. ed., USA, págs. 290-324
14. Sokoloski, T.D. (1987) "Soluciones y Equilibrios de Fases" en *"Remington Farmacia"*, Edit. Médica Panamericana, 17a. ed., Bs. As., Vol. 1, págs. 295-316
15. Clarke, E.G.C. (1986) *"Isolation and Identification of Drugs"*, The Pharm. Press, 2a. ed., Londres, págs. 827-8
16. Higuchi, T. y E. Brochmann-Hanssen (1961) *"Pharmaceutical Analysis"*, Interscience Publishers, N.Y., págs. 350-1
17. Albert, A. y E.P. Serjeant (1984) *"The Determination of Ionization Constants"*, Chapman and Hall, Londres, págs. 166-75
18. Rao, C.N. (1970) *"Espectroscopía Ultravioleta y Visible"*, Edit. Alhambra, Madrid, págs. 144-8