



UNIVERSITAT_{DE}
BARCELONA

Estudios de degradación de la itanoxona

Josefa Prat Aixelà



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution 4.0. Spain License.**

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA

ESTUDIOS DE DEGRADACIÓN
DE LA
ITANOXONA



BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0700081350

Barcelona, Febrero de 1988.

Memoria para optar
al grado de Doctor
en Farmacia, pre-
sentada por:

JOSEFA PRAT AIXELÀ

Als meus pares.

La presente memoria para optar al Grado de Doctor en Farmacia: "Estudios de degradación de la Itanoxona", ha sido realizada por JOSEFA PRAT AIXELA en la Unidad de Fisico-Química del Departamento de Farmacia de la Universidad de Barcelona, bajo la dirección de los que suscriben, autorizando su presentación.

Barcelona, Febrero de 1988.



Fdo. Dr. J. de Bolós Capdevila Fdo. Dr. S. García Fernández

AGRADECIMIENTOS.

Esta memoria, que se presenta para optar al grado de Doctor en Farmacia, ha sido realizada bajo la dirección del Dr. Serafín García Fernández y del Dr. Jordi de Bolós Capdevila, quién con su valiosa ayuda tanto ha contribuido a la realización de esta tesis.

A Dn. Juan Cots Rubió, que con su colaboración en la aplicación informática de los cálculos matemáticos, tanto ha ayudado en la finalización de este trabajo.

En la asignación estructural de los productos de degradación, hay que agradecer la colaboración y ayuda recibida por parte del Dr. Mario Robiralta.

En algunas técnicas especiales ha sido necesaria la ayuda de personas con más conocimientos y práctica, como la Dra. Montserrat Baucells, del Servicio de Espectroscopía de la Universidad de Barcelona, a la Dra. Victoria Girona, la Dra. Roser Güell y a la Lda. Marta Espina.

A todos los miembros de la Unidad de Fisico-Química, por el soporte recibido en todo momento.

I N D I C E

1.- INTRODUCCION	1
2.- GENERALIDADES	4
2.1 Historia	4
2.2 Síntesis	6
2.3 Características físicas, químicas y físico-químicas....	7
2.3.1 Solubilidades	8
2.3.1.1 Solubilidad y disociación ácida en medio acuoso.....	9
2.3.2 Espectro UV	16
2.3.3 Espectro IR	23
2.3.4 Espectro de masas	23
2.3.5 Espectro de resonancia mag- nética nuclear de protón	28
2.3.6 Espectro de resonancia mag- nética nuclear de ^{13}C	28
2.3.7 Espectro de difracción de rayos X	31
2.4 Estudios farmacocinéticos	35
3.- APLICACION DE LA CINETICA QUIMICA A LOS ESTUDIOS DE ESTABILIDAD	38
3.1 Degradación en disolución	45
3.2 Reacciones en fase heterogénea	51
4.- METODO ANALITICO	56
4.1 Espectrofotometría UV	56
4.1.1 Técnica espectrofotométrica apli- cada a muestras turbias.....	69
4.1.2 Aplicación al análisis de la Itanoxona...	72
4.2 Cromatografía en capa fina cuantitativa	75
4.2.1 Aplicación al análisis de la Itanoxona....	76
4.3 Validación del método	79
4.3.1 Tiempo de elución	79
4.3.2 Reproducibilidad	82
4.3.3 Exactitud	86
4.3.4 Linealidad	87
4.3.5 Compatibilidad analítica con sus productos de degradación.....	90

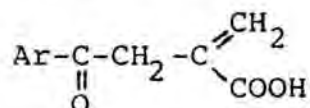
5.- ESTUDIOS EXPERIMENTALES DE DEGRADACION	93
5.1 Degradación en fase homogénea	99
5.1.1 Estabilidad del sólido puro cristalizado..	99
5.1.2 Estabilidad en medio acuoso	103
5.1.3 Estabilidad en solución etanólica	110
5.1.3.1 Resultados	118
5.2 Estudios de degradación en fase heterogénea..	158
5.2.1 Estudios sobre placas de silicagel ...	158
5.2.1.1 Resultados	160
5.2.2 Estudios sobre otros soportes sólidos ..	188
5.2.2.1 Estabilidad sobre lactosa.....	189
5.2.2.2 Estabilidad sobre celulosa microcristalina	200
5.2.2.3 Estabilidad sobre estearato de magnesio	210
5.2.2.4 Estabilidad sobre soportes de óxido de magnesio	219
5.2.2.5 Estabilidad de solución etanó- lica de Itanoxona en presencia de sulfato magnésico en suspensión..	220
5.2.2.6 Estabilidad sobre talco	228
6.- INTERPRETACION DE LOS PROCESOS CINETICOS DE DEGRADACION	238
7.- CARACTERIZACION DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACION	257
7.1 Producto <u>1</u>	257
7.2 Producto <u>0</u>	268
7.3 Producto <u>3</u> y <u>3</u> ₁	276
7.4 Producto <u>a</u>	290
8.- INTERPRETACION GLOBAL DEL PRO- CESO DE DEGRADACION	296
9.- CONCLUSIONES	299
10.- BIBLIOGRAFIA	304

1.- INTRODUCCION.

1. INTRODUCCION.

En 1982 se estableció un convenio entre el Laboratorio de Física de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Montpellier y nuestro Departamento de Fisico-Química Aplicada. Según dicho convenio se realizarían estudios de estabilidad de nuevas moléculas de interés farmacológico, sintetizadas en los Laboratorios Pierre Fabre, cuyo estudio farmacocinético se llevaba a cabo en la Universidad de Montpellier.

La Itanoxona (F-1379) forma parte de una serie de moléculas sintetizadas y ensayadas biológicamente en el "Centre de Recherches des Laboratoires Pierre Fabre", y que corresponden a la fórmula general:



y que han sido investigadas en uno de los programas desarrollados por dicho Centro.

El programa incluye 19 moléculas que se diferencian por la fórmula del sustituyente arílico.

Todas ellas pueden ser sintetizadas, en forma aparentemente sencilla, mediante una reacción de Friedel y Crafts, a partir del anhídrido itacónico y el sustrato aromático adecuado.

La Itanoxona es una de las moléculas biológicamente más activas estudiadas en el programa. El estudio experimental de sus propiedades farmacológicas, ha puesto de manifiesto su probable interés en medicina humana.

El motivo de la tesis que se expone a continuación, constituye un ejemplo de estudio sobre estabilidad y se ciñe a las diversas etapas que deben seguirse en estudios de esta naturaleza.

Estas etapas a seguir, son las siguientes:

Primera: Estudio de las propiedades químicas y fisico químicas del compuesto. Este es un aspecto muy importante para poder plantear los métodos más idóneos de análisis de la sustancia.

Es conveniente realizar un estudio bibliográfico para reunir toda la información existente sobre las propiedades del producto, y es además recomendable intentar comprobar en la muestra investigada, su cumplimiento.

Los estudios espectroscópicos, cromatográficos y cristalográficos, deben ser especialmente tomados en consideración.

Segunda: Estudios de degradación forzada.

Se debe procurar que se formen los principales productos de degradación, a fin de caracterizarlos en la medida de lo posible, y en una etapa posterior, plantear métodos analíticos que no interfieran con dichos productos.

Las degradaciones se deben provocar por medio de diversos agentes, tales como la temperatura, la radiación, la humedad, la disolución en distintos disolventes, la adsorción o interposición con distintos materiales sólidos, pulverulentos, etc.

Tercera: Puesta a punto de uno o varios métodos analíticos compatibles con los productos de degradación.

Este es un aspecto de los estudios de estabilidad que requiere un cuidado especial.

Para poder afirmar que no se dan interferencias con productos de degradación es necesario un conocimiento experimental del comportamiento de dichos productos aislados, aunque se desconozca su naturaleza química exacta.

Cuando se dispone de varios métodos utilizables, se debe considerar que el método más idóneo, es el que mejor se adapta a las siguientes exigencias:

- a) Buena sensibilidad, es decir, capacidad de apreciar variaciones de concentración mínimas.
- b) Precisión, es decir, incidencia mínima de los errores aleatorios, caracterizados por la varianza de los resultados.
- c) Simplicidad de ejecución, ya que se deberá realizar repetidamente.
- d) Proporcionalidad entre la concentración y la respuesta. La simple linealidad pone de manifiesto la incidencia de factores que pueden modificarse a lo largo de las determinaciones.
- e) Rango de concentraciones apropiado. Esta propiedad se relaciona con la sensibilidad y la precisión.

Cuarta: Estudios experimentales de degradación.

Estos estudios deben realizarse en diferentes condiciones y medios, teniendo en cuenta las formas farmacéuticas y las preparaciones más corrientemente em-

pleadas. Se debe relacionar la disminución del principio activo en función del tiempo, con la formación del producto de degradación.

Se debe seguir el proceso de degradación en medio homogéneo, pero es también importante estudiar la degradación en medio sólido estando el principio activo interpuesto sobre diferentes excipientes, tal como se mantiene en formas del tipo de comprimidos y grageas.

Quinta: Los resultados del apartado interior deben ser objeto de tratamiento estadístico y deben ser elaborados en la forma que permita definir ciertas características de los procesos cinéticos implicados. Los apartados cuarto y quinto no pueden en la práctica separarse demasiado, ya que el tratamiento cinético, pueden obligar a realizar nuevos experimentos de degradación para poder aclarar los resultados del tratamiento matemático de los mismos.

Sexta: Los productos de degradación deben ser aislados y caracterizados físico-químicamente, sobre todo en el terreno espectroscópico. Es este un campo muy dificultoso, ya que generalmente no se dispone de cantidad apreciable de dichos productos.

Séptima: Teniendo en cuenta todos los datos obtenidos relativos al producto estudiado, a su cinética de degradación y a los productos de degradación aislados, debe plantarse una interpretación global del proceso o procesos de degradación. Es difícil fijar los límites a los que es posible llegar. Es necesario intentar llegar lo más lejos posible en esta interpretación, pero se debe ser prudente al mismo tiempo, distinguiendo claramente lo que son resultados contrastados y seguros de las simples conjeturas.

2.- GENERALIDADES.

2. GENERALIDADES.

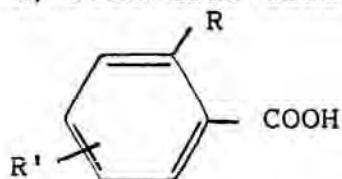
2.1. HISTORIA.

Los medicamentos evolucionan constantemente con el fin de mejorar su acción farmacológica y disminuir o anular sus efectos secundarios y su toxicidad.

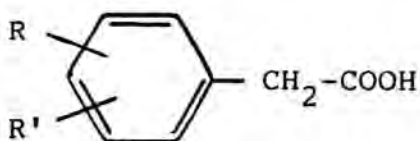
El grupo de antiinflamatorios no esteroidicos constituye un buen ejemplo de este esfuerzo de superación en el camino de conseguir la acción farmacológica deseada, con el mínimo de efectos secundarios.

Las familias químicas, que progresivamente se han ido investigando dentro del amplio campo de los antiinflamatorios no esteroidicos y que han demostrado interés por su acción farmacológica, se pueden agrupar en:

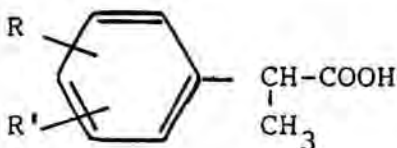
- a) Derivados benzoicos (1), por ejemplo la Aspirina



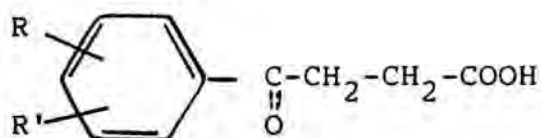
- b) Derivados fenilacéticos (2), por ejemplo Diclofenac (Voltarén)



- c) Derivados aril β -propiónicos, por ejemplo Naproxen (3), Fenoprofén (4) ...



- d) Derivados fenilcetobutíricos, por ejemplo Fenbufen (5) (6)



Este último grupo ha resultado ser muy prometedor ya que el esqueleto arilcetobutírico aparece como el soporte de una nueva generación de fármacos con propiedades farmacológicas diversas.

Cabe destacar, entre dichas acciones farmacológicas:

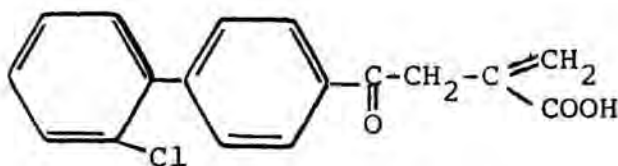
- Acción colerética
- Acción antirreumática
- Acción antiinflamatoria
- Acción antiagregante plaquetario
- Acción hipolipemiante
- Acción hipouricemiante. (7,8)

Si bien estas acciones aparecen con distinta intensidad en los distintos compuestos del grupo.

Se da en esta serie de compuestos una paradoja bien conocida de los farmacólogos según la cual estructuras químicamente muy parecidas presentan diferencias notables en los efectos farmacológicos que producen.

Dentro de este grupo la Sociedad Pierre Fabre en colaboración con el Departamento de Química-Física de la Facultad de Farmacia de Montpellier, emprendieron el estudio de una serie de compuestos de síntesis entre los que se encuentra la ITANOXONA, cuya estabilidad y estudios cinéticos de degradación son el objeto de la presente Tesis.

La estructura y nombre químico de la Itanoxona es la siguiente:



Acido |(O-clorofenil)-4'fenil|-4oxo-4metilen-2
butírico.

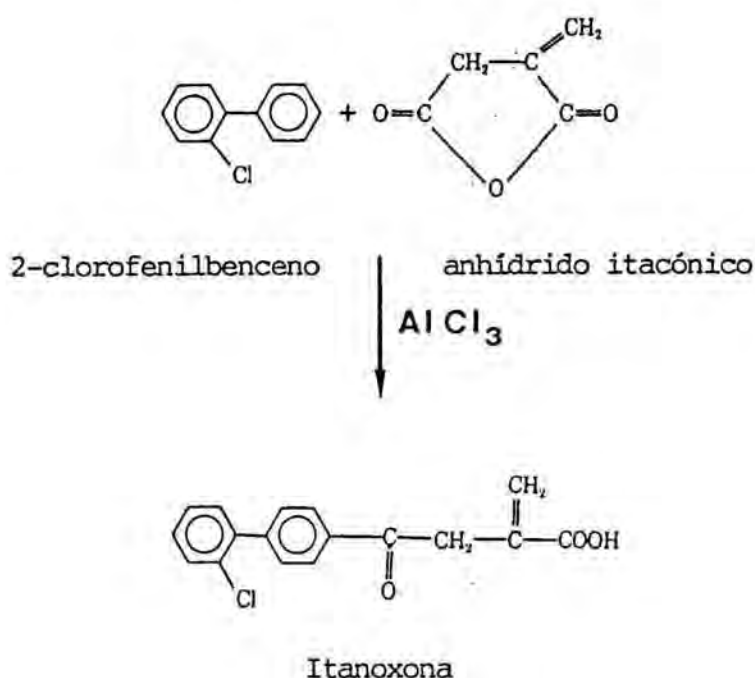
El estudio experimental de las propiedades farmacológicas de este compuesto ha puesto de manifiesto que su actividad hipolipemiante e hipouricémica destacan sobre su posible acción antiinflamatoria que es la que inicialmente se buscaba.

2.2. SINTESIS.

La Itanoxona se obtiene por síntesis, mediante acilación de Friedel-Crafts entre el anhídrido itacónico y el 2-clorofenilbenceno (2-clorobifenilo), con un rendimiento del 35-50% (9,10).

El anhídrido itacónico, que actúa como agente acilante, es tratado con el substrato aromático 2-clorofenilbenceno en solución de cloruro de metileno y en presencia de cloruro de aluminio. La acilación se efectúa en posición para sobre el benceno no sustituido (según el esquema adjunto) (8).

Aunque la acilación es selectiva, puede dar igualmente otro derivado, el ácido 4-(4'-(4-clorofenilo)fenil)-4-oxo-2-metilen butanoico, que se separa de la Itanoxona por recristalización.



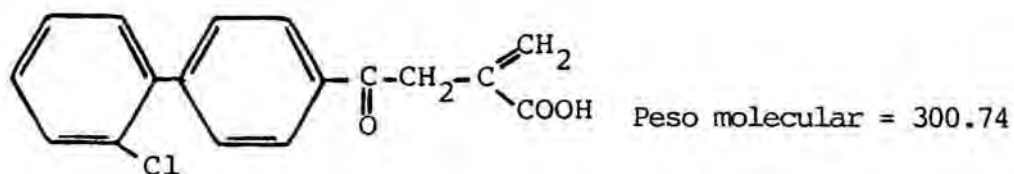
Síntesis de la Itanoxona a partir del 2-clorofenilbenceno y del anhídrido itacónico.

2.3. CARACTERISTICAS FISICAS, QUIMICAS Y FISICO-QUIMICAS.

La denominación química de la Itanoxona es la de Ácido ((orto clorofenil)-4'fenil)-4oxo-4metilen-2butírico, cuya denominación común internacional es el de Itanoxona (11).

Se trata de un polvo cristalino de color blanquecino. Los cristales obtenidos en etanol son monoclinicos, según la clasificación de Brevais.

La fórmula empírica de la Itanoxona es $C_{17}H_{13}ClO_3$, siendo la fórmula desarrollada :



Se ha pesado una cierta cantidad de sustancia manteniéndola en desecador con cloruro cálcico anhidro, en el que se ha hecho el vacío, hasta peso constante. Se ha obtenido 0% de humedad.

El punto de fusión determinado mediante platina de - Köfler es de 186-188°C.

Cousse y cols. (12) han determinado el valor del pKa de este ácido para mezclas dioxano/agua, con proporción de agua progresivamente creciente, obte-

niendo a partir de estos datos, por un método de extrapolación, el pKa en medio acuoso, cuyo valor es de 5.30 .

En mezclas de dioxano/agua los valores del pKa son bastante más elevados, tal como podemos ver en el cuadro siguiente, en el que se exponen los valores de pKa para diversas mezclas de dioxano/agua:

% dioxano en volumen	20	40	60	80	90
pKa Itanoxona	-	-	6.68	7.85	8.38

2.3.1. Solubilidades.

Cousse y cols. (12) dan una serie de solubilidades de la Itanoxona en distintos disolventes.

DISOLVENTES	SOLUBILIDAD (g/100ml)
n-hexano	0.00025
agua	0.019
cloroformo	0.150
éter	0.170
acetonitrilo	0.200
acetato de etilo	0.240
metanol	0.390
etanol	0.500

DISOLVENTES	SOLUBILIDAD (g/100 ml)
n-octanol	0.75
dioxano	3.90
tetrahidrofurano	4.34
dimetilformamida	28.50
dimetilsulfóxido	38.40

2.3.1.1. Solubilidad y disociación ácida en medio acuoso.

Se han realizado estudios experimentales para comprobar la solubilidad en agua, intentando al propio tiempo poner de manifiesto si cumple la ley de Beer.

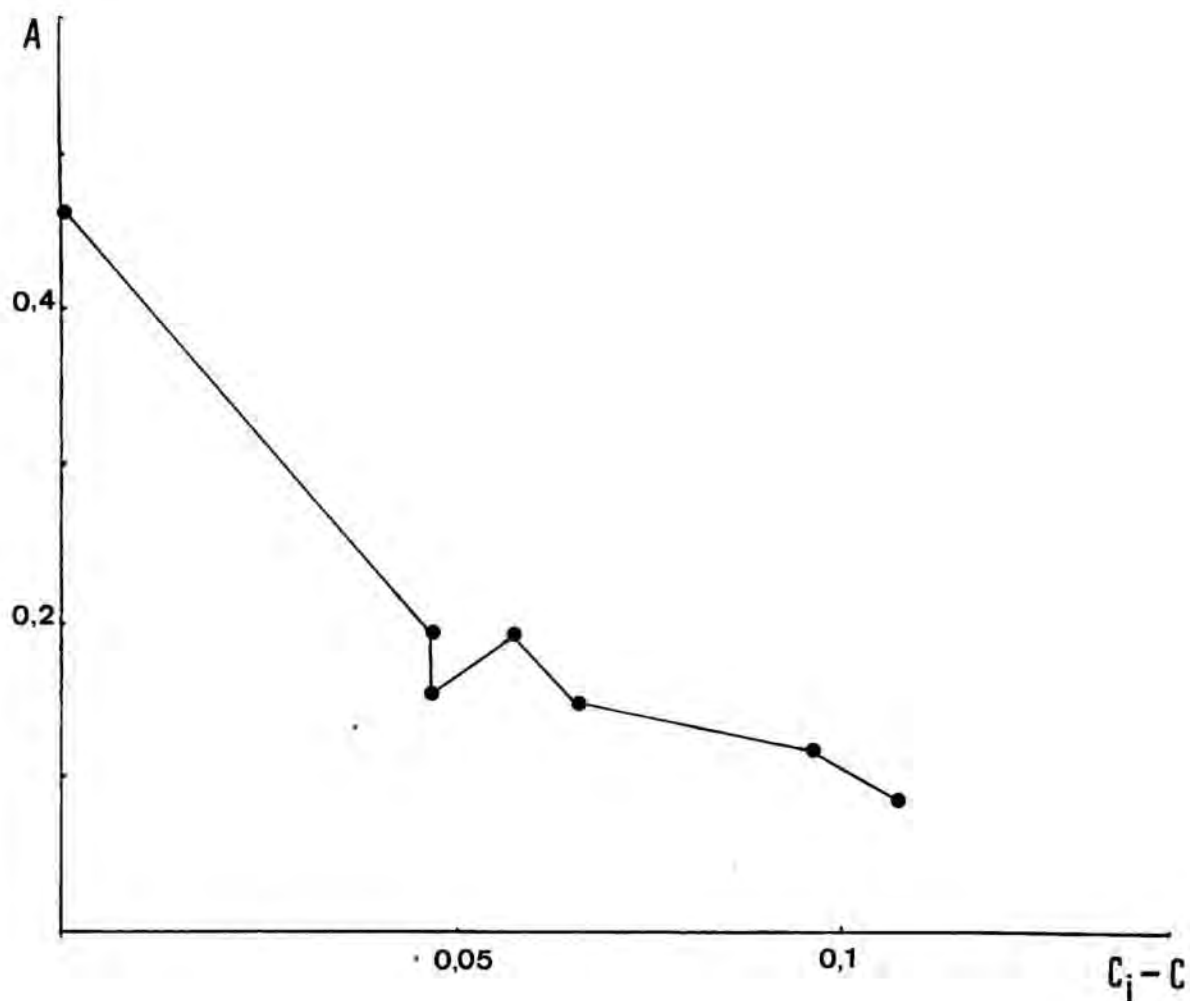
Nuestros esfuerzos han tropezado con dificultades, quizás debidas a la metódica utilizada. Dicha metódica consiste en partir de una disolución con exceso de soluto, y por dilución, estudiar los valores progresivos de las absorbancias hasta obtener una disminución, lo cual nos indicará el punto en que toda la sustancia empleada se ha disuelto. Con ello se puede comprobar la ley de Beer al mismo tiempo que se determina la solubilidad de la sustancia.

Los resultados obtenidos al intentar determinar estas curvas de absorbancia frente a la dilución, han resultado altamente contradictorios, poniendo de manifiesto la existencia objetiva de factores que dificultan el método de determinación que previamente se ha diseñado (Figura 1).

Existe una diferencia importante entre la metódica que se ha utilizado y la descrita por Cousse y cols., (12) ya que dichos autores parten de sistemas con un enorme exceso de soluto, a partir de los que obtienen, tras agitación, centrifugación y filtración, una disolución que consideran saturada. En el método utilizado en nuestro laboratorio se parte de muestras con un pequeño exceso de soluto, que se supone que se disolverá en las operaciones de dilución progresiva.

Figura 1: Representación de la absorbancia frente a la diferencia entre la concentración inicial y la obtenida en cada dilución.

A	mg/ml	$C_i - C$
0.466	0.140	0
0.194	0.093	0.047
0.150	0.093	0.047
0.190	0.082	0.058
0.145	0.064	0.076
0.115	0.044	0.096
0.082	0.033	0.107



C (mg/ml)	A
0.019	0.525
0.0135	0.52
0.0105	0.516
0.0086	0.522
0.0073	0.485
0.0056	0.38
0.0045	0.3
0.0038	0.255
0.003	0.2
1.0E-3	0.06
0	0

SOLUBILIDAD = 0.0079 mg/ml

ABSORBILIDAD (1%, 1cm) = 660.7

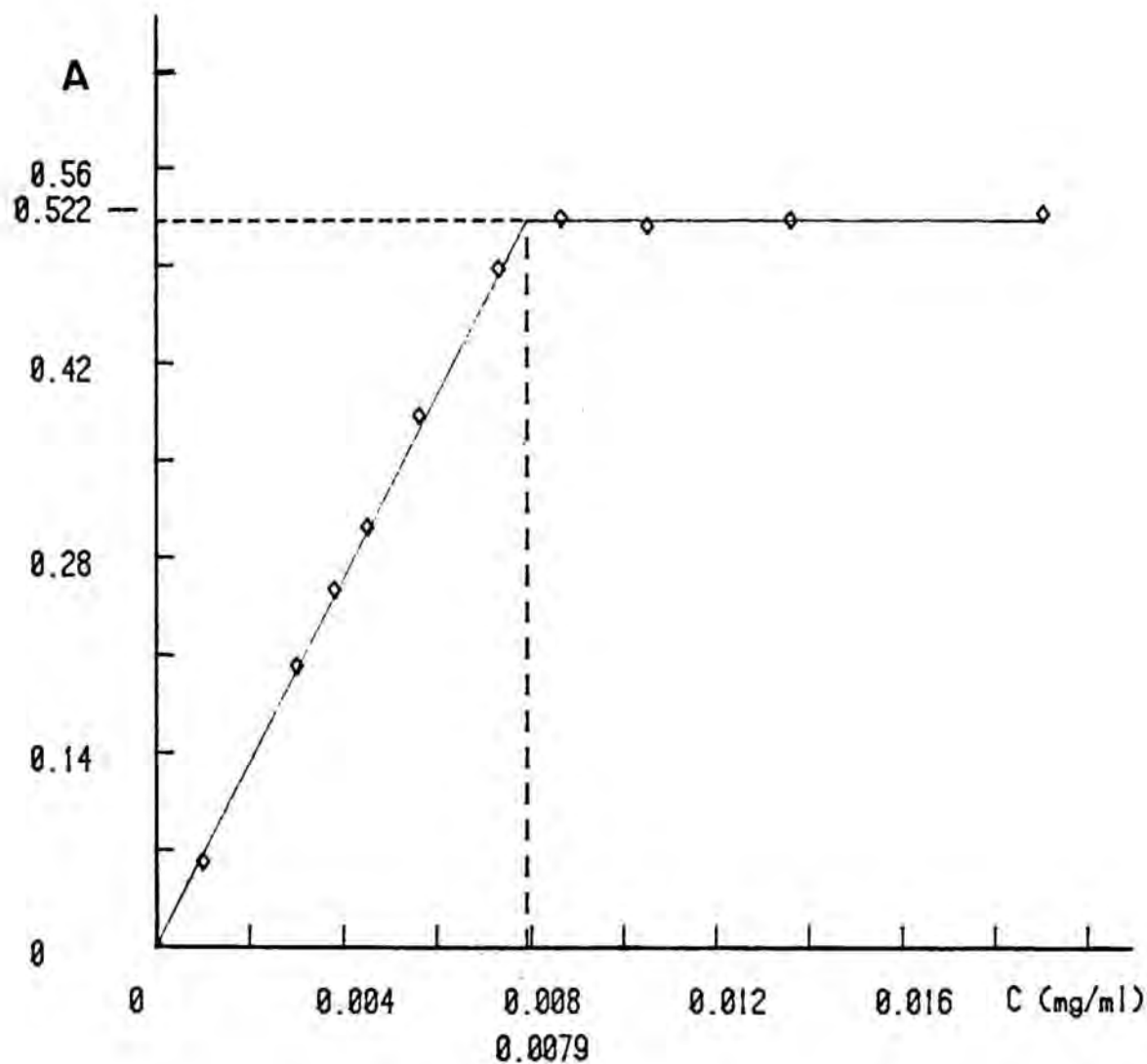


Figura 2

Se ha intentado mejorar el método aumentando la cantidad de Itanoxona en suspensión, pero los resultados siguen siendo poco concordantes. Se ha realizado la misma operación a pH controlado mediante un tampón de fosfatos según Sörensen a pH=6.95. A este pH la solubilidad es aproximadamente de 0.0079 mg/ml y el valor $E(1\%, 1\text{cm}) = 660.7$ (Fig. 2). El dato publicado por Cousse y cols. (12,13) sobre la solubilidad en agua (0.19 mg/ml) ha de estar forzosamente equivocado a la luz de estos resultados. Hemos estudiado la influencia del pH sobre la absorbilidad, alcalinizando con sosa diluida una solución de Itanoxona comprobando que desde pH=6 hasta pH=11 las alteraciones en la absorbilidad son mínimas (Tabla 3).

Cousse y cols. han determinado el pK de la Itanoxona en agua por un método de extrapolación de los valores de pK determinados en disoluciones de dioxano en agua, con concentración de dioxano progresivamente decreciente. Por este procedimiento han podido obtener el valor de dicho pK difícilmente determinable por métodos potenciométricos realizados directamente en el agua, debido a su baja solubilidad. El valor hallado de 5.6, ha sido comprobado por dichos autores mediante dos técnicas diferentes.

Aceptando dicho valor del pK y suponiendo que la variación de la solubilidad con el pH se debe a la presencia de la forma aniónica soluble de la Itanoxona a pH alcalino, hemos podido hacer una estimación teórica de las solubilidades a los distintos pH.

$$pK = pH - \log \frac{C - |RH|}{|RH|} = pH - \log \left(\frac{C}{|RH|} - 1 \right)$$

RH	:	Forma sin ionizar.
R ⁻	:	Forma aniónica.
C	:	R ⁻ + RH

pH	ABSORBANCIA	Máximo (nm)
5.70	0.395	270.0
7.00	0.392	270.0
8.02	0.392	270.2
9.50	0.395	270.5
10.20	0.392	270.5
11.20	0.394	271.25
11.95	0.450	270.8
12.95	0.480	272.0
13.60	0.500	287.7

Tabla 3: Influencia del pH en la absorbilidad.

A partir de esta ecuación se puede establecer una expresión general que relacione $|RH|$, la concentración C y el pH:

$$pH - pK = \log \left(\frac{C}{|RH|} - 1 \right)$$

$$|RH| = C / (10^{pH - pK} + 1)$$

El valor de $|RH|$ es el factor limitante de la solubilidad y debe permanecer constante. Su valor lo podemos determinar a $pH=6.95$:

$$|RH| = \frac{0.0079}{1 + 10^{1.35}} = 3.37 \cdot 10^{-4}$$

a otro pH cualquiera, el valor de C valdría:

$$C = 3.37 \cdot 10^{-4} \cdot (1 + 10^{pH - 5.6})$$

pudiendo hallar una curva teórica de solubilidades a los distintos pH (Fig. 4).

De hecho el comportamiento de la sustancia disuelta no es perfectamente conocida y pueden darse algunos tipos de interacción de naturaleza asociativa, tales como dimerización por enlaces de hidrógeno, formación de micelas facilitado por el carácter hidrófilo e hidrófobo de la molécula en sus distintas partes, etc, que pueden influir en que la solubilidad real sea inferior a la prevista.

Hemos comprobado la solubilidad en etanol, obteniendo concordancia con el valor obtenido por Cousse.

pH	C (mg/ml)
2.5	0.00034
3.0	0.00034
3.5	0.00034
4.0	0.00035
4.5	0.00036
5.0	0.00042
5.5	0.00060
6.0	0.00118
6.5	0.00301
7.0	0.00880
7.5	0.02710
8.0	0.08499
8.5	0.26802
9.0	0.84684

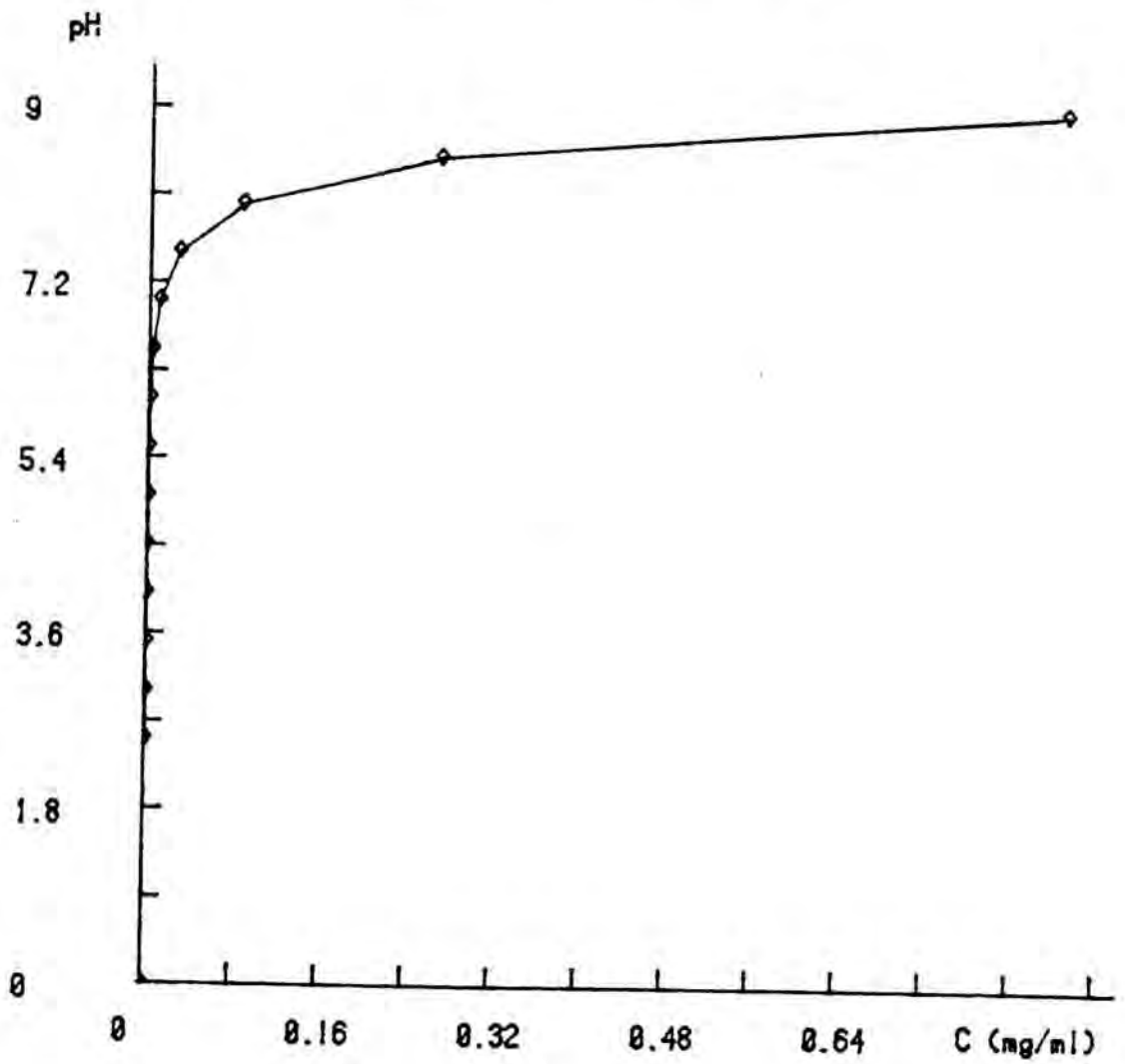


Figura 4

2.3.2. Espectros UV.

Para la obtención de los espectros UV de la Itanoxona, se ha empleado cubeta de cuarzo de 1 cm, y el espectrofotómetro utilizado es un Perkin Elmer, modelo 356.

Se ha obtenido los espectros de la Itanoxona en etanol, metanol y agua, que se muestran en las figuras 6, 7 y 8.

Para facilitar la comparación de los parámetros característicos de estos espectros, en la tabla 5 tenemos, para cada disolvente, la longitud de onda de su máximo y los valores correspondientes de absorbancia y concentración.

DISOLVENTE	CONCENTRACION	ABSORBANCIA	MAXIMO(nm)
Etanol absoluto	0.1006 mg/ml	0.650	266
Metanol	0.0112 mg/ml	0.695	264.7
Agua	-	-	270

Tabla 5 : Relación de los parámetros más característicos de la Itanoxona para cada disolvente.

Las disoluciones acuosas se han obtenido por filtración de una suspensión de Itanoxona/agua, de la que no podemos asegurar la concentración. Tal como se ha referido en el apartado anterior, no ha sido posible una determinación de la solubilidad en medio acuoso por dilución progresiva de una disolución con exceso de Itanoxona. Sin embargo se ha visto reiteradamente, que después de la filtración, las

Figura 6 : Espectro UV de Itanoxona en etanol.

A

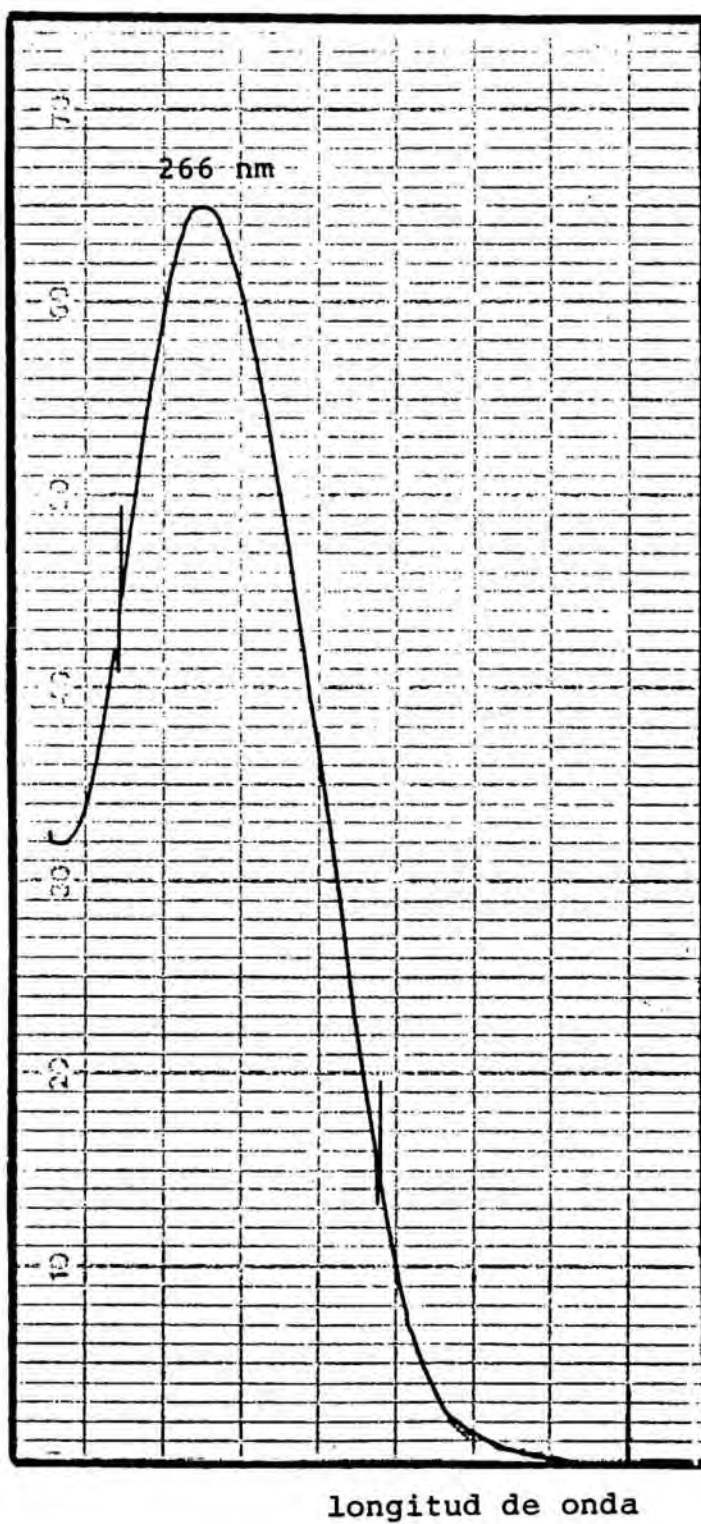


Figura 7 : Espectro UV de Itanoxona en metanol.

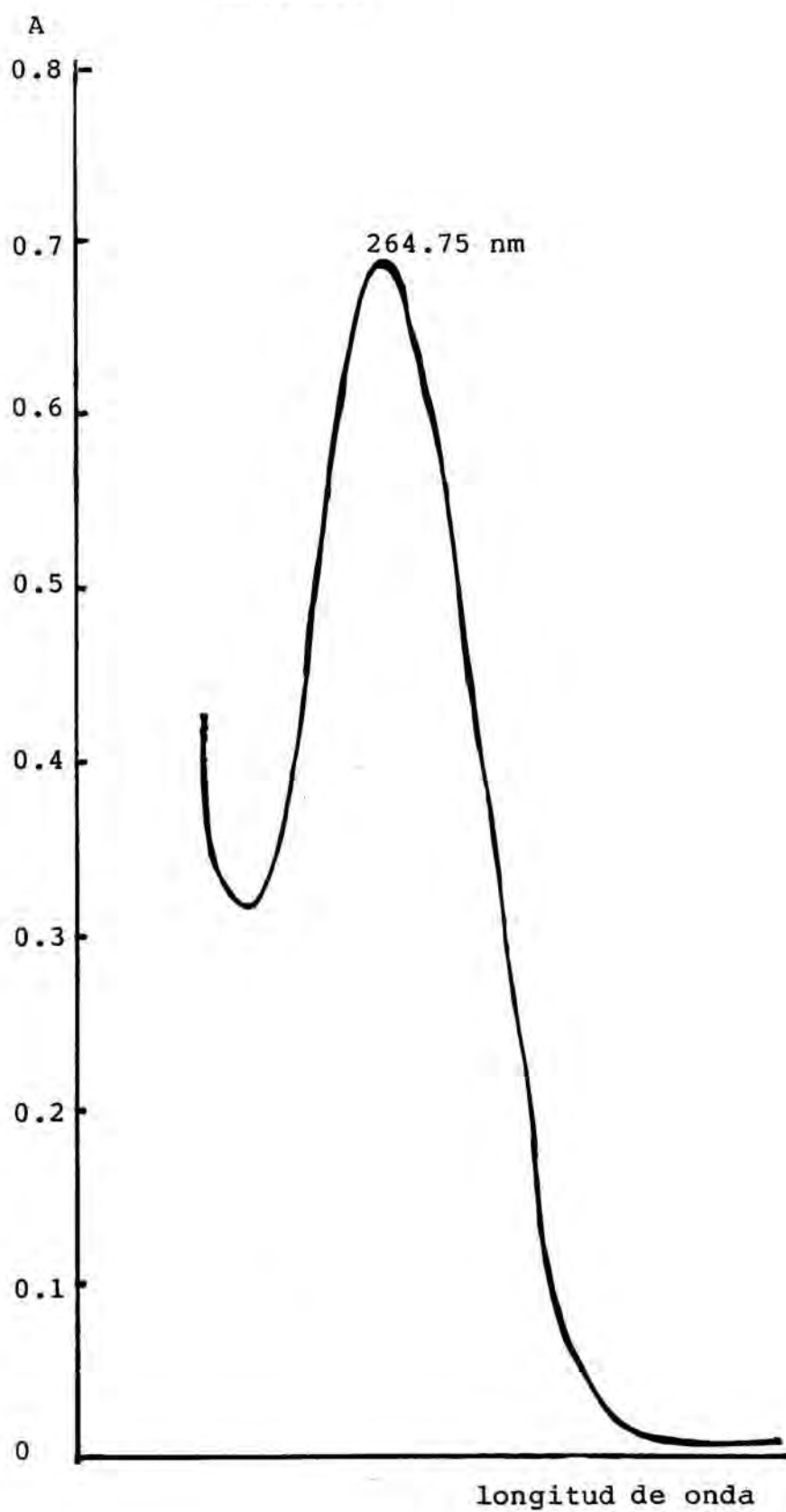
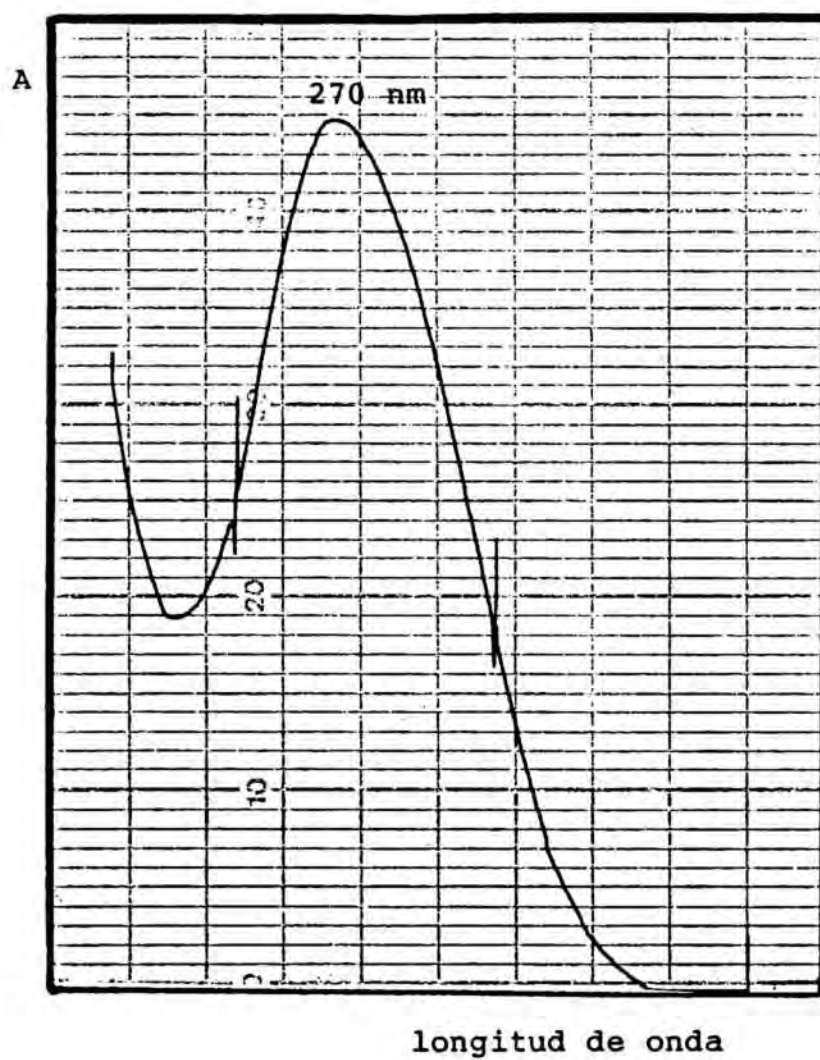


Figura 8: Espectro UV de Itanoxona en agua.



absorbancias siguen fielmente la ley de Beer, pero al no saber la concentración de producto disuelto no se puede calcular la absorbabilidad. Curiosamente, después de la filtración, la absorbancia es marcadamente superior a la que se obtiene en presencia de soluto cristalizado. Este efecto debe interpretarse como debido a algún tipo de fenómeno de adsorción.

Se ha comprobado que las disoluciones etanólicas cumplen la ley de Beer en la longitud de onda de su máximo (266 nm), y ello ha constituido una de las bases del método analítico, que se describe en el apartado 4.1.

También se ha determinado el cumplimiento de la ley de Beer en metanol, como queda patente en la figura 9, de la que se determina la absorbabilidad.

En medio acuoso y medios acuosos tamponados (pH 7 y 9) también se mantiene la proporcionalidad entre absorbancia y concentraciones (figura 10) (14). En medio acuoso se ha estudiado la variación de la curva espectral con el pH; para ello se ha partido de una disolución filtrada, de aproximadamente 0.400 de absorbancia, a la que se han añadido volúmenes despreciables de una solución de hidróxido sódico, para elevar el pH, realizando los espectros correspondientes previo control de pH. En el intervalo de 7 a 13 no se aprecian modificaciones en el trazado del espectro ni en la posición del máximo, pero sí se observa un aumento de la absorbilidad a partir de pH=12, junto con un ligero desplazamiento del máximo hacia longitudes de onda superiores. A pH=13.6 se observa además un cambio sustancial del espectro.

Como conclusión podemos decir que en el intervalo de pH entre 7 y 11, la variación del pH no modifica los valores de la absorbancia.

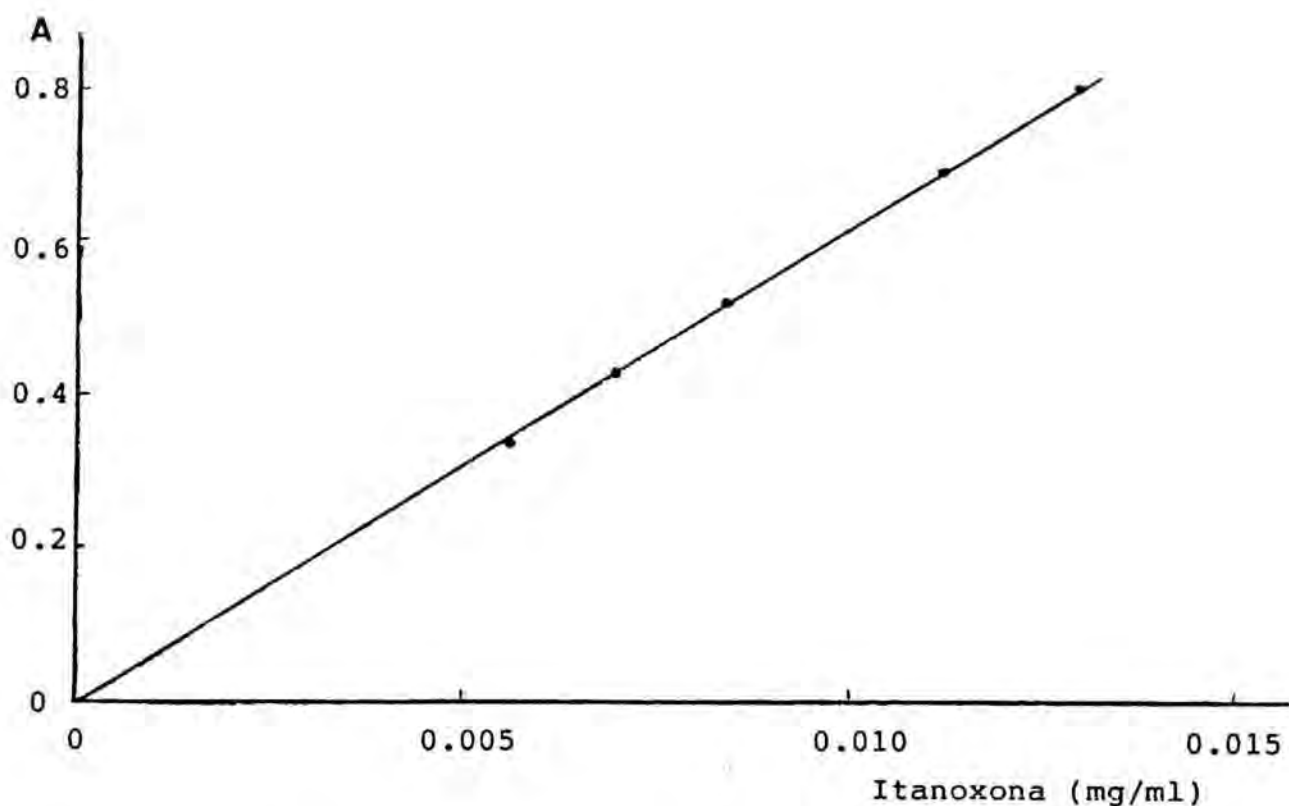


Figura 9: Representación de la absorbancia (A) frente a la concentración de Itanoxona (mg/ml) en solución metanólica, como comprobación de la ley de Beer. (Absorbabilidad -1%,1cm-: 623.988).

CONCENTRACION (mg/ml)	ABSORBANCIA
0.0056	0.338
0.0070	0.430
0.0084	0.525
0.0112	0.695
0.0130	0.800

Absorbabilidad = 623.988 (1%,1cm).

Desv. estandard = 0.1892

Correlación(r) = 0.99962

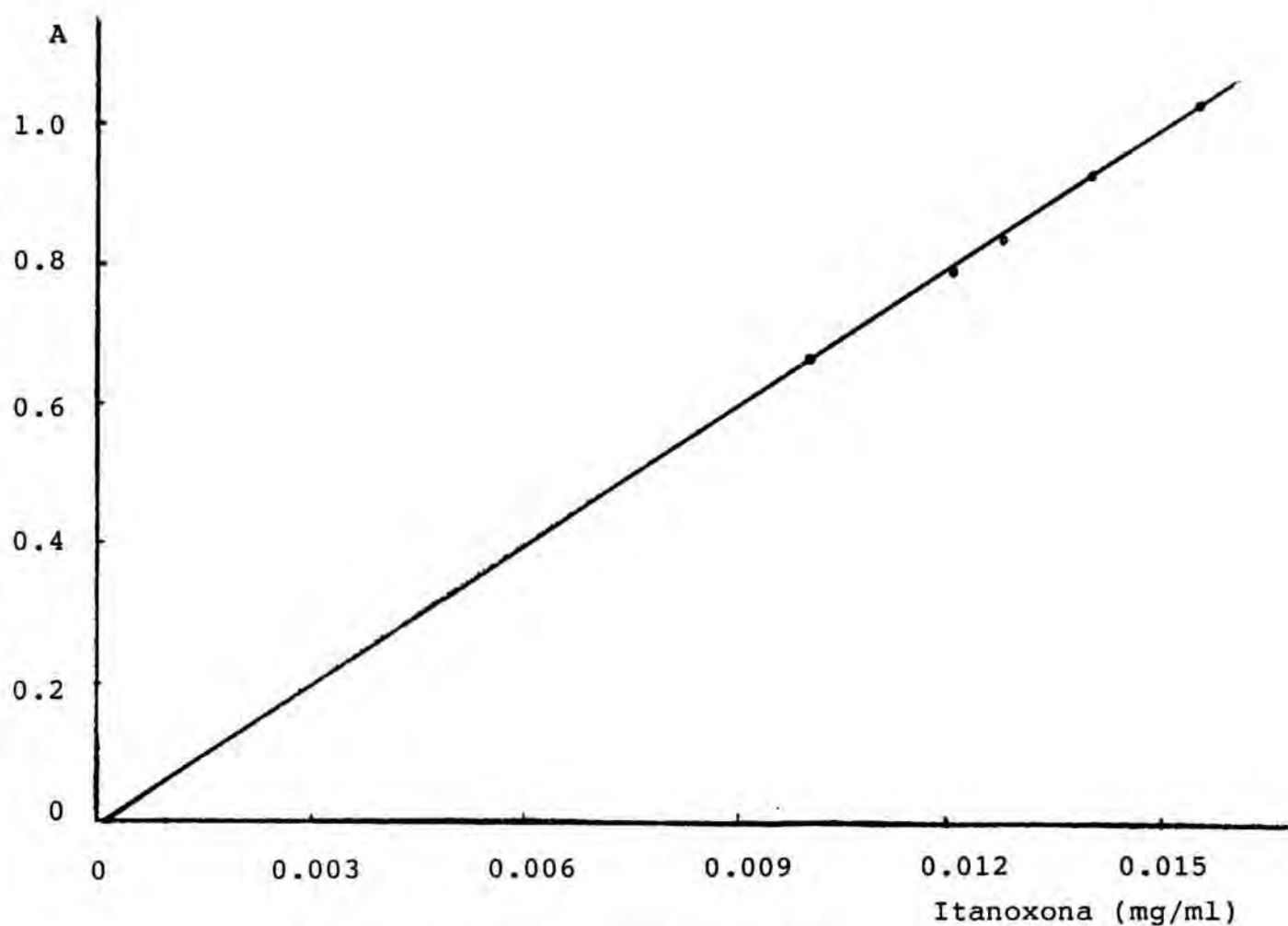


Figura 10: Representación de la absorbancia (A) frente a la concentración de Itanoxona (mg/ml) en solución acuosa amortiguadora a pH=9.0, como comprobación de la ley de Beer. (Absorbabilidad -1%,1cm-: 672.410).

CONCENTRACION (mg/ml)	ABSORBANCIA
0.0155	1.030
0.0140	0.928
0.0127	0.840
0.01206	0.798
0.0100	0.660

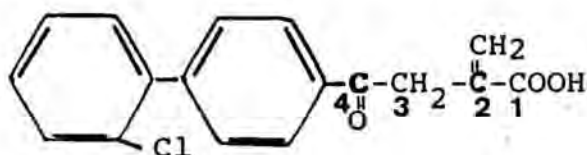
Absorbabilidad = 672.410 (1%,1cm).

Desv. estandard = 0.1391

Correlación (r) = 0.99998

2.3.3. Espectros IR.

Se ha obtenido el espectro IR de la sustancia pura (figura 11), que concuerda de manera escrupulosa con el que se cita en la bibliografía (15). Como características más sobresalientes podemos señalar en dicho espectro, el trazado comprendido entre 650 y 1600 cm^{-1} , que corresponde a la denominada huella dactilar de la sustancia, y las bandas a 1610 cm^{-1} , propias de los enlaces C-C de núcleos aromáticos; a 1630 cm^{-1} , propio del doble enlace etilénico; a 1675 cm^{-1} , propio de un grupo carbonilo de una cetona conjugada ($\text{C}_4=\text{O}$) con el núcleo aromático; a 1690 cm^{-1} , del enlace ($\text{C}_1=\text{O}$) del grupo carboxílico; a 2900 cm^{-1} , de los enlaces C-H alifáticos; a 3080 cm^{-1} , de los enlaces C-H aromáticos y etilénicos, y una amplia banda entre 2500 y 3200 cm^{-1} , propia del grupo OH de la función carboxílica.



2.3.4. Espectro de Masas.

Se ha comprobado que el espectro de masas de la Itanoxona concuerda con los datos bibliográficos. La secuencia de valores m/e , con su abundancia relativa, así como las condiciones en que se ha realizado el espectro, quedan referidos a continuación.

Se pueden destacar como valores más significativos:

1. Los de m/e 300-302, que al ser los valores más elevados que se han obtenido, definen la

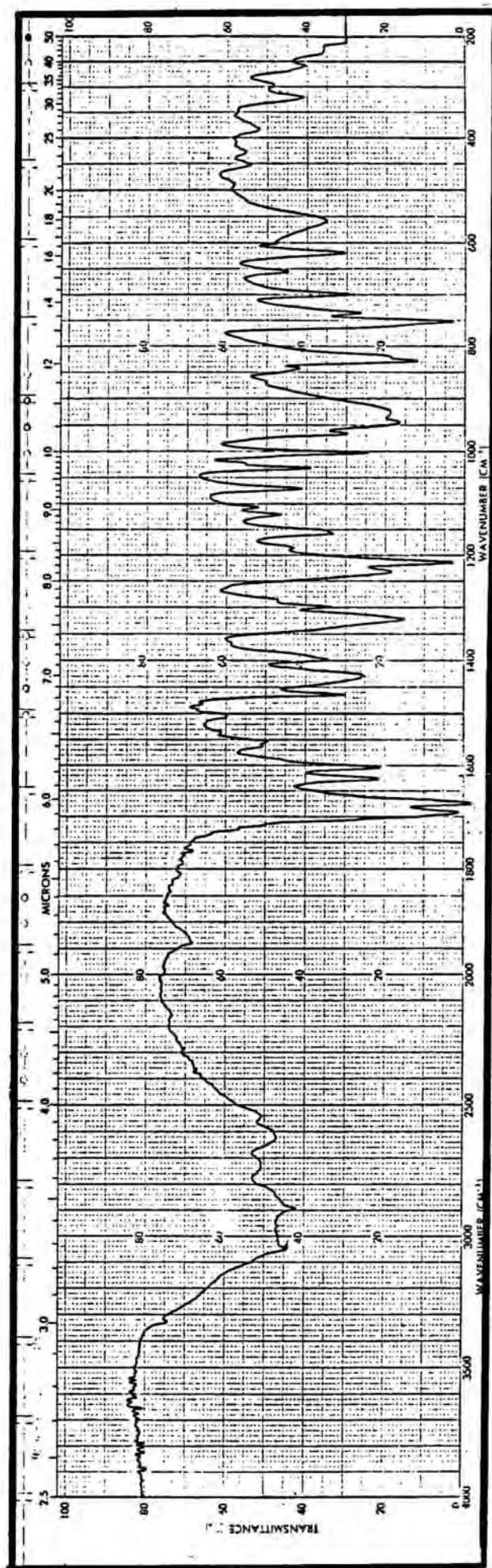


FIGURA 11: Espectro IR de la Itanoxona en KBr.

masa molecular de la Itanoxona, con los dos valores isotópicos del cloro (35-37), y que concuerda perfectamente con su fórmula.

2. Los valores m/e 215-217 se puede suponer que resultan de la fragmentación de la molécula de Itanoxona entre los carbonos C3 y C4.

3. El valor m/e 255 que resulta de la fragmentación entre los carbonos C1 y C2.

4. El m/e 152, que corresponde al ion bifenilo C_6H_5 . La formación de este ion se evidencia por la presencia de muchos de sus productos de su fragmentación relacionados en la bibliografía (13).

En la figura 12a se muestra el diagrama de porcentaje de fragmentos frente a m/l .

En la figura 12b se da un esquema del proceso de fragmentación descrito.

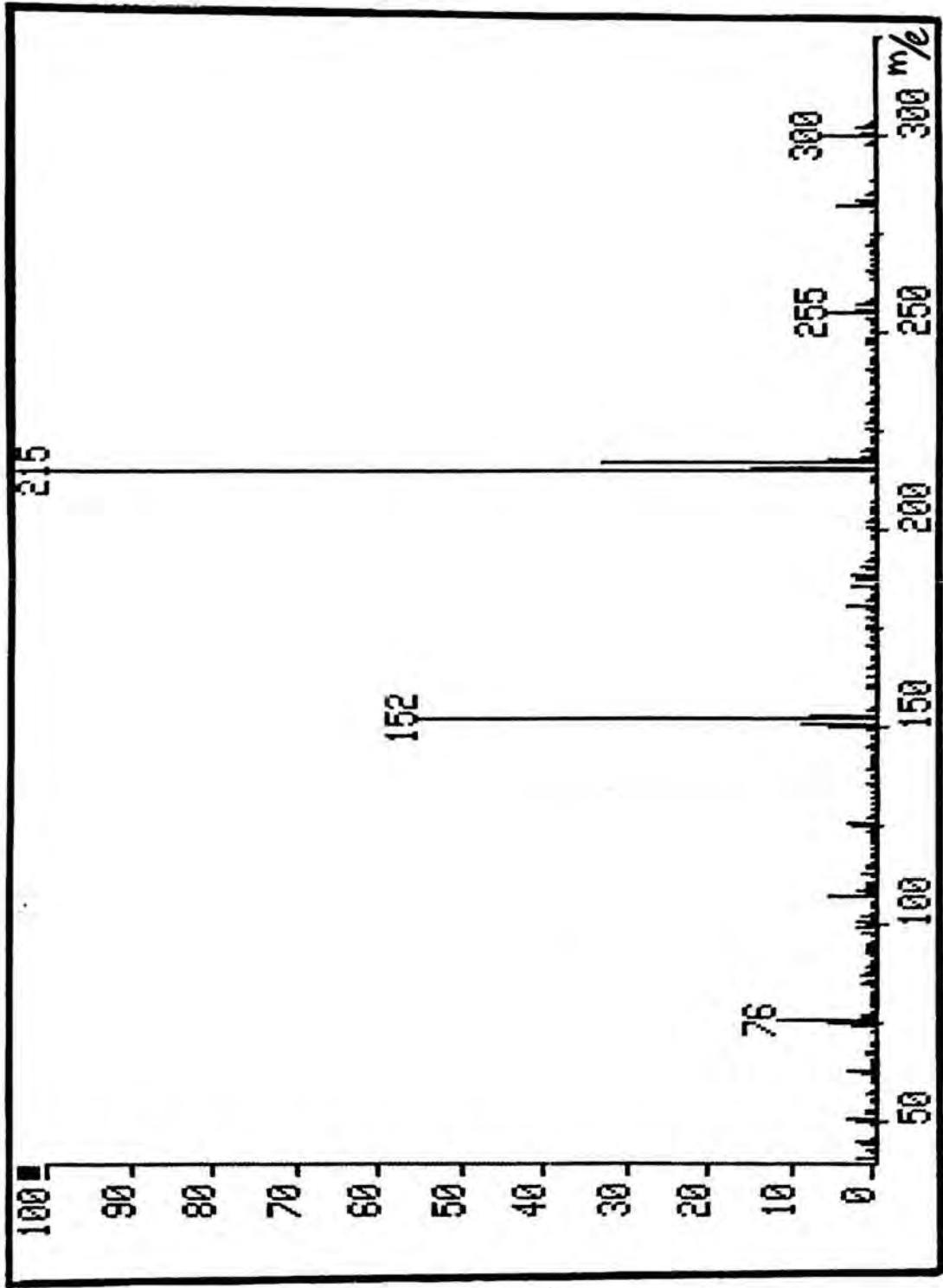


FIGURA 12a.

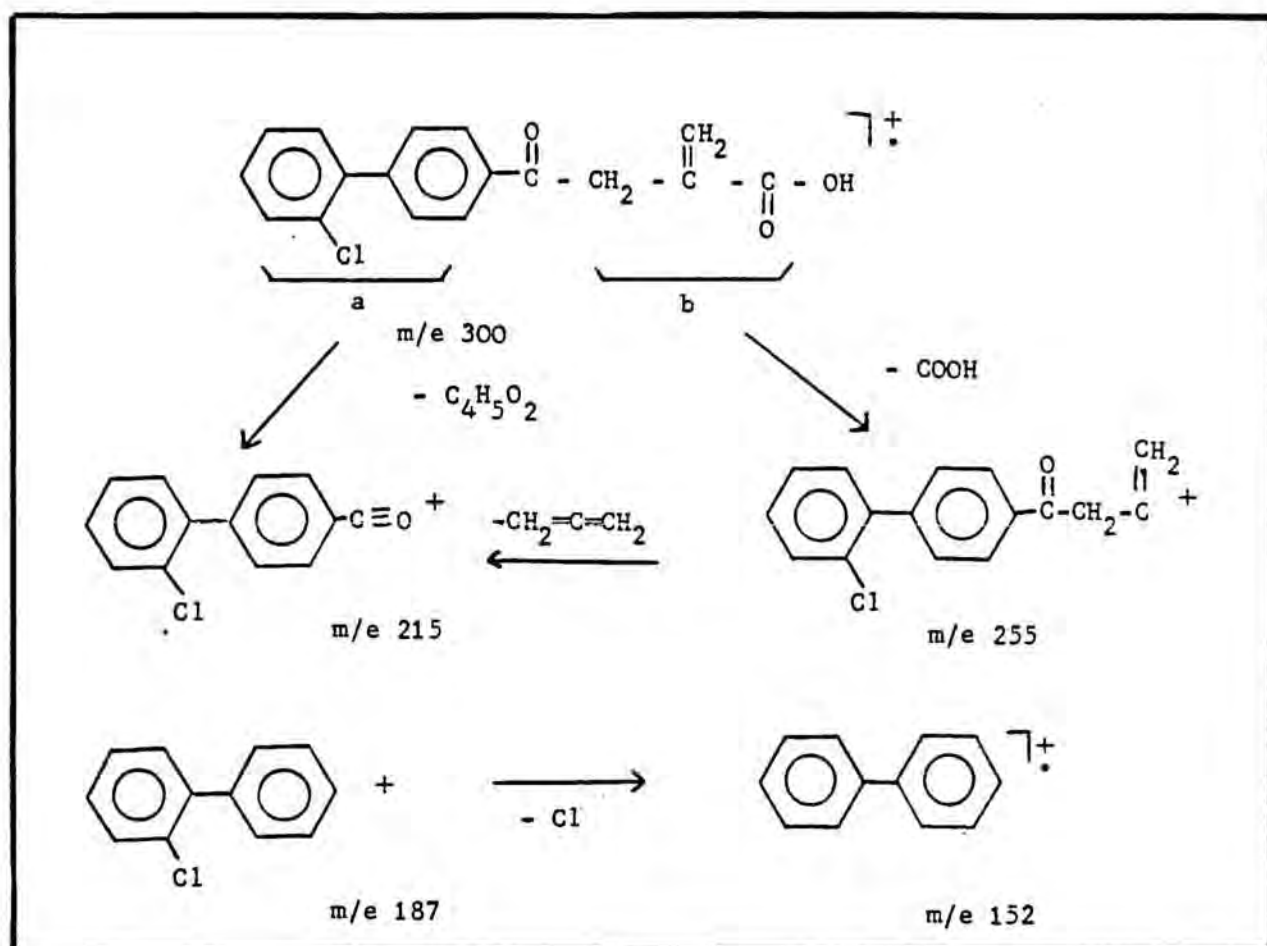


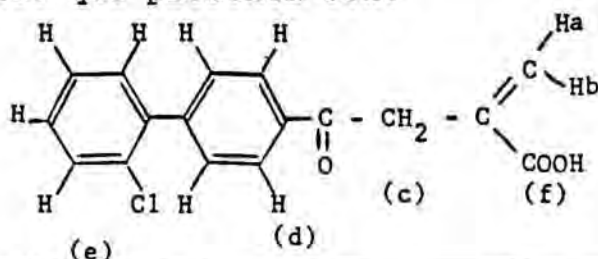
Figura 12b:

Esquema del proceso de fragmentación.

2.3.5. Espectro de resonancia magnética nuclear de protón.

Se ha obtenido el espectro de resonancia magnética nuclear de protón, de la Itanoxona (fig.13), que concuerda perfectamente con la estructura y con los datos bibliográficos (15).

El espectro se ha realizado utilizando como disolvente dimetilsulfóxido (DMSO) y las señales más importantes que presenta son:



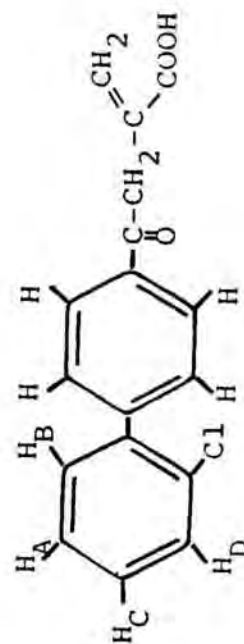
ppm	SEÑAL	NUMERO DE PROTONES QUE INTEGRAN	DISTRIBUCION DE LA SEÑAL
4,2	singulete	2	metilen(c)
5,85	doblete	1	1protón etilénico(a)
6,30	doblete	1	1protón etilénico (b)
7,3 a 7,8	multiplete	6	protones aromáticos(e)
8,1	doblete	2	2protones aromáticos contiguos al carbonilo(d)

2.3.6. Espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C .

Los espectros RMN del ^{13}C proporcionan la información del esqueleto carbonado de los compuestos orgánicos.

	Valores base	$\Delta\delta_{Cl}$			$\Delta\delta_{fenilo}$			δ teórico	δ experi- mental
		orto	meta	para	orto	meta	para		
H_D	7.26	0.03	-	-	-	0.20	-	7.49	7.55
H_C	7.26	-	-0.02	-	-	-	0.10	7.34	7.42
H_B	7.26	-	-	-0.09	-	0.20	-	7.37	7.43
H_A	7.26	-	-0.02	-	0.37	-	-	7.61	7.59

FIGURA 13a: Asignación de los protones aromáticos realizada en base a los efectos ejercidos por los grupos fenilo y cloruro. (16).



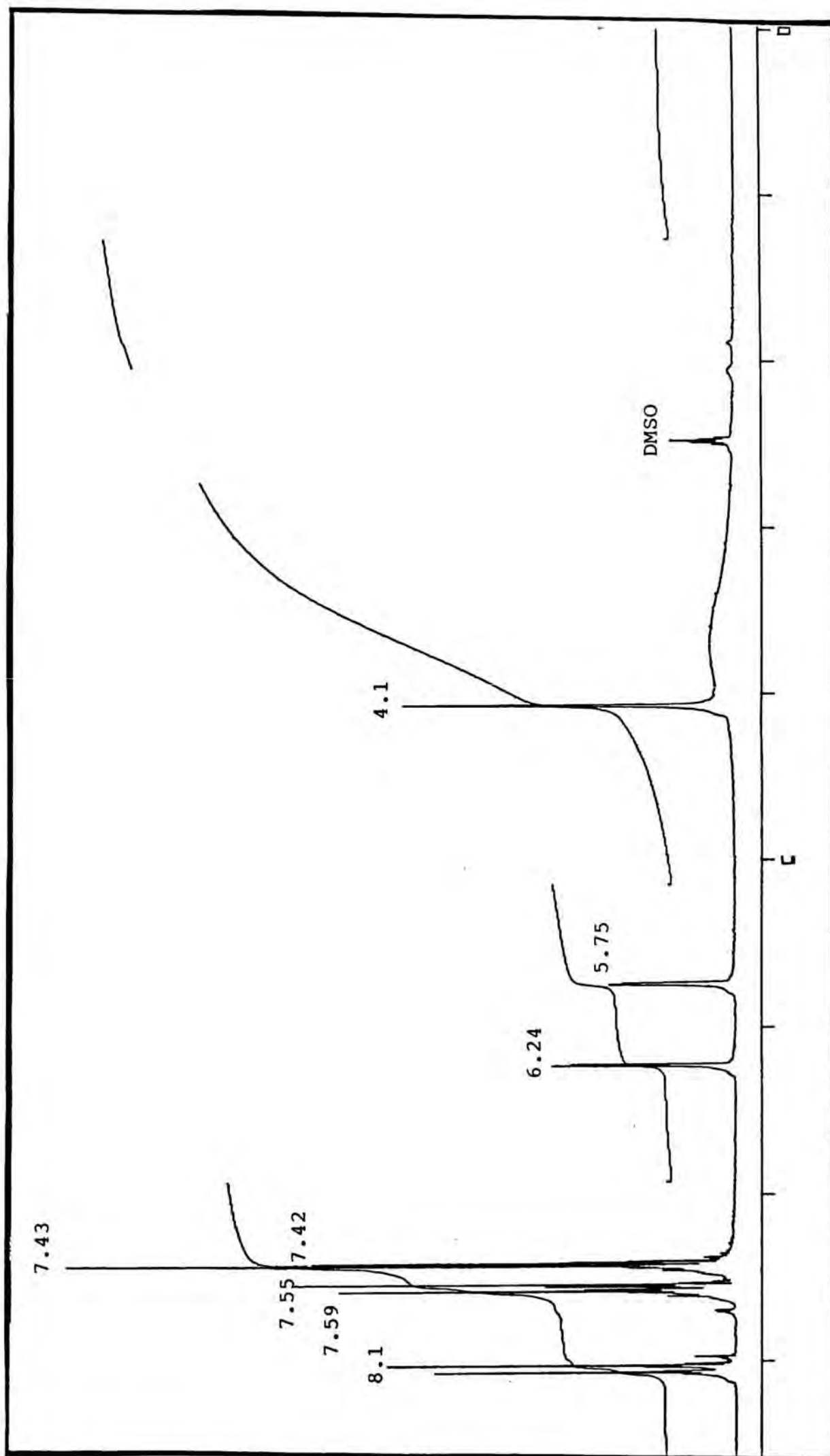
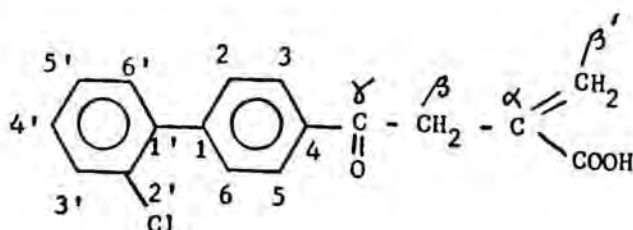


Figura 13b: Espectro de ^1H -RMN de la Itanoxona en DMSO.

El espectro de la Itanoxona se ha realizado en DMSO y se muestra en la figura 14. Las señales que presenta se pueden atribuir a los siguientes carbonos:



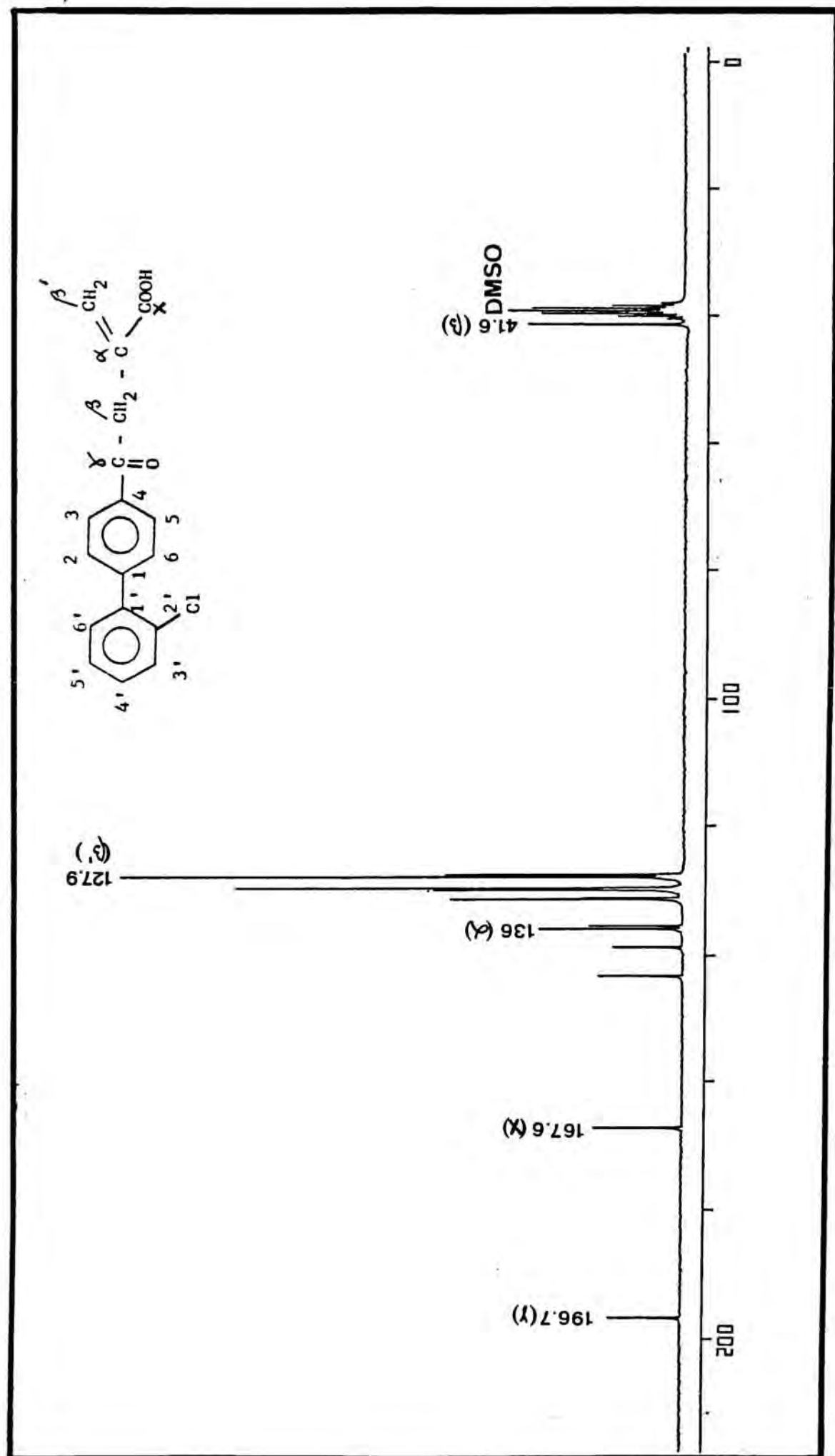
	ppm
<u>COOH</u>	167.6
-CH ₂ - (β)	41.6
C=O (γ)	196.7
C=CH ₂ (β')	127.9
<u>C</u> =CH ₂ (α)	136.0

2.3.7. Espectro de difracción de rayos X .

Los estudios de difracción de rayos X son de gran interés para la determinación de estructuras cristalinas y junto con los espectros RMN, IR... para elucidar la estructura de nuevos compuestos de síntesis.

Roques, Germen y cols. (17) realizaron un estudio cristalográfico de la Itanoxona en estado sólido a --

FIGURA 14: Espectro de ^{13}C -RMN de la Itanoxona en DMSO.



partir de muestras obtenidas por recristalización en etanol absoluto. Con ello obtuvieron los parámetros cristalográficos que les permitieron establecer distancias y ángulos interatómicos y la estructura espacial.

Las moléculas de Itanoxona presentan una disposición estereoquímica tal como se observa en la figura 15, en la que es particularmente importante la disposición espacial de los dos núcleos aromáticos que al no ser coplanares pierde su conjugación comportándose como dos grupos fenilo y no como un bifenilo. Este efecto se debe relacionar con la posición orto del cloro respecto del enlace entre los dos fenilos.

Las moléculas se agregan unas a otras por enlaces de hidrogeno intermoleculares de 2.64 Å .

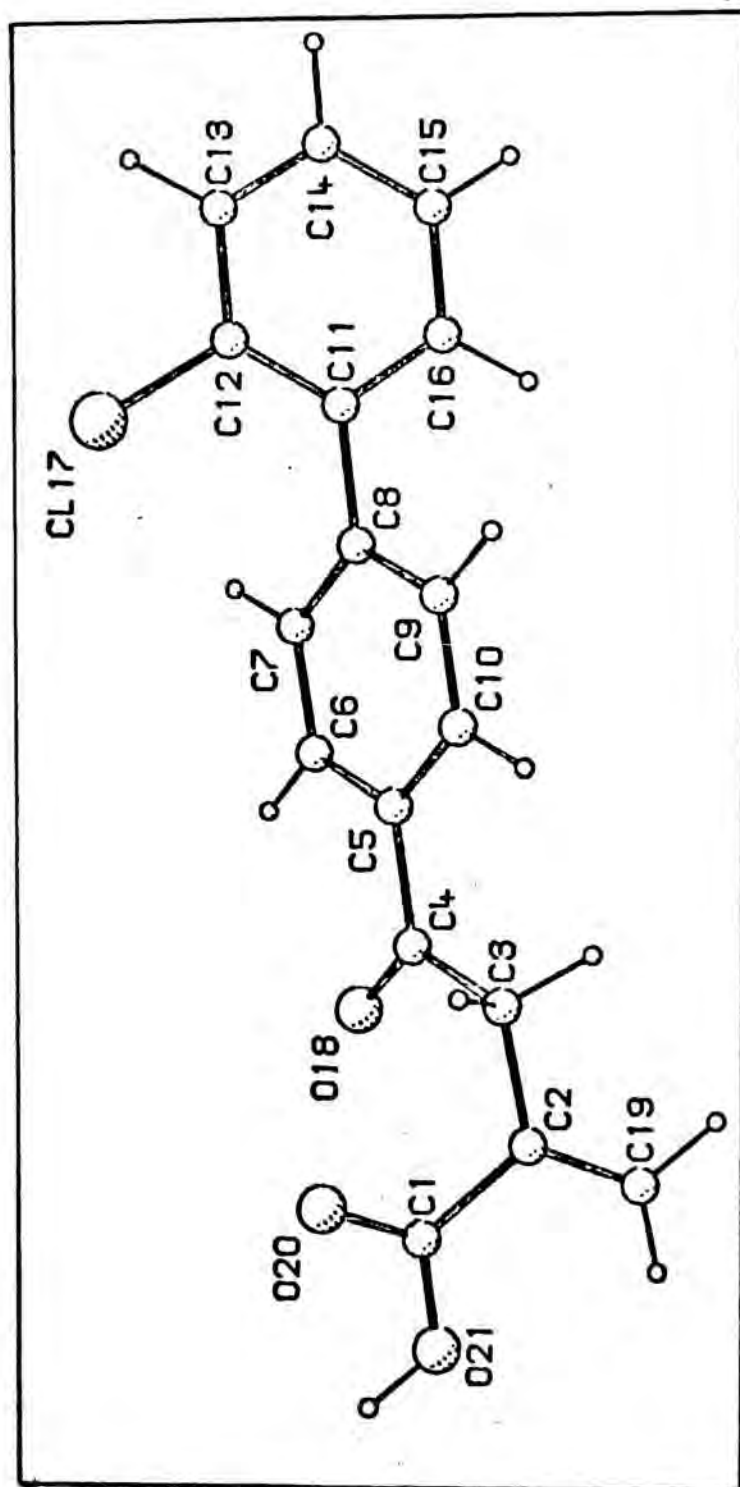


Figura 15: Disposición estereoquímica de la molécula de Itanoxona.

2.4. ESTUDIOS FARMACOCINETICOS.

Se han realizado estudios farmacocinéticos utilizando como animal de experimentación la rata (18) y posteriormente, en el instituto de Batelle de Suiza (19) se han realizado estudios equivalentes en el hombre.

En ambos casos se ha empleado Itanoxona marcada (^{14}C) y los productos extraídos del plasma se han separado por cromatografía en capa fina y por cromatografía en fase gaseosa, después de un tratamiento adecuado para disminuir su polaridad y hacerlos más volátiles (20).

La cromatografía en fase gaseosa se acopla adecuadamente a un espectrómetro de masas para el reconocimiento de los productos, por comparación con productos sintetizados que se emplean como patrón.

Una conclusión fundamental de estos estudios es la existencia de una gran analogía en las constantes farmacocinéticas y en las vías metabólicas seguidas por el fármaco en el hombre y en la rata.

Después de la administración de 500 mg de Itanoxona por vía oral, la concentración plasmática máxima, se obtiene paroximadamente a la 4 horas, y la concentración de producto inalterado alcanza el valor de 12.1 $\mu\text{g/ml}$. El tiempo de semivida en la fase de eliminación es de 13.5 horas. La cinética de eliminación urinaria y fecal de la Itanoxona da como resultado que a las 96 horas el 40% ha sido eliminado por vía urinaria y el 50% por vía fecal.

La administración por vía oral del compuesto en dosis repetidas de 250 mg/día durante 5 días no provoca ninguna acumulación del producto en la sangre.

En el caso de utilizar la rata como animal de experimentación, el nivel plasmático máximo, de 12.9 ug/ml, se alcanza a las dos horas de haber administrado, por vía oral, 50 mg de producto por Kg de animal.

Las vías metabólicas también son muy parecidas en el hombre y en la rata. Al introducir la molécula de Itanoxona en el organismo, tienen lugar tres rutas metabólicas principales de las que han sido detectados en los líquidos biológicos los compuestos que se destacan encuadrados en el esquema que se reproduce de M.C. Bret-Cape (8), figura 17.

En la primera vía el proceso (a) se inicia por una reducción del grupo carbonilo y da lugar, como producto final el ácido (2'-cloro-4'-hidroxi)-bifenilacético, metabolito de tiempo de semivida corto, que se elimina probablemente por vía urinaria, después de transformarse en un derivado hidroxilado.

La segunda vía se origina en el corrimiento del doble enlace y formación del isómero ácido 4-(2'-clorobifenil)-4-oxo-2-metil-2-butenóico, y da lugar, como producto final, al ácido 2'-clorobifenilcarboxílico, cuyo tiempo de vida media sería largo.

Una tercera vía se inicia con una hidroxilación en 4' del grupo bifenilo, y da lugar, como producto final al ácido (2'-cloro-4'-hidroxi)-bifenilacético.

Algunos productos minoritarios detectados ponen de manifiesto una cuarta vía que se inicia con un proceso de hidrogenación (d).

3.- APLICACION DE LA CINETICA
QUIMICA A LOS ESTUDIOS DE
ESTABILIDAD.

3. APLICACION DE LA CINETICA QUIMICA A LOS ESTUDIOS DE ESTABILIDAD .

La predicción de la estabilidad de los medicamentos - es de gran importancia para la industria farmacéutica. Hasta el año 1956 el método empleado consistía en la simple observación y control analítico, durante el periodo aproximado de unos cinco años, del medicamento mantenido en las mismas condiciones que sería almacenado.

A pesar de la seguridad que presenta este método, es un sistema sumamente costoso, ya que no permite sacar conclusiones hasta que haya transcurrido un periodo muy dilatado de tiempo.

Desde que Garrett y Carter (21) (22) aplicaron la cinética química al estudio de la estabilidad se recurre a lo que se denomina "Degradación acelerada" o "Envejecimiento acelerado" que permite predecir la estabilidad en un tiempo relativamente corto. Este método se aplica preferentemente a sistemas en disolución a los que son aplicables con precisión los conceptos cinéticos de concentración y de su variación temporal. El medicamento en disolución se somete a varias temperaturas, superiores a la ambiente, con lo que se aumenta la velocidad de reacción. Por extrapolación a temperatura ambiente se puede calcular el tiempo de validez, aplicando la ecuación de Arrhenius.

El cumplimiento de la ecuación de Arrhenius debe someterse a comprobación, ya que tratándose de reacciones complejas, su cumplimiento, aunque muy frecuente, no es totalmente necesario.

A parte de esta comprobación este método tiene la ventaja de que no precisa conocer el mecanismo de reacción, basta con conocer el orden aparente de

la misma y controlar la velocidad de desaparición del principio activo detectando la variación con el tiempo de una característica físico-química que dependa de su concentración.

La elección de las temperaturas depende de la naturaleza de la sustancia, que no debe fundir ni volatilizarse, y de la velocidad de la reacción.

Esta técnica no puede usarse cuando se trate de sustancias que, como las proteínas, se desnaturalizan por el calor.

En medio sólido también es aplicable el método de degradación acelerada cuando las reacciones son de primer orden, como ocurre en las isomerizaciones, pero en reacciones que dependen de un agente externo, como podría ser el oxígeno, soportes, etc., su aplicabilidad es muy discutible, ya que las condiciones en que se verifica la reacción no son homogéneas.

En muchos casos se ha demostrado experimentalmente, que la ecuación de Arrhenius es aplicable a reacciones que tienen lugar en medio heterogéneo, pero en estos casos el fundamento de dicha ecuación es más bien empírico.

Durante el almacenamiento de los medicamentos, la degradación de los principios activos puede ser el resultado de reacciones espontáneas, debido a los excipientes o con los agentes ambientales. La degradación del principio activo conlleva la pérdida de actividad del medicamento (23).

Citaremos las reacciones que producen dicha pérdida de actividad más frecuentemente:

- Hidrólisis:

Desde el punto de vista de la estabilidad de los

medicamentos, es una de las reacciones que reviste mayor importancia, ya que muchos principios activos contienen funciones orgánicas fácilmente hidrolizables (ésteres, amidas, lactamas, etc.).

Dado que en la reacción interviene el agua, puede actuar la humedad atmosférica, la de los excipientes o la del propio principio activo, cuando se trata de formas sólidas, o del propio medio, cuando se trata de disoluciones acuosas.

La hidrólisis es catalizada por los iones del agua, constituyendo la llamada catálisis ácido-base, que se denomina específica cuando solo intervienen los iones H^+ y OH^- del agua, o general, cuando intervienen otros iones presentes en el medio (24,25)

En todos los casos la reacción de hidrólisis transcurre mediante un mecanismo de sustitución nucleófila, siendo del tipo S_N1 en medio ácido y S_N2 en medio básico.

Tomando como ejemplo la hidrólisis de ésteres carboxílicos, tanto en el caso de una catálisis ácida como alcalina, la sustitución nucleófila transcurre mediante un mecanismo de adición-eliminación, con ataque nucleófilo sobre el grupo carbonilo, salvo en aquellas moléculas en las que exista un impedimento estérico, en los que el ataque se realiza sobre el carbono del grupo alcóxido (24).

- Oxidación:

Puede presentarse tanto en soluciones acuosas como oleosas, o en estado sólido.

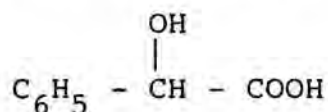
Una sustancia se oxida cuando pierde electrones. La reducción es el caso contrario, es decir, cuando gana electrones. No obstante existe una oxidación que tiene carácter irreversible denominada "autooxi-

dación" y otro tipo que por el contrario es reversible. La mayor parte de las reacciones de oxidación que se presentan en los preparados farmacéuticos son las de autooxidación. En ellas intervienen radicales libres como productos intermedios y se sigue un mecanismo de reacción en cadena con sus fases características de iniciación, propagación, polimerización e interrupción. El punto de ataque lo constituyen los átomos de hidrógeno próximos al átomo o a los grupos electronegativos tales como el grupo carbonilo

La luz así como la temperatura pueden actuar sobre la reacción. En estos casos es difícil controlar el proceso cinético ya que la velocidad de reacción depende del número de radicales libres que forman la cadena y que pueden modificarse por agentes externos de difícil control.

-Isomerización:

Son procesos que tienen lugar, generalmente, siguiendo una cinética de primer orden y que pueden presentarse tanto en disolución como en soportes sólidos. Consisten en una restructuración de los enlaces que constituyen la molécula con desplazamiento de alguno de sus átomos y corrimiento de los electrones enlazantes. Un buen ejemplo de isomerización lo constituye la racemización de los productos ópticamente activos tales como el ácido mandélico



que contienen el grupo $-\text{CH}-\text{CO}-$ y que se transforma en una estructura de enol $-\text{C}=\text{CH}$ con la que se mantiene en equilibrio. Aunque la proporción de enol sea pequeña la existencia del equilibrio facilita la recomposición de la molécula de ácido mandélico en una proporción igualada de sus dos formas ópticamente activas.

Si bien en los procesos de isomerización no interviene como reactivo más que una molécula y no se requiere el concurso de otra sustancia que intervenga estequiométricamente en la reacción, es evidente el concurso del medio en que dicha molécula se encuentra, en la génesis de los procesos de activación molecular a través de los cuales se realizan estas reacciones de isomerización. Por esto no es posible en principio presumir la velocidad del proceso en un disolvente a partir de la velocidad con que se realiza en otro disolvente distinto.

-Descarboxilación:

La descarboxilación consiste en la liberación de anhídrido carbónico de una molécula con grupo carboxílico.

Aunque los ácidos carboxílicos son estables por encima de 200°C, la estabilidad disminuye en los que poseen un enlace múltiple en posición β y γ , pues pierden CO_2 entre 100 y 200°C. (24)

Los grupos atrayentes de electrones como: cloro, fenilo, vinilo..., también facilitan la descarboxilación del ácido correspondiente.

-Polimerización:

Consiste en la unión de dos o más moléculas para formar un polímero. Este fenómeno normalmente no aparece como causa inicial de la alteración del medicamento, pero en algunos casos puede intervenir en los procesos de degradación.

Un ejemplo de polimerización que tiene cierta importancia afecta a las disoluciones de antibióticos β -lactámicos, con un grupo amina en su cadena lateral como la ampicilina. Este antibiótico forma uniones amídicas en las que interviene el grupo amina de la cadena lateral y el grupo carbonilo del anillo β -lactámico, generándose distintos ordenes de polime-

rización.

-Fotolisis:

La luz puede actuar de agente desencadenante de reacciones de descomposición, denominadas de fotolisis. Estas reacciones de tipo fotoquímico están condicionadas por la energía transportada por el cuanto de luz que depende de la frecuencia o longitud de onda de la radiación actuante $E = h\nu$

En las reacciones fotoquímicas cabe distinguir entre los procesos primarios y secundarios. En los primarios los fotones actúan como reactivo pudiéndose establecer el concepto de rendimiento cuántico, por el cociente entre el número de moléculas descompuestas y el número de fotones absorbidos

$$R = \frac{\text{nº moléculas descompuestas}}{\text{nº fotones absorbidos}}$$

El valor máximo del rendimiento cuántico es la unidad y representa el caso en que cada uno de los fotones absorbidos se corresponde con una molécula descompuesta. Evidentemente una mayor intensidad de radiación redundará en una mayor velocidad con total independencia de la temperatura ambiente.

Los productos resultantes de este proceso primario pueden ser inestables en el medio en que se encuentran y desencadenar una serie de reacciones térmicas, que se conocen como procesos fotoquímicos secundarios, ya que sin ser verdaderos procesos fotoquímicos tienen lugar totalmente condicionados por los procesos primarios que son los que han generado las moléculas, radicales o iones, que determinan estas reacciones.

-Catálisis:

Los catalizadores tienen una gran influencia en la estabilidad de los medicamentos, ya que su presencia a veces exigua en cantidad, es suficiente para disminuir la energía de activación y por tanto aumentar la velocidad de reacción.

Las principales propiedades de los catalizadores son:

- No afectan a la posición del equilibrio en una reacción reversible.

- Toman parte en la formación del complejo activado, aunque aparecen químicamente inalterados al final de la reacción, por ello no se consume a lo largo del proceso.

- Pequeñas cantidades son suficientes para producir efecto.

Cabe resaltar entre los catalizadores que contribuyen con más frecuencia a la degradación:

- Los iones metálicos que en muchos casos se halla como impurezas.

- y sobre todo los iones H^+ y OH^- que activan las reacciones de hidrólisis, así como ciertos aniones que a veces están presentes para la regulación del pH.

-Influencia del disolvente:

El disolvente en muchos casos no es puramente un medio inerte donde tiene lugar la reacción, sino que actúa directamente en la misma, sea como reactivo o como catalizador. Por esta razón no se puede extrapolar los resultados de una cinética realizada en un disolvente determinado a otro disolvente.

3.1. DEGRADACION EN DISOLUCION.

- Métodos isotérmicos.

En los estudios de estabilidad basados en la aplicación de la cinética química a sustancias en disolución, los datos experimentales que normalmente se manejan son las concentraciones de sustancia inalterada en función del tiempo y de la temperatura, para diversos procesos de degradación isotérmica.

La disminución de concentración que experimenta la sustancia en estudio, en la unidad de tiempo, expresada por la derivada:

$$V = - dC/dt$$

corresponde a la definición de velocidad de reacción y su dependencia a temperatura constante respecto a la concentración de sustancia presente, permite definir el orden de reacción como el exponente del factor concentración en la expresión de dicha velocidad

$$- dC/dt = K \cdot C^n$$

donde K es una constante de gran importancia en los estudios de cinética formal, que se conoce con el nombre de "velocidad específica de reacción".

Si se sabe de antemano el orden aparente del proceso de degradación, se puede formular una correlación de tipo lineal entre una adecuada función de la concentración y los tiempos, cuya pendiente es función de la temperatura. En la mayor parte de los casos los datos se ajustan bien a la ecuación:

$$\ln C = \ln C_0 - kt$$

En los casos en que dicha correlación no se cumple, se pueden ensayar las ecuaciones propias de otros

órdenes, obtenidos por integración de las respectivas ecuaciones diferenciales.

n	$\frac{1}{(n-1)C_t^{n-1}} = \frac{1}{(n-1)C_0^{n-1}} + kt$	$t_{50} = \frac{1}{k} \cdot \frac{1-0,5^{n-1}}{(n-1)0,5^{n-1}C_0^{n-1}}$	$t_{90} = \frac{1}{k} \cdot \frac{1-0,9^{n-1}}{(n-1)0,9^{n-1}C_0^{n-1}}$
0	$C_t = C_0 - kt$	$t_{50} = \frac{0,5 C_0}{k}$	$t_{90} = \frac{0,1 C_0}{k}$
0,5	$2\sqrt{C_t} = 2\sqrt{C_0} - kt$	$t_{50} = \frac{0,58579\sqrt{C_0}}{k}$	$t_{90} = \frac{0,10263\sqrt{C_0}}{k}$
1	$\ln C_t = \ln C_0 - kt$	$t_{50} = \frac{0,69315}{k}$	$t_{90} = \frac{0,10536}{k}$
1,5	$\frac{2}{\sqrt{C_t}} = \frac{2}{\sqrt{C_0}} + kt$	$t_{50} = \frac{0,82843}{k\sqrt{C_0}}$	$t_{90} = \frac{0,10819}{k\sqrt{C_0}}$
2	$\frac{1}{C_t} = \frac{1}{C_0} + kt$	$t_{50} = \frac{1}{kC_0}$	$t_{90} = \frac{0,11111}{kC_0}$

Ecuaciones cinéticas generales y correspondientes a diversos órdenes de reacción, referidas al principio activo (C) (23).

Si solo se disponen de los datos que afectan a la primera parte de la descomposición, resulta muchas veces difícil discernir entre los diversos órdenes de reacción. Para poderlo hacer con seguridad es recomendable sobrepasar el 60% de alteración.

El aspecto de mayor trascendencia que se relaciona con el orden de reacción es la dependencia de la velocidad específica con la concentración inicial. Solo en las reacciones de primer orden las constantes de velocidad son independientes de dicha concentración.

Las ecuaciones integradas del cuadro anterior permiten definir unos parámetros característicos del proceso cinético, tales como los tiempos de vida media, que corresponden a la alteración del 50% de la cantidad inicial presente, y los valores t_{90} , que se refieren a la descomposición del 10% de dicha

cantidad.

En el cuadro de la página anterior se dan las fórmulas que permiten calcular dichos intervalos de tiempo en los que se pone de manifiesto que tan solo las degradaciones de primer orden son independientes de la concentración inicial.

En tecnología farmacéutica se conoce con el nombre de tiempo de validez de un medicamento el valor de t_{90} , referido a la temperatura de 25°C.

Al margen de la significación legal que dicho índice puede tener, sirve como punto de comparación para valorar la estabilidad en los distintos medios en los que la sustancia puede conservarse.

El método de degradación acelerada propuesto por Garret (26), se basa en la ecuación de Arrhenius, que en la forma logarítmica se expresa en la forma:

$$\ln K = \ln A - (E_a/Rt)$$

Dicha ecuación permite deducir de los valores obtenidos para la constante de velocidad a distintas temperaturas, por un método de regresión lineal, el valor de la pendiente " $-E_a/R$ " y la constante de velocidad a 25°C. Conocido el valor de K_{25} se calcula el tiempo de validez por la fórmula:

$$\text{tiempo de validez} = \frac{1}{K_{25}} \ln(100/90)$$

Al realizar el anterior estudio es conveniente efectuar simultáneamente una comprobación del cumplimiento de la ecuación de Arrhenius, ya que si bien para una reacción cinéticamente simple es muy probable que la ecuación de Arrhenius se cumpla, si la cinética global se debe a un conjunto de reacciones simultáneas competitivas que cumplen separadamente la ley

de Arrhenius, la cinética aparente del conjunto puede no cumplir la relación, a no ser que una de las reacciones predomine sobre las demás o que todas tengan energías de activación del mismo orden. (27)

Por ello recomendamos evitar, por lo menos cuando el cumplimiento de la ecuación de Arrhenius no es conocida de antemano, el manejar solo tres temperaturas.

Tanto en el cálculo de las constantes de velocidad específica, como en el de la energía de activación, se deben utilizar los métodos estadísticos de optimización de resultados para extraer toda la información posible de los datos experimentales.

Cabe resaltar dos puntos referidos a este tipo de cálculos:

- Las constantes de velocidad específica son magnitudes estadísticas obtenidas por optimización que llevan implícitos $n-2$ grados de libertad estadística, siendo n el número de determinaciones efectuadas en cada cinética.
- En el proceso de regresión lineal se deben introducir coeficientes de ponderación inversamente proporcionales a la varianza con que se conocen los datos experimentales manejados.

Estas ideas generales son aplicables también al tratamiento estadístico de los datos en procesos de regresión no lineal.

- Métodos no isotérmicos.

Los métodos no isotérmicos consisten fundamentalmente en someter una muestra del producto problema a un programa de temperaturas, previamente determinado, de modo que esta aumenta de forma continua desde la temperatura ambiente hasta una temperatura relativamente elevada.

Con estos métodos puede predecirse la estabilidad en tiempo muy breve y con relativamente poco trabajo experimental.

El fundamento teórico es el siguiente:

Ya hemos visto que en el método clásico o isotérmico, para hallar el tiempo de validez se utiliza la ecuación de Arrhenius. Si en lugar de operar a temperatura constante, se opera de modo que T vaya variando de valores con el tiempo según un programa predeterminado, podremos escribir la ecuación de Arrhenius de la forma siguiente:

$$K = A e^{-Ea/Rf(t)}$$

donde $f(t)$ es una función del tiempo.

Esta función es distinta según el método elegido, así por ejemplo Rogers (28) emplea la ecuación:

$$1/T_t = 1/T_o - a \ln(1+t)$$

Eriksen y Stelmach (29):

$$1/T_t = 1/T_o - at$$

y Zoglio (30):

$$T_t = T_o + at$$

En todas estas ecuaciones T_0 representa la temperatura inicial, T la temperatura en el tiempo t , a es una constante que se elige arbitrariamente en cada proceso.

Una vez elegido el método que más nos interesa, y sabiendo el orden de la reacción que tiene lugar, no hay más que substituir, en la ecuación propia del orden de reacción, el valor de K por el obtenido a partir de la ecuación de Arrhenius puesta en función del tiempo. Integrando la ecuación obtenida se llega a una fórmula que permite relacionar linealmente expresiones que son función de los datos experimentales de concentración y temperatura. A partir de la regresión lineal efectuada es posible calcular la energía de activación y el valor de K_0 a la temperatura ambiente con lo que se puede conocer el tiempo de validez.

Este método no isotérmico no da buenos resultados cuando la velocidad de alteración tiene valores extremos y en general tiene la ventaja de la rapidez y el inconveniente de presentar menor exactitud.

3.2. REACCIONES EN FASE HETEROGENEA.

Las reacciones en fase heterogénea son las que tienen lugar entre cuerpos de diferente estado físico y fundamentalmente en las superficies de contacto. En estabilidad de medicamentos, sin embargo, se incluyen en este grupo todas aquellas reacciones que tienen lugar en formas farmacéuticas que no son solución, independientemente de si el proceso degradativo tiene lugar solamente en la superficie de contacto o tiene lugar en el seno de una de las fases merced a la difusión o disolución de otra en ella.

De las diferentes variedades posibles se han descrito en medicamentos:

- Reacciones líquido-líquido: como en emulsiones.
- Reacciones líquido-sólido: por ejemplo en suspensiones y formas farmacéuticas sólidas en las que la fase líquida es el agua de humedad.
- Reacciones gas-sólido: en formas en las que el aire es la fase gaseosa.
- Reacciones sólido-sólido: cuando una sustancia sólida se deposita sobre un soporte también sólido, (excipientes en granulados y comprimidos).

La alteración de la sustancia depositada sobre una placa de silicagel es un caso notable de este tipo de alteración en fase heterogénea.

Los estudios teóricos sobre los mecanismos a través de los que las sustancias en estado sólido sufren procesos de degradación, llenan una importante parcela de la moderna bibliografía sobre cinética química (31, 32, 33, 34, 35)

Evidentemente no es posible llegar en este tipo de estudios a la simplicidad y precisión de conceptos que se alcanzan cuando se describen los procesos

que tienen lugar en medios homogéneos líquidos o gaseosos.

Los conceptos básicos utilizados en cinética química, tales como velocidad de reacción, constante de velocidad específica, orden de reacción, energía de activación, etc., se emplean solamente con carácter analógico, ya que no es posible definir de forma correcta el concepto de concentración, al que están matemáticamente vinculados todos estos datos cinéticos.

Todo ello limita la posible generalización de estos estudios, de manera que más que un planteamiento unificado de este tipo de reacciones, es más útil abordar una serie de casos concretos, muchos de los cuales son susceptibles de ser aplicados a toda una serie de casos análogos, y con ello llegar a cierto nivel de generalización.

Los sólidos cristalizados presentan una gran resistencia al ataque químico, por esto las imperfecciones en la red cristalina juegan un importante papel en los procesos de degradación en estado sólido.

Muchas veces la difusión de un reactivo en el interior del cristal es el factor que controla la velocidad, y dicha difusión solo es posible a través de los defectos de estructura y grietas que la propia degradación genera en el cristal.

Un cristal presenta en su superficie y también en cierta medida, aunque con mucha menor frecuencia, en su interior, moléculas, que por su especial situación en la red, presentan mayor reactividad o inestabilidad. Dicho de otro modo son moléculas que precisan una energía de activación mucho más pequeña que el conjunto de las demás moléculas, y por ello su eventual transformación está favorecida. Evidente-

mente la especial situación de estas moléculas se relaciona con la existencia de efectos de diversa índole en la red cristalina.

El comienzo de las reacciones en el estado sólido se inicia en estos puntos, pero cuando alguna de estas moléculas se transforma, se produce un debilitamiento de las moléculas vecinas, propagándose según direcciones determinadas por la estructura del cristal, la situación de inestabilidad.

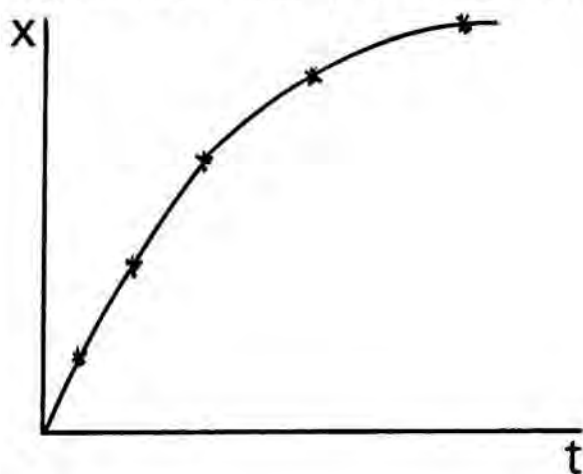
Las reacciones más importantes que tienen lugar en medio sólido son:

- Reacciones fotoquímicas: en las que interviene la energía radiante, por lo menos en su iniciación.
- Reacciones sólido-gas: entre las que son particularmente importantes las que se originan por el oxígeno del aire o por el vapor de agua atmosférico.
- Reacciones de isomerización o descomposición: se dan sin concurso de reactivos o agentes externos, pero se originan también en los centros activos que facilitan el proceso de activación molecular. Estas reacciones podrían también considerarse en medio homogéneo si se partiese de cristales puros, pero cuando se inicia la alteración se pierde la homogeneidad automáticamente.

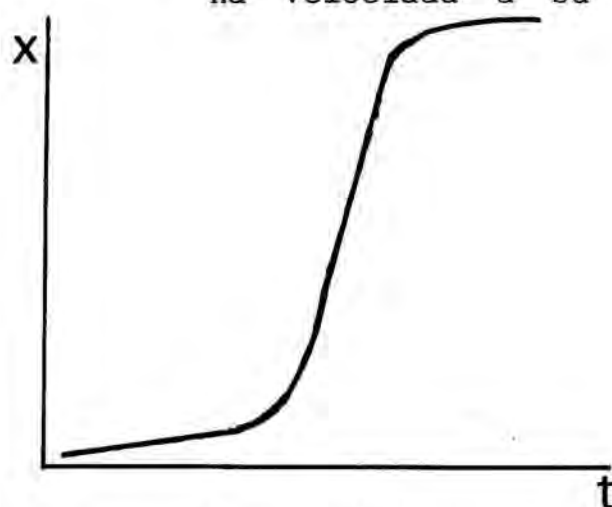
Cuando un sólido disuelto en un disolvente volátil se deposita sobre un soporte sólido, se puede suponer que las moléculas de la sustancia depositada quedan formando microcristales o moléculas activas, en contacto con los cristales del sólido que hace de soporte. En estas condiciones, la sustancia depositada, se encuentra muy propensa a sufrir los principales procesos degradativos, con intervención de agentes externos, tales como oxígeno, luz, humedad, etc., o sin dicho concurso, cuando las reacciones a que da lugar son de simple isomerización o descomposición.

La inestabilidad de las moléculas depositadas sobre soportes sólidos dependen, no tan solo de su propia naturaleza y de los agentes externos que actúan sobre ellas, sino también de la naturaleza del soporte, ya que en la mayor parte de los casos su papel no es meramente pasivo, sino que por su estructura presenta también zonas activas que de forma catalítica inducen las reacciones de la sustancia que sustentan.

Las curvas que representan la progresión de la reacción a lo largo del tiempo, en medios sólidos, pueden tipificarse por uno de los dos esquemas siguientes:



1.- Se inician a una gran velocidad y luego se aproximan asintóticamente a pequeña velocidad a su realización completa.



2.- Se inician muy lentamente, definiendo un periodo de aceleración bastante rápido y acaban en un periodo de decaimiento. Presentan una forma sigmoidea característica.

Las curvas del primer tipo responden a procesos condicionados por los centros activos, que progresivamente se van agotando. Las del segundo tipo, menos frecuentes, se relacionan con mecanismos de propagación en cadena y que requieren un periodo de inducción. Las reacciones inducidas fotoquímicamente suelen dar curvas de esta naturaleza.

Sobre soportes sólidos se ha visto experimentalmente que, en muchos casos, la descomposición se ajusta a varias cinéticas de primer orden superpuestas (36).

4.- METODO ANALITICO.

4. METODO ANALITICO.

El objetivo fue hallar un método analítico adecuado para la valoración de la Itanoxona pura y en presencia de productos de degradación, que se pudiera llevar a cabo en el laboratorio y que fuera suficientemente preciso y exacto.

El método que reunía dichas características se basaba en una determinación espectrofotométrica de la Itanoxona, previamente separada de sus productos de degradación por cromatografía en capa fina (C.C.F.).

4.1. ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA.

Antes de iniciar el estudio analítico cuantitativo de la Itanoxona, basado principalmente en la absorción de la luz UV a 266 nm, se ha realizado una comprobación previa de la Ley de Lambert Beer, para dicha sustancia.

Como es sabido, la Ley de Lambert Beer relaciona la absorbancia (A) con la concentración (c) de sustancia absorbente y el espesor de absorción (l), mediante la relación:

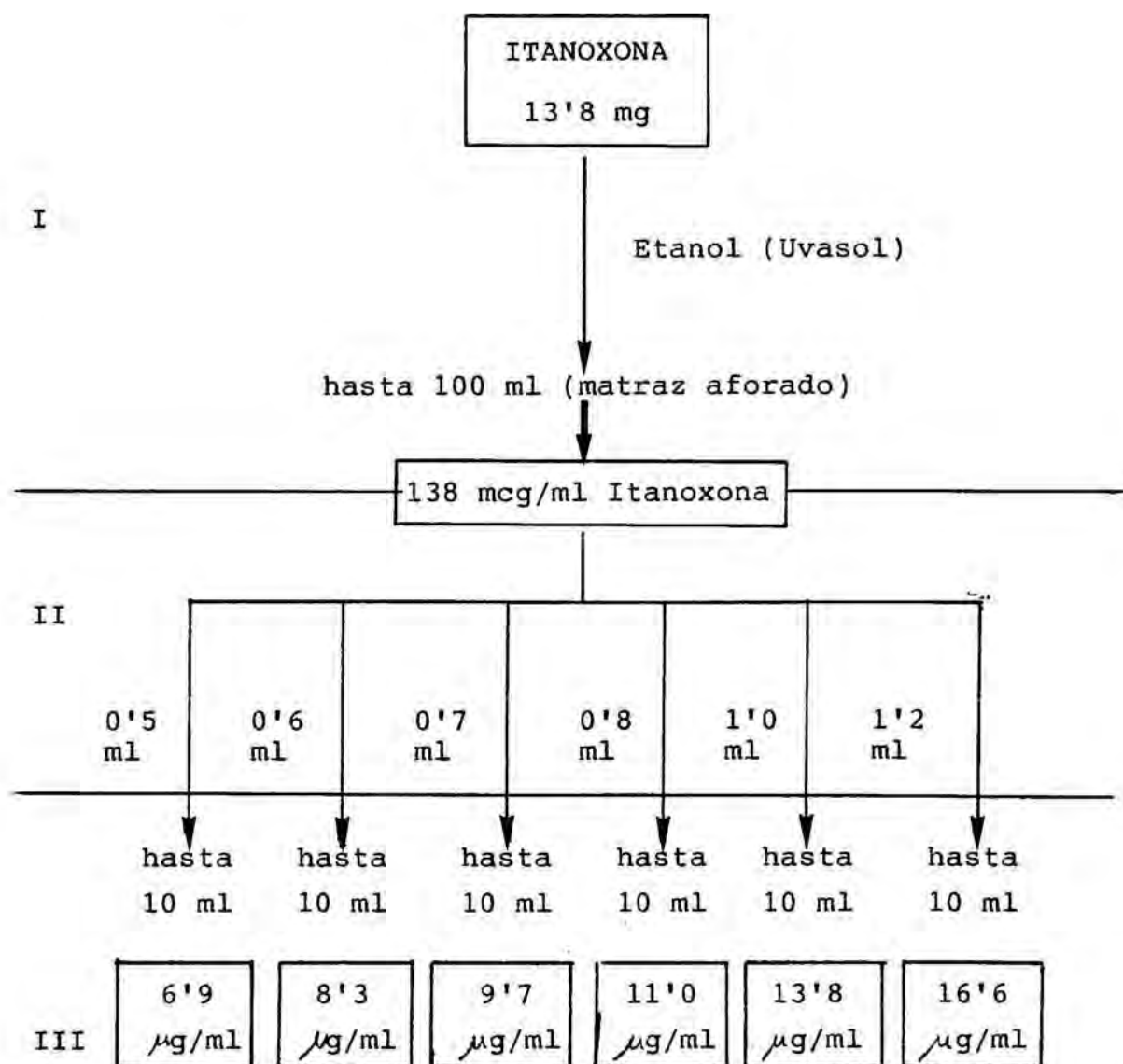
$$A = \epsilon . c . l$$

siendo ϵ la absorbilidad molar que se expresa en $\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. ϵ es pues una característica cuantitativa de la sustancia y es función de la frecuencia.

Para una misma sustancia y para una misma longitud de onda se puede expresar la igualdad anterior, por:

$$A = m . c$$

siendo m una constante, ya que l y ϵ serán constan-



II: Pipeta graduada de 2 ml (Tolerancia $\pm 0'01$).

III: Matraz aforado de 10 ml (Tolerancia $\pm 0'025$).

Figura 18:

Esquema representativo del procedimiento seguido, así como del material volumétrico empleado, en la preparación de diferentes diluciones de Itanoxona.

tes para una misma frecuencia.

La constancia de m , o sea A/c , es por consiguiente una exigencia de la Ley de Lambert Beer y las variaciones experimentales que observamos en este cociente solo pueden ser admitidas como compatibles con la misma, en el caso de que sus oscilaciones alrededor del valor estimado estadísticamente por la pendiente de la recta de regresión, estén comprendidas dentro del campo del error experimental con que se han obtenido los datos de absorbancia y de concentración.

Parte experimental:

Se preparan dos series de disoluciones etanólicas de 6'9, 8'3, 9'7, 11'0, 13'8 y 16'6 $\mu\text{g/ml}$ de concentración, partiendo de una misma solución. Las medidas de absorbancia se realizan en la región UV (266 nm) de un espectrofotómetro de doble haz (Perkin Elmer modelo 356).

El método utilizado para obtener las correspondientes diluciones se esquematiza en la figura 18.

El material volumétrico utilizado es de la clase internacional A (Clasificación Internacional de vidrio de laboratorio) y las tolerancias indicadas han sido dadas por la casa constructora.

Las distintas diluciones se llevan al espectrofotómetro donde se valoran a 266 nm.

Los resultados se dan en la tabla 19, y a partir de ellos se han construido las rectas de regresión (Figs. 20 y 21) y determinando la estimación de las pendientes, los coeficientes de correlación y las desviaciones estándar respectivas.

CONCENTRACIONES(c)	ABSORBANCIAS(A)	
mcg/ml	Serie 1	Serie 2
6'9	0'427	0'432
8'3	0'510	0'512
9'7	0'590	0'599
11'0	0'680	0'688
13'8	0'845	0'840
16'6	1'010	1'013
COEFICIENTES DE LA RECTA DE REGRESION		
SIGMA =	0'0042	0'0081
r =	0'9958	0'9923
P =	0'06120	0'06141

Tabla 19:

Valores de absorbancia (A) a diferentes concentraciones (c), y coeficientes de la recta de regresión que pasa por el origen de coordenadas.

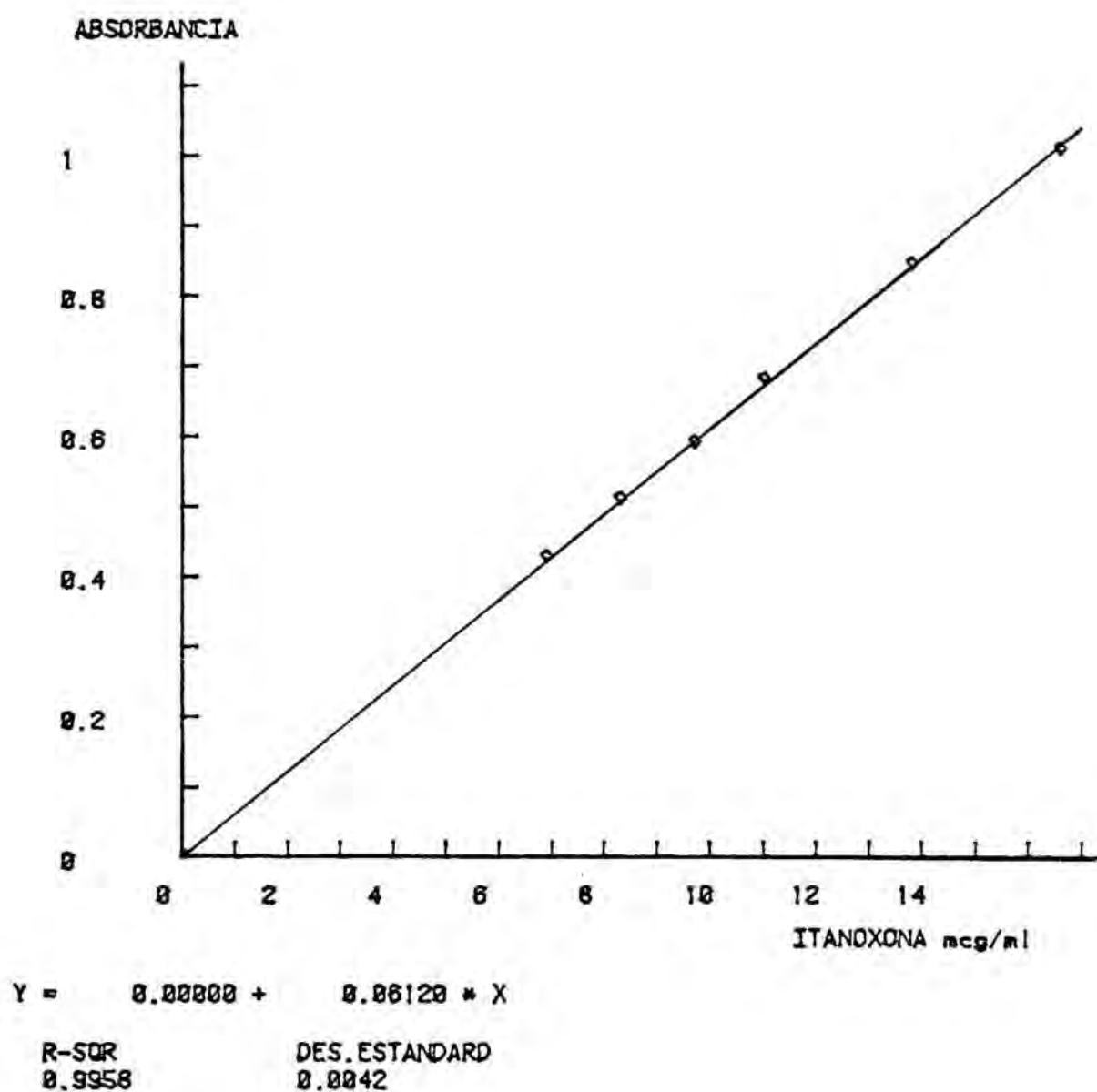
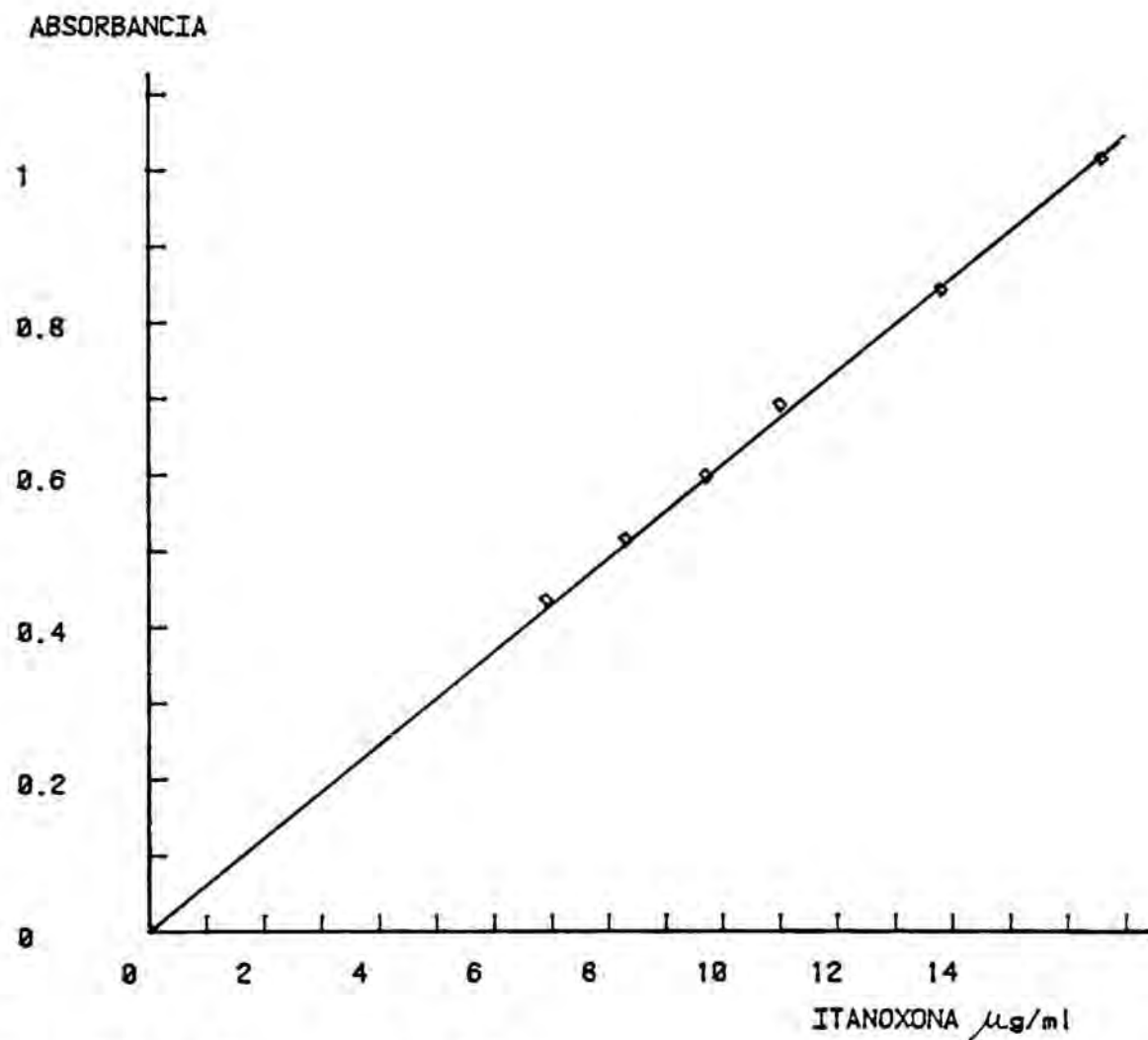


Figura 20:
REPRESENTACION DE LAS ABSORBANCIAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES
DE ITANOXONA. (SERIE 1 DE LA TABLA 19).



$$Y = 0.00000 + 0.06141 * X$$

R-SQR	DES. ESTANDARD
0.9923	0.0081

Figura 21:

REPRESENTACION DE LAS ABSORBANCIAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ITANOXONA. (SERIE 2 DE LA TABLA 19).

Resultado. Cálculo de errores:

Seguidamente se calculan los límites de error absoluto experimental que pueden aceptarse para los valores hallados de A/c.

Para ello se calculan, previamente, los errores relativos de A, para calcular después los de c; la suma de ambos nos dará el error relativo de A/c. Por una sencilla transformación hallaremos finalmente el error absoluto de A/c.

1. Errores relativos de A:

Estos valores se dan en la tabla para cada una de las series. Se parte de la base de que el error cometido en la lectura de la absorbancia es de ± 0.005 . Los valores se obtienen dividiendo $0.005/A$ y multiplicando por 100 para expresarlo en porcentaje.

2. Errores relativos de c:

Los errores cometidos en la preparación de la solución primera o de referencia, así como el paso I (ver Fig.: 18), afectarán por igual a todas las diluciones finales y por ello no deberán ser tomados en consideración; en cambio los que verdaderamente nos interesan son los cometidos en las fases II y III, por ser independientes entre ellos y poder producir aparentes desviaciones del valor A/c. El error relativo total (E_r) cometido en la preparación de cada una de las diluciones, se obtiene tomando los errores relativos (e_r) habidos en II y III.

$$E_r = e_r (II) + e_r (III)$$

En la tabla 23 se dan dichos errores relativos

CONCENTRACION µg/ml (c)	A/c . 1000			
	Serie 1	P1	Serie 2	P2
6'9	61'88	61'20	62'61	61'41
8'3	61'44		61'69	
9'7	60'82		61'34	
11'0	61'82		62'54	
13'8	61'32		60'87	
16'6	60'84		61'02	

Tabla: 22

Valores de A/c . 1000 para las distintas concentraciones. Asimismo se expresan las pendientes (P . 1000) para cada una de las series, de las rectas de regresión que pasan por el origen de coordenadas.

CONCENTRACION $\mu\text{g/ml}$	ERRORES RELATIVOS DE A	
	Serie 1	Serie 2
6'9	1'16%	1'17%
8'3	0'97%	0'98%
9'7	0'84%	0'85%
11'0	0'73%	0'73%
13'8	0'59%	0'59%
16'6	0'49%	0'49%

Tabla: 23

Errores relativos de A, expresados en porcentajes.

expresados en porcentajes.

3. Errores relativos de A/c:

Se obtienen sumando los Er de A más los Er de c. Se expresan también en la tabla 24 .

4. Errores absolutos de A/c:

Los errores absolutos de A/c se calculan multiplicando el correspondiente error relativo por el valor optimizado de dicho cociente, dado por la pendiente de la recta de regresión, hallado para cada serie (ver tabla 24), y dividido por 100.

$$Ea = Er \cdot P$$

Siendo P el valor de la pendiente de la recta de regresión que pasa por el origen, estimado mediante la fórmula (37):

$$P = \sum (A.c) / \sum c^2$$

Discusión:

En las figuras 25 y 26 se representan los valores de A/c para cada una de las series. La línea de trazos representa el valor estimado de la pendiente de la recta de regresión que pasa por el origen.

Se puede comprobar como los puntos hallados caen dentro del margen de error absoluto calculado.

Conclusiones:

Todo esto indica que dentro del margen de error experimental no se detecta ninguna discrepancia

CONCENTRACION $\mu\text{g/ml}$	Errores relativos de c (+/-)	Errores relativos A/c (+/-)		Errores absolutos A/c (+/-)
		Serie 1	Serie 2	
6'9	2'25	3'42%	3'41%	1'53
8'3	1'91	2'89%	2'88%	1'17
9'7	1'67	2'52%	2'51%	1'02
11'0	1'50	2'23%	2'23%	0'92
13'8	1'25	1'84%	1'84%	0'77
16'6	1'08	1'57%	1'57%	0'66

Tabla: 24

Representacion de los valores correspondientes a los errores relativos de c, A/c y a los absolutos de A/c.

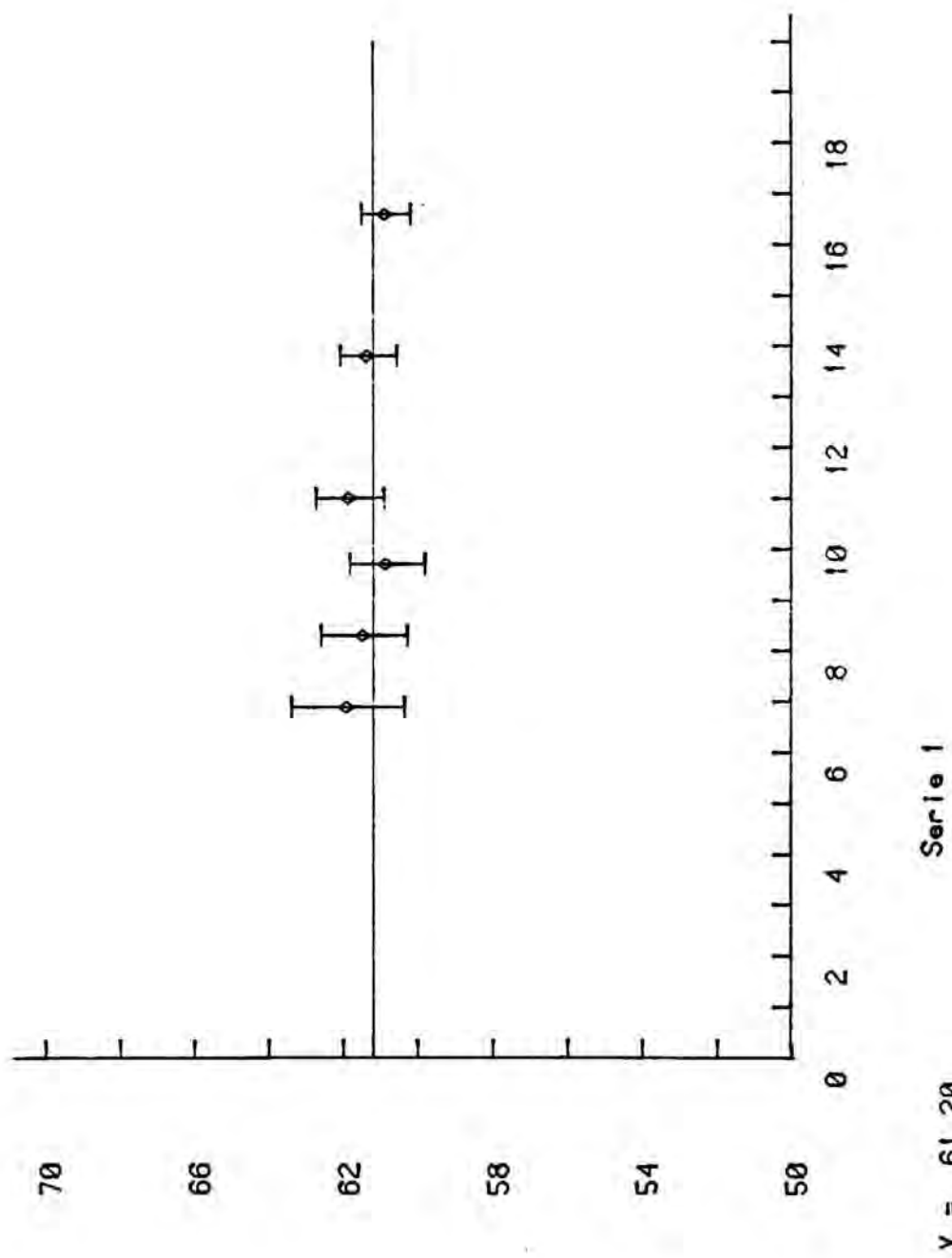


FIGURA 25

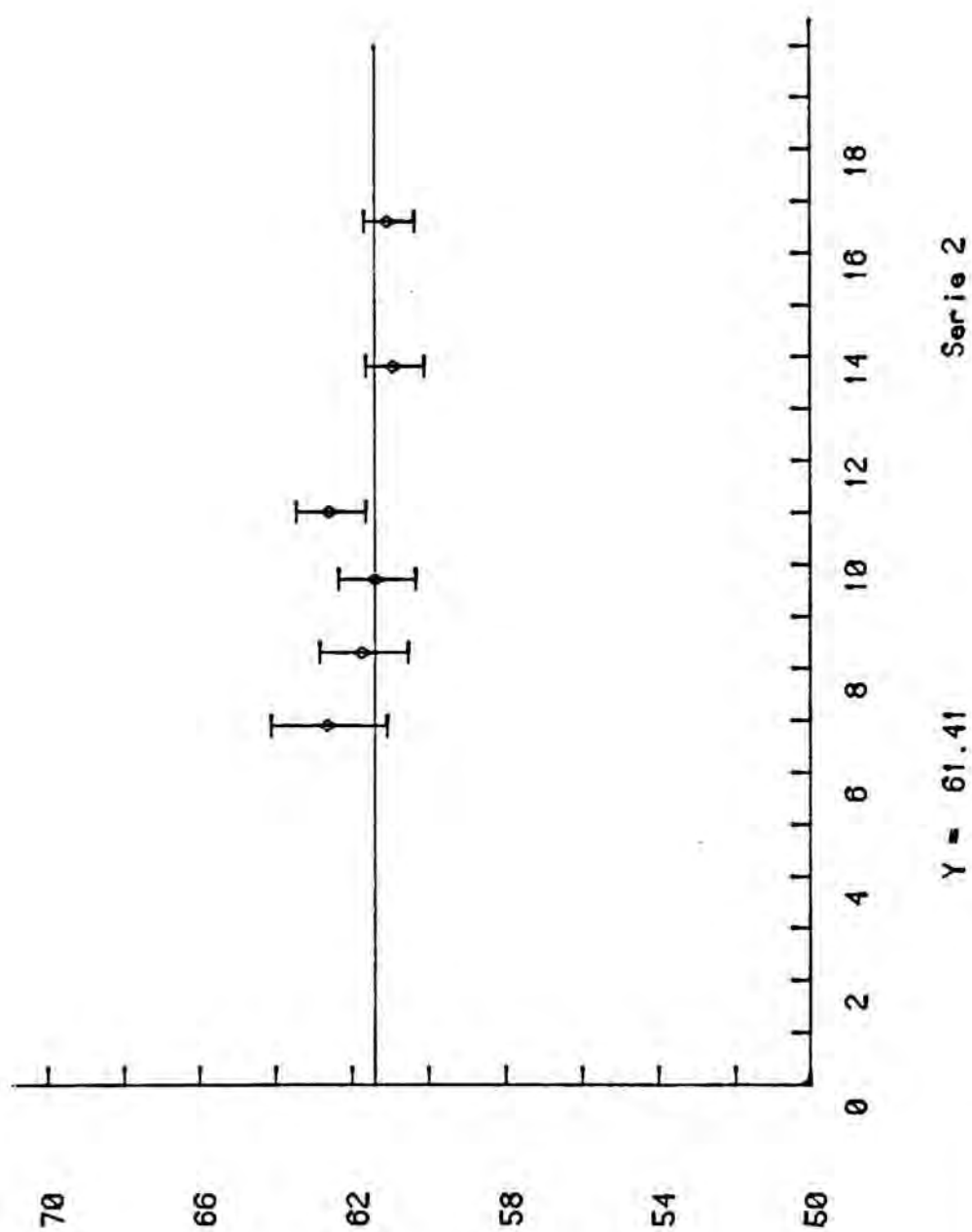


FIGURA 26.

respecto al cumplimiento de la ley de Lambert Beer y por tanto, el suponerla válida, no nos va a producir ningún aumento del error experimental.

4.1.1. Técnica espectrofotométrica aplicada a muestras turbias.

El método analítico que se ha puesto a punto para realizar el trabajo experimental, basado en elución de los spots obtenidos por C.C.F., queda substancialmente mejorado si se puede hacer la lectura en el espectrofotómetro, sin necesidad de realizar ninguna filtración previa para evitar los efectos de difusión de la luz, producida por las partículas de silicagel que hayan podido quedar en suspensión.

El espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 356, permite realizar la lectura de absorbancia de mezclas turbias y por ello ha sido empleado en todo nuestro trabajo.

Fundamento:

El espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 356, aunque puede funcionar en doble haz y doble longitud de onda para trabajos especiales, también se puede emplear como la mayoría de los espectrofotómetros convencionales en doble haz y una sola longitud de onda. Para nosotros, el interés de este aparato radica en el hecho de presentar dos compartimentos para las muestras, tal como se ve en al Fig. 27. El compartimento secundario, que se usa normalmente para muestras transparentes, está situado a unos 25 cm del fotomultiplicador, en tanto que el compartimento primario, ideado para colocar en el las muestras turbias, está situado a una distancia de hasta 3 mm del detector, con lo que las pérdidas de luz por difusión quedan prácticamente eliminadas.

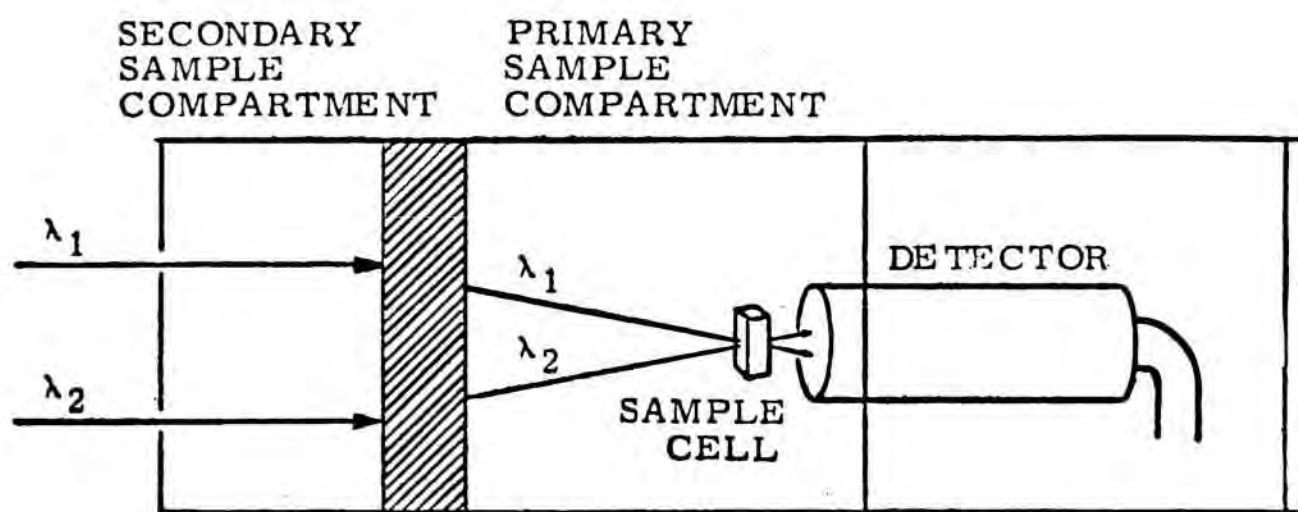


Fig. 27

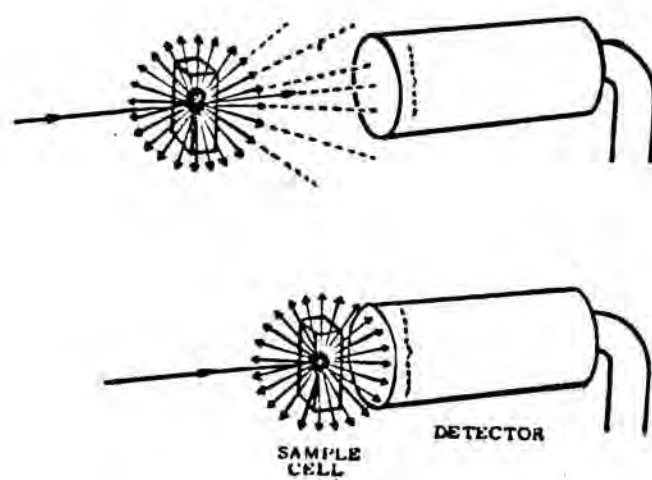


Fig. 28

En la Fig. 28 se ve el efecto que tiene sobre las pérdidas de luz por difusión, la distancia entre la muestra y el detector; esta pérdida es proporcional al cuadrado de dicha distancia.(38,39)

4.1.2. Aplicación al análisis de la Itanoxona.

Hemos realizado una serie de ensayos, con el espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 356, encaminados a establecer, sobre una base experimental, la posibilidad de medir las absorbancias de las muestras de Itanoxona en etanol, resultantes de la elución de porciones de cromatofolio que contienen dicha substancia, sin necesidad de realizar una filtración previa.

Se han comparado las absorbancias de una serie de muestras, que contienen la misma cantidad de Itanoxona, colocándolas directamente en el compartimento primario o bien colocándolas en el compartimento secundario previa filtración. Los resultados obtenidos se relacionan en la tabla 29 y ponen de manifiesto, que dicha filtración previa es innecesaria al utilizar este modelo de espectrofotómetro.

Se ha estudiado en una misma muestra, el efecto de la posición de la cubeta, realizando de la misma, cuatro lecturas:

- I Compartimento secundario.
 Agitación reciente de la muestra.
- II Compartimento secundario.
 Decantación previa de la muestra.
- III Compartimento primario.
 Agitación reciente de la muestra.

Método convencional	Método muestra turbia
Compartimento secundario	Compartimento primario
0'395	0'410
0'285	0'286
0'285	0'282
0'172	0'178
0'130	0'130
0'120	0'120

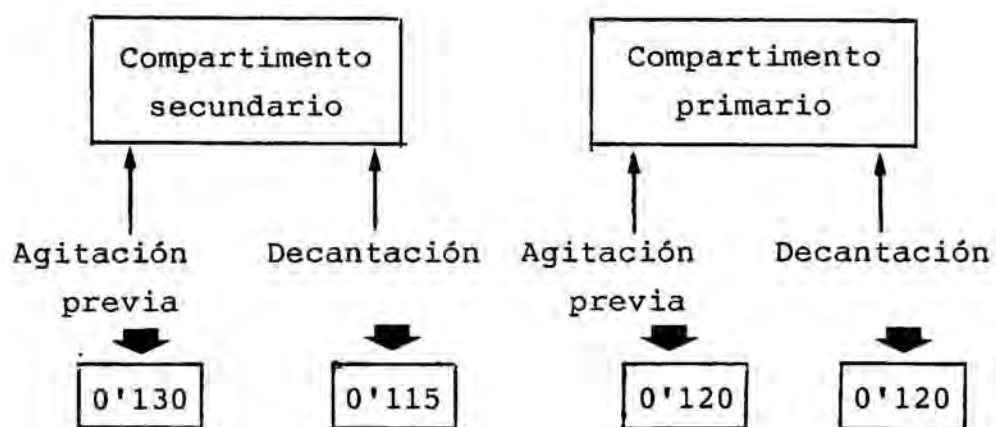
Tabla 29.

Resultados de la comparación del método convencional con el método para muestras turbias.

IV Compartimento primario.

Decantación previa de la muestra.

Resultados obtenidos:



Con ello se pone de manifiesto la constancia de la lectura en el compartimento primario y la influencia de la agitación en el secundario.

4.2. CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA CUANTITATIVA.

En la escasa bibliografía existente (12 ,13 ,15) se recurre ampliamente a la C.C.F. para la separación de la Itanoxona de impurezas y de productos de degradación, que puedan acompañarla. No se cita una sistematización de valoración cuantitativa por extracción de las manchas aisladas que corresponden a la sustancia en cuestión , recurriendo, para la valoración cuantitativa, a métodos más complicados, como la cromatografía de gases.

En nuestro departamento se ha puesto a punto un método de determinación cuantitativa de productos separados por cromatografía en capa fina (40), que ha demostrado una gran eficacia, siempre que el eluyente no sea acuoso, habiéndose aplicado con éxito a la vitamina D3, dexametasona, etc.

La buena solubilidad en etanol de la Itanoxona, su espectro UV y las características cromatográficas que permiten una cómoda separación de los productos que la puedan acompañar o impurificar, nos han llevado a intentar la aplicación de dicha técnica a la Itanoxona.

Los dos principales problemas que presenta este método de elución son:

- 1.- La operación de arrancar el polvo impregnado de sustancia, de la placa, sin que se produzcan pérdidas.
- 2.- La obtención de una solución totalmente transparente, para su posterior lectura en el espectrofotómetro.

La primera se ha superado con el empleo de cromatofolios Merck, que ofrecen la ventaja de poder ser recortados sin necesidad de tener que desprender el polvo del soporte metálico.

La segunda se ha solucionado con el empleo de un espectrofotómetro de doble haz y de doble longitud de onda (Perkin Elmer modelo 356) que permite obtener los espectros de mezclas turbias, por una especial disposición de la muestra en relación con la célula detectora, que impide la pérdida de intensidad, por efecto de la luz difundida.

4.2.1. Aplicación al análisis de la Itanoxona.

Material.

- Cámara cromatográfica Desaga.
- Cromatofolios Merck F 254 (Kiesegel 60 F 254).
- Jeringuilla Hamilton de 0,1 ml.
- Itanoxona sintetizada por el laboratorio Pierre Fabre.
- Cloroformo Merck.
- Metanol Merck.
- Etanol Uvasol Merck.
- Lámpara Uvatón 254 y 360 nm.
- Espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 356.
(Doble haz y doble longitud de onda).

Método.

Se parte de una solución de Itanoxona en etanol cuya concentración esté comprendida entre 0,1 - 1 mg/ml.

El proceso a seguir consta de las siguientes fases:

1. Aplicación:

Sobre un cromatofolio de silicagel se realizan cuatro siembras de 100 μ l cada una, de la disolución anterior, utilizando para ello una jeringuilla Hamilton especial, que por medio de un tope aspira cada vez una cantidad constante y gradua-

da, de disolución.

2. Secado:

Una vez hechas las siembras se seca el cromatofolio, por medio de una corriente de aire frío.

3. Desarrollo:

Se introduce el cromatofolio en una cámara de Desaga, herméticamente cerrada, que contiene como líquido de desarrollo metanol/cloroformo: 15/85. Se espera a que el frente esté a unos dos centímetros del borde de la placa (unos 15 centímetros de desarrollo).

4. Secado:

Se seca la placa, por medio de aire caliente, durante unos cuatro minutos.

5. Revelado:

Por inhibición de fluorescencia con lámpara UV de 254 nm. En este momento se procede al enmarcado de los spots, con un lapicero. Mantener la placa bajo la luz UV el menor tiempo posible.

6. Recortado:

Una vez los cromatofolios secos, se procede al encuadramiento de las manchas, procurando que éste sea equisuperficial. Se deberá encuadrar también, una porción a la misma altura y de la misma superficie, que no contenga ninguna sustancia, la cual servirá de blanco para la ulterior lectura en el espectrofotómetro. Seguidamente y por medio de tijeras, se recortan los correspondientes cuadros.

7. Extracción:

Una vez encuadradas y recortadas las manchas y el blanco, se van introduciendo en sendos tubos de unos 10 ml de capacidad, con tapón de rosca,

Vertemos mediante pipeta, 5ml de etanol (Uvasol) en cada uno de ellos y una vez tapados se agitan. A continuación se introducen en la nevera ($5^{\circ}\text{C} \pm 1$), durante un tiempo mínimo de una hora. Pudiéndose dejar de un día para otro, sin que ello sea causa de error.

8. Determinación espectrofotométrica:

Empleando el espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 356, en su disposición especial para mezclas turbias, y calibrando el aparato con el blanco, se procede a la lectura directa de las muestras, de las que por comparación con un patrón o por el coeficiente de absorbilidad, se puede determinar la concentración de las muestras. Se toma como resultado del análisis el valor medio de tres ensayos paralelos, obtenidos a través de una misma placa. La cuarta muestra sembrada se mantiene sin recortar y se conserva como control.

Las desviaciones observadas en relación al valor medio de los tres ensayos son siempre inferiores al 1%.

4.3. VALIDACION DEL METODO.

Para llevar a cabo la validación del método se han realizado las siguientes experiencias:

- Tiempo de elución.
- Reproducibilidad.
- Exactitud.
- Linealidad.
- Compatibilidad analítica con sus productos de degradación.

Todo ello ha permitido considerar como válido el método analítico que se ha desarrollado.

4.3.1. Tiempo de elución.

Se ha estudiado la velocidad con que las porciones de cromatofolios ceden la Itanoxona al medio etanólico.

Como se pone de manifiesto en el gráfico 30 , en una hora la porción de cromatofolio ha cedido el 100% de la cantidad de Itanoxona que tenia adsorbida. Normalmente el tiempo de elución que empleamos es muy superior, si bien se mantiene el tubo de elución en la nevera para evitar que tengan lugar procesos de degradación.

En el ejemplo que se reproduce en la figura 31 se ha comparado la lectura obtenida por elución sin agitación a temperatura ambiente, con la lectura que se obtiene al realizar la elución en la nevera con una ligera agitación antes de ser leída en el espectrofotómetro, obteniéndose resultados idénticos.

ELUCION DE LA ITANOXONA EN FUNCION DEL TIEMPO

DATOS EXPERIMENTALES

I:	X1	Y
1:	0	0.04
2:	5	0.3
3:	10	0.56
4:	15	0.63
5:	20	0.655
6:	25	0.662
7:	30	0.662
8:	40	0.667
9:	60	0.667

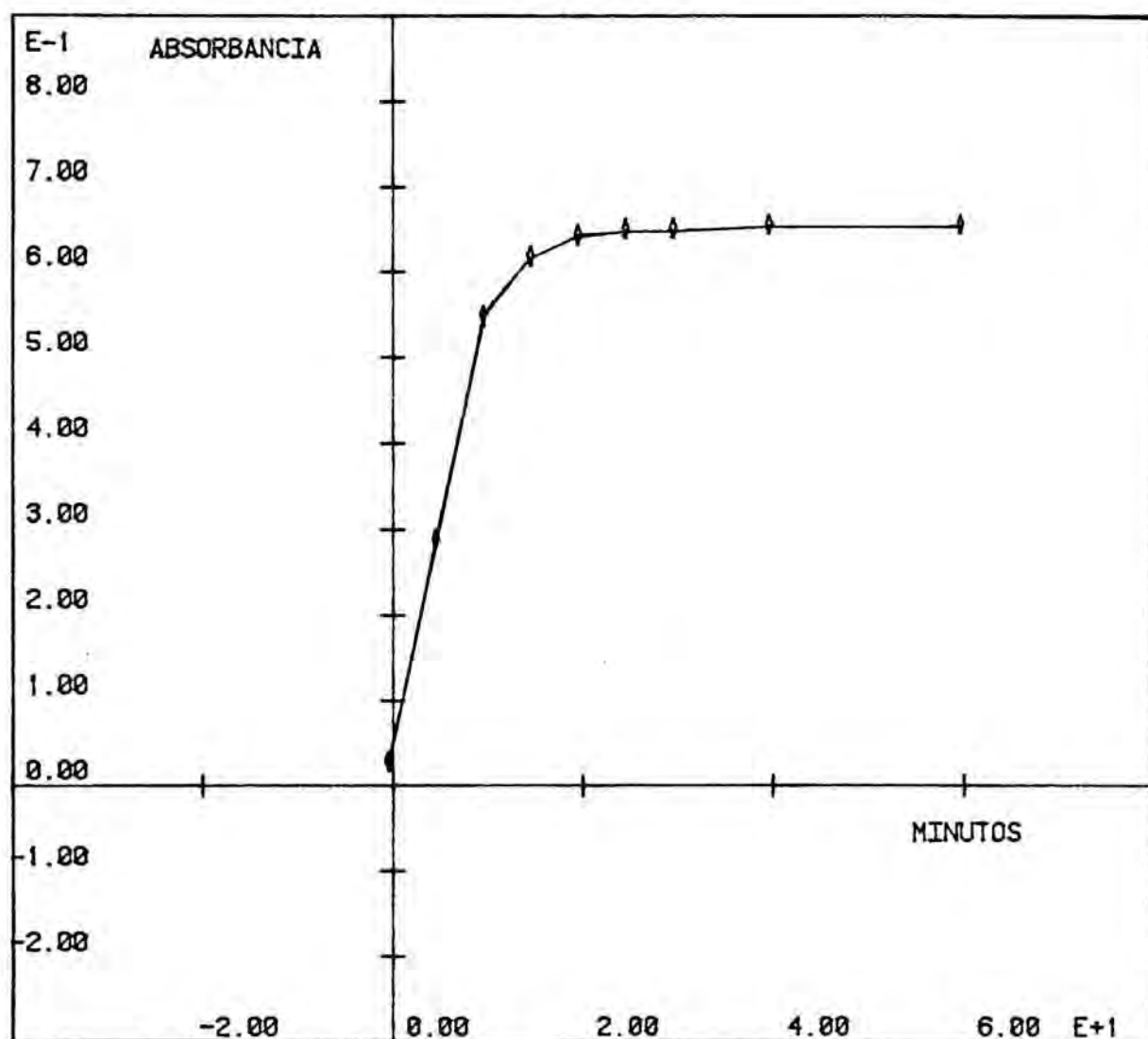


FIG. : 30

CURVA DE ELUCION DE LA ITANOXONA EN PLACA DE SILICAGEL EN FUNCION DEL TIEMPO.

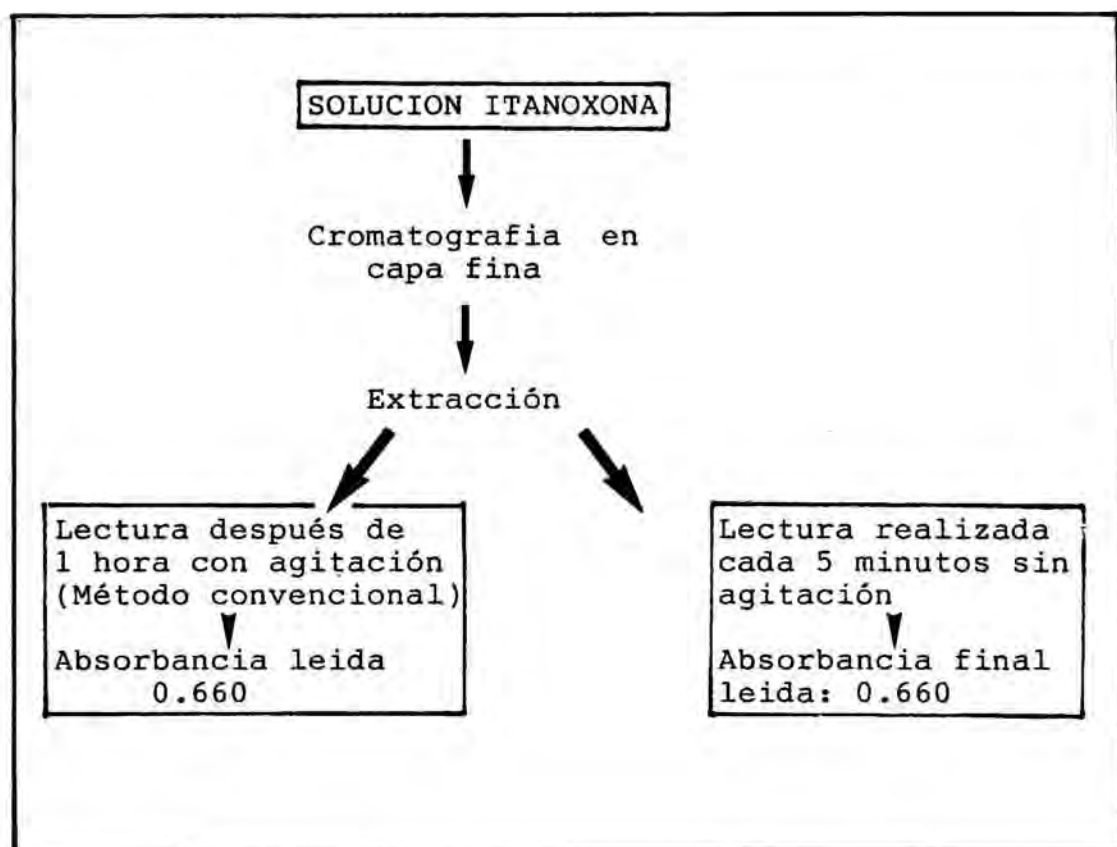


Fig.: 31

Se compara la lectura obtenida por elución sin agitación a temperatura ambiente, con la lectura que se obtiene cuando se hace la extracción en la nevera con agitación.

4.3.2. Reproductibilidad.

Se ha comprobado que al aplicar la técnica análítica independientemente a partir de la misma disolución se obtienen resultados concordantes.

Para mejorar la reproductibilidad se utiliza en todas las valoraciones el valor medio de tres determinaciones paralelas, obtenidas por siembras de la misma disolución sobre la misma placa. Las desviaciones del valor medio en cada conjunto de estos tres resultados son siempre inferiores al 1%.

En la tabla 32 se da una serie de valores obtenidos a partir de muestras de distinta concentración, representado agrupadas, de tres en tres, las absorbanCIAS obtenidas a través de una misma placa.

Se han estudiado estadísticamente los resultados obtenidos por aplicación del método analítico que corresponde al valor medio de tres ensayos paralelos.

En la tabla 33 se dan las varianzas y desviaciones estandard, referidas a cada una de las muestras estudiadas, y la varianza combinada así como su desviación estandard. Para ello se han utilizado todos los datos de las distintas muestras conjuntamente.

Esta última varianza, que trata de establecer una medida de la reproductibilidad del método utilizando toda la información disponible, se ha podido obtener al comprobar por aplicación del test F de Fisher, que todas la varianzas de las distintas muestras son del mismo orden.

La aplicación del test de Fisher se resume en la tabla 34, en la que aparecen los coeficientes F de comparación entre las varianzas, junto con los criterios de significación para un nivel de probabilidad

TABLA : 32

MUESTRAS	CROMATOFOLIOS					
	A	B	C	D	E	F
1	0'410	0'415	0'415	0'410	0'412	0'410
	0'410	0'410	0'410	0'410	0'410	0'413
	0'400	0'407	0'405	0'410	0'407	0'410
.....						
VALOR MEDIO	0'4066	0'4106	0'4100	0'4100	0'4096	0'4110
2	0'679	0'680	0'680	0'685		
	0'677	0'680	0'679	0'680		
	0'690	0'680	0'680	0'680		
.....						
VALOR MEDIO	0'6820	0'6800	0'6796	0'6816		
3	0'720	0'720	0'720			
	0'722	0'730	0'728			
	0'725	0'725	0'725			
.....						
VALOR MEDIO	0'7223	0'7250	0'7243			
4	1'222	1'222	1'222			
	1'222	1'222	1'230			
	1'230	1'222	1'210			
.....						
VALOR MEDIO	1'2246	1'2220	1'2207			

MUESTRAS	$\bar{x}$	σ	v
1	0'4096	$1'567 \cdot 10^{-3}$	$2'455 \cdot 10^{-6}$
2	0'6808	$1'177 \cdot 10^{-3}$	$1'386 \cdot 10^{-6}$
3	0'7239	$1'401 \cdot 10^{-3}$	$1'963 \cdot 10^{-6}$
4	1'2224	$1'986 \cdot 10^{-3}$	$3'944 \cdot 10^{-6}$

VARIANZA COMBINADA = $2'432 \cdot 10^{-6}$.

DESVIACION ESTANDARD COMBINADA = $1'559 \cdot 10^{-3}$

Tabla : 33

Se dan las varianzas (V) y desviaciones estandard (σ) referidas a cada una de las muestras estudiadas, asi como su varianza y desviación estandard combinada.

$F_{1.2} = V1/V2 = 1'772$ $F < 9'014$ $P = 95\%$
$F_{1.3} = V1/V3 = 1'251$ $F < 19'296$ $P = 95\%$
$F_{1.4} = V4/V1 = 1'606$ $F < 5'786$ $P = 95\%$

Tabla : 34

Valores del coeficiente F al comparar las distintas muestras para probabilidad (P) de obedecer las mismas fluctuaciones estadísticas.

del 95%.

Como resumen de este estudio estadístico podemos establecer los límites de confianza de los valores obtenidos para un nivel de probabilidad del 95% multiplicando la desviación estandard por el coeficiente t de Student, que corresponde a los grados de libertad utilizados, 12 en nuestro caso.

$$\sigma = 1'559 \cdot 10^{-3}$$

$$t = 2'1788$$

$$\text{Límites de confianza} = \pm 0'004$$

4.3.3. Exactitud.

Se han comparado las absorbancias de muestras de Itanoxona pura, de la misma concentración, obtenidas por disolución directa en etanol y por elución de cromatofolios según el método analítico propuesto.

Las discrepancias son del orden del 2%, como puede verse en los ejemplos que consideramos a continuación.

DISOLUCION DIRECTA	0'580	0'665	1'100	0'540
CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA	0'575	0'680	1'120	0'552
PORCENTAJE ERROR	0'9%	2'2%	1'8%	2'2%

4.3.4. Linealidad.

Se han realizado una serie de determinaciones, aplicando el método analítico propuesto, a partir de una misma disolución de Itanoxona pura sometida a distintas diluciones.

La disolución de partida, de 0'97 mg/ml de concentración, presenta una absorbancia, por lectura directa de 1'100. Las diluciones ensayadas se han obtenido con arreglo a la siguiente pauta:

MUESTRA Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
DISOLUCION MADRE (ml)	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
VOLUMEN FINAL (ml)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Los resultados que se han obtenido se relacionan en el cuadro siguiente:

MUESTRA	CONCENTRACION mg/ml	CONCENTRACION CONVENCIONAL	ABSORBANCIA
1	0'0194	10	1'120
2	0'0175	9	0'985
3	0'0155	8	0'885
4	0'0136	7	0'771
5	0'0116	6	0'654
6	0'0097	5	0'552
7	0'0078	4	0'440
8	0'0058	3	0'325
9	0'0039	2	0'218
10	0'0019	1	0'115

Con estos datos se han determinado los parámetros de la recta de regresión correspondiente (Fig.: 35), con y sin la condición de pasar por el origen.

$$\begin{array}{ll} Y = ax + b & Y' = a'x \\ a = 57'319 & a' = 56'956 \\ b = 0'0045 & \end{array}$$

Los valores de Y e Y' calculados en función de dichos parámetros, han permitido obtener las desviaciones en relación a la recta teórica y por análisis de las varianzas correspondientes, mediante la fórmula:

$$F = (n-2)(\sum(Y'-A)^2 - \sum(Y-A)^2) / \sum(Y-A)^2$$

establecer un test de significación del valor de la ordenada en el origen.

El coeficiente F obtenido o su recíproco, si resulta inferior a la unidad, se comparan con las tablas habituales de Fisher entrando con 1 y $n-2$ grados de libertad (41).

El resultado a que se ha llegado (expresado en el recuadro), pone de manifiesto que además de una buena linealidad, el método se caracteriza por una buena proporcionalidad, ya que la ordenada en el origen no tiene significación estadística.

$$F = 1'697$$

Significación:

$$P = 95\%$$

$$F \quad 238'8$$

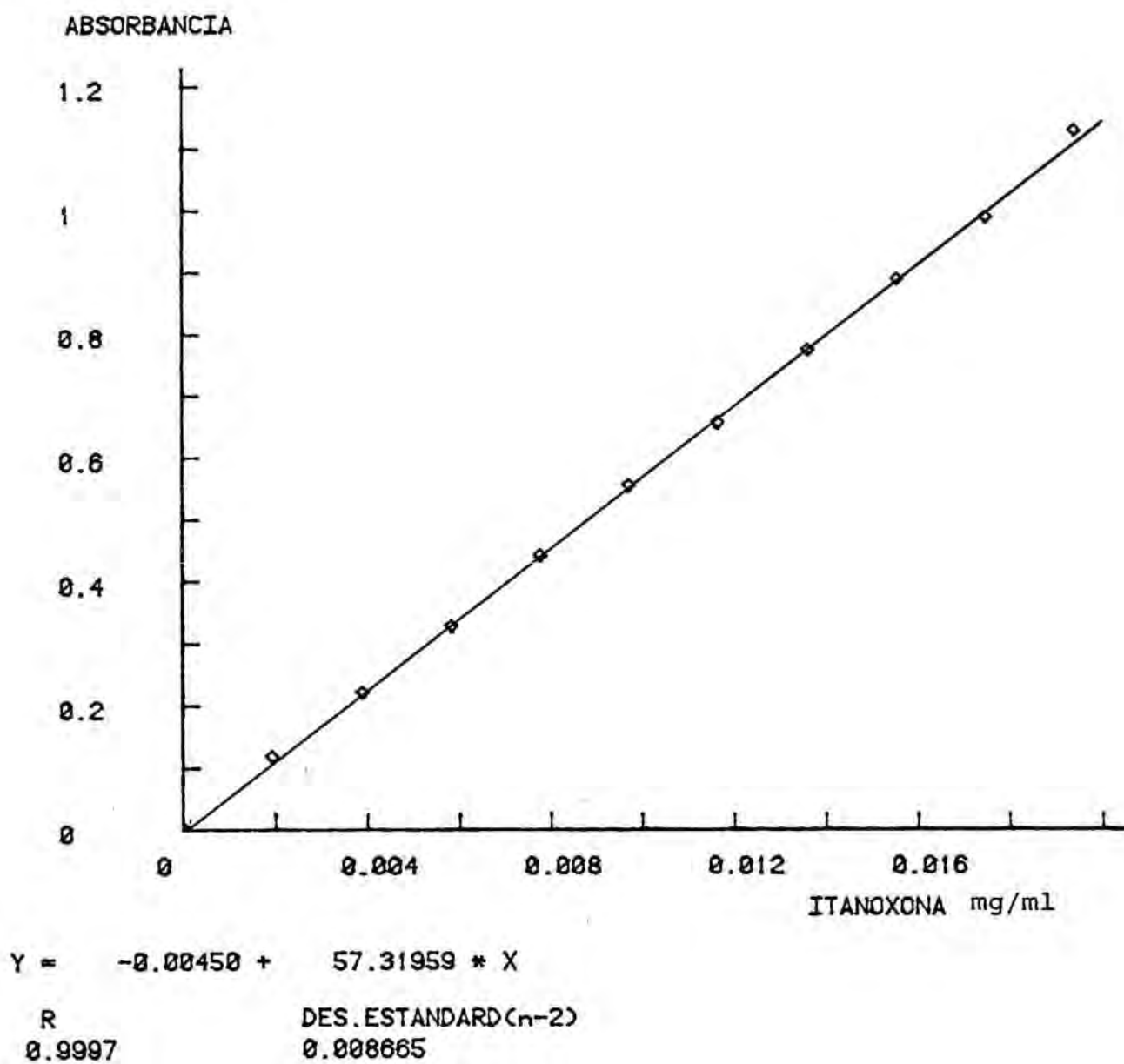


Fig.: 35

4.3.5. Compatibilidad analítica con sus productos de degradación.

El eluyente que normalmente se ha empleado es el recomendado por H. Cousse (13) para conseguir una buena separación de las impurezas debidas a la síntesis.

A lo largo de nuestros estudios sobre degradación de la Itanoxona, se han caracterizado una serie de productos, definidos por sus Rf, así como por sus espectros UV e IR.

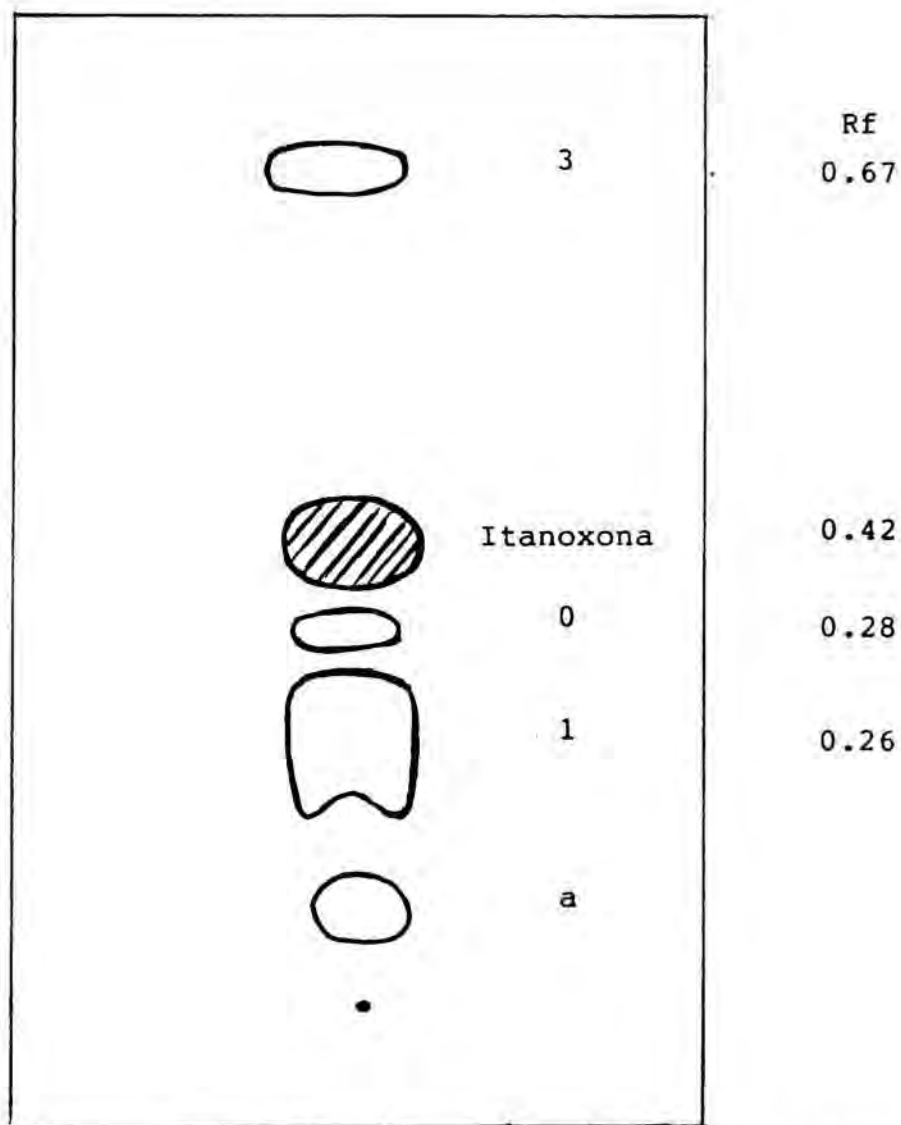
En la figura 36 se da un esquema de los distintos productos obtenidos, con sus Rf y los nombres con los que convencionalmente los hemos designado.

En el cromatograma, estos productos quedaron suficientemente separados de la Itanoxona, como para que no se puedan producir interferencias.

No obstante, el producto que convencionalmente se denomina "0", podría superponerse parcialmente con la Itanoxona. Este hecho solo afecta a muestras muy envejecidas, ya que dicho producto no aparece en las primeras fases de la degradación.

Se ha intentado modificar el líquido de desarrollo para conseguir una mejor separación entre el "0" y la Itanoxona. Para ello se han realizado los siguientes ensayos:

CLOROFORMO	METANOL
95	5
70	30
90	10
80	15
80	20



Líquido de desarrollo: metanol/cloroformo:15/85

Figura : 36

Productos de degradación de la Itanoxona, con sus denominaciones convencionales y su situación en el cromatograma.

La modificación Cloroformo/Metanol: 80/20, es la que mejor sirve para conseguir una buena separación entre la Itanoxona y el producto "0", pero presenta el inconveniente de disminuir la separación entre los productos de Rf elevado.

Como en este estudio de degradación, no solamente se ha intentado valorar la cantidad de Itanoxona remanente, sino que también se han intentado valorar los diferentes productos de degradación a lo largo del proceso cinético, se han empleado estos dos líquidos de desarrollo discrecionalmente para obtener la mejor separación según las circunstancias de la muestra a estudiar.

5.- ESTUDIOS EXPERIMENTALES DE DEGRADACION.

5. ESTUDIOS EXPERIMENTALES DE DEGRADACION.

La baja solubilidad de la Itanoxona en agua (0.0079 mg/ml), hace imposible la aplicación del método analítico que se ha puesto a punto para seguir el proceso cinético de degradación. La disolución óptima sería de 1 mg/ml. Esta dificultad queda agrandada por la imposibilidad práctica de alcanzar los niveles de concentración que corresponden a la solubilidad anteriormente reseñada. Las soluciones de mayor concentración que se han obtenido tienen una absorbancia de 0.466. Este valor, una vez realizada la técnica de separación cromatográfica, queda reducido unas 50 veces, lo que hace imposible su control cuantitativo por espectrofotometría. Se ha intentado buscar métodos alternativos de análisis, sin conseguirlo.

Por esta razón se ha escogido el etanol para realizar los estudios de degradación en fase homogénea, ya que es un disolvente de fácil manejo, en el que la Itanoxona presenta una solubilidad aceptable (5 mg/ml). En estas condiciones se ha comprobado una fuerte influencia de la temperatura, que facilita el estudio de la degradación acelerada, en medios termostatizados.

La sustancia no ha demostrado ser sensible a la radiación, por lo que no es preciso tomar precauciones especiales en su manejo.

La propia técnica analítica facilita la realización de ensayos de degradación sobre placas de silicagel ya que si bien, a temperatura ambiente y en periodos de tiempo cortos, no se producen efectos degradatorios sobre las placas, al considerar periodos más dilatados y temperaturas elevadas, se demuestra que la Itanoxona se degrada con bastante más velocidad que en disolución etanólica. Este efecto degradatorio

se pone de manifiesto utilizando la cromatografía bidimensional, dejando transcurrir siete días a la temperatura de 60°C, entre el primer y segundo desarrollo de la placa (ver figura 37). Con ello, tanto la Itanoxona, como algunos de sus productos de degradación adsorbidos sobre la placa de silicagel, sufren alteración.

Esta técnica de cromatografía bidimensional ofrece grandes posibilidades para dilucidar los mecanismos de degradación, concretamente los resultados consignados en la figura 37, ponen claramente de manifiesto que la Itanoxona y el producto 1 se pueden transformar recíprocamente el uno en el otro, poniéndose de relieve que existe entre los dos un equilibrio que obliga a suponer que se trata de isómeros.

Si bien el método analítico que se ha puesto a punto permite determinar la Itanoxona remanente, se ha aplicado el mismo método de extracción y determinación espectrofotométrica, a cada uno de los productos que se han ido formando, con el objeto de relacionar la disminución del producto degradado, con la formación de los compuestos a que da lugar.

Los productos caracterizados en los procesos de degradación en medio etanólico y sobre placas de

silicagel, son fundamentalmente los mismos, aunque la velocidad de su formación y las proporciones en que se forman son bastante distintas.

En la figura 38 se muestran dos cromatogramas, de productos envejecidos a 70°C durante 411 horas, que se diferencian en que uno se ha degradado en disolución etanólica y el otro lo ha hecho sobre soportes de silicagel. Observese que la degradación en silicagel es mucho más rápida y que existe una proporción diferente entre los productos 1 y 3, así como la ausencia del producto.

Para facilitar la caracterización de los productos de degradación se han atribuido denominaciones convencionales a los distintos productos, definidos por sus R_f y sus espectros UV. En el esquema de la figura 39 se dan los detalles de estas caracterizaciones.

La acción degradatoria del soporte de silicagel puede presentarse también en otros soportes sólidos,

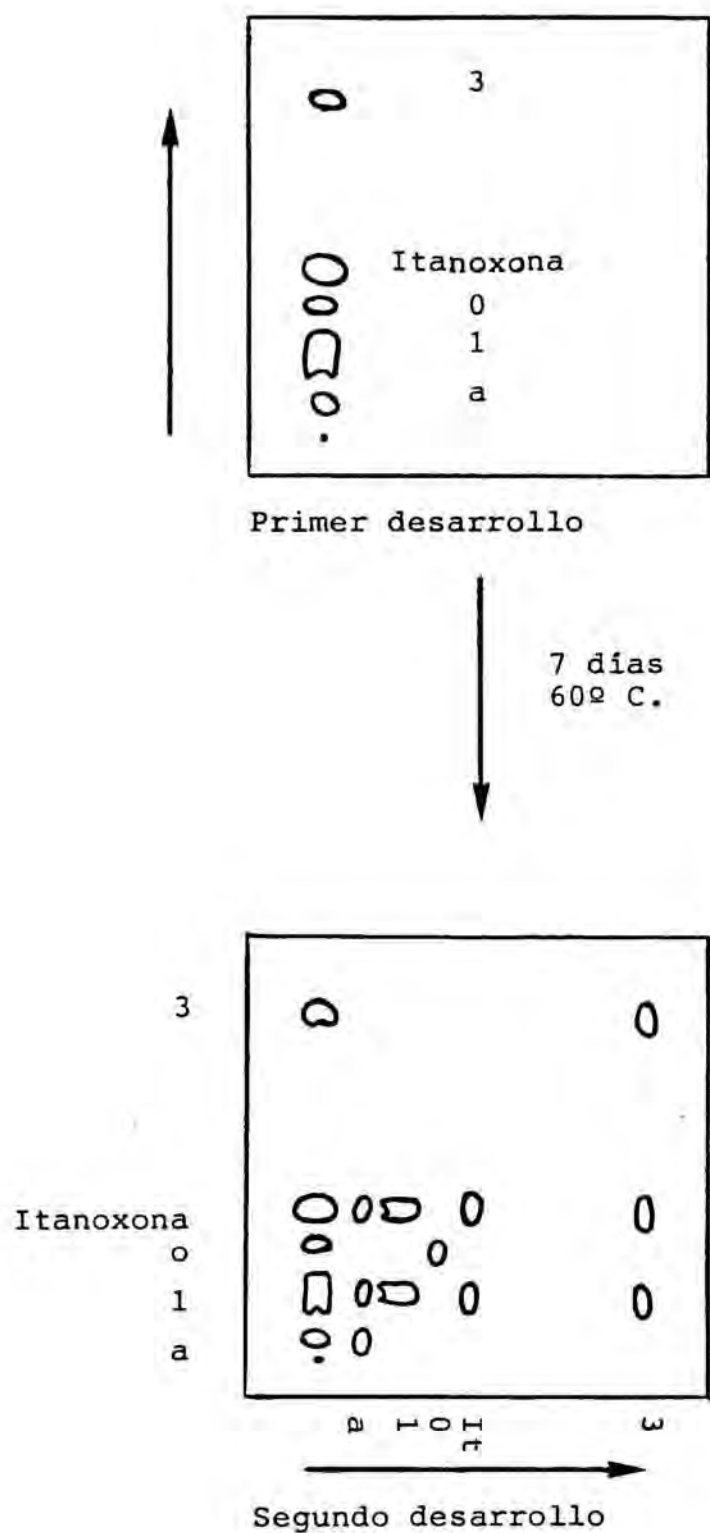
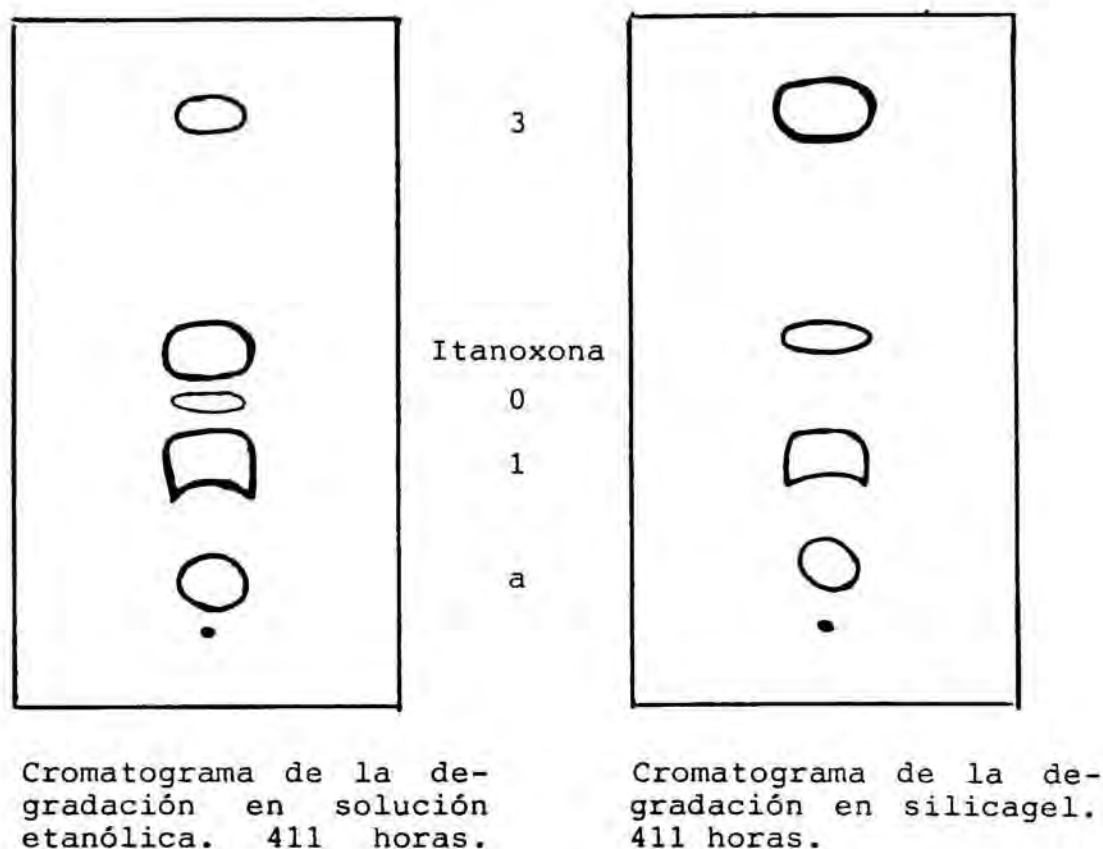


Figura : 37

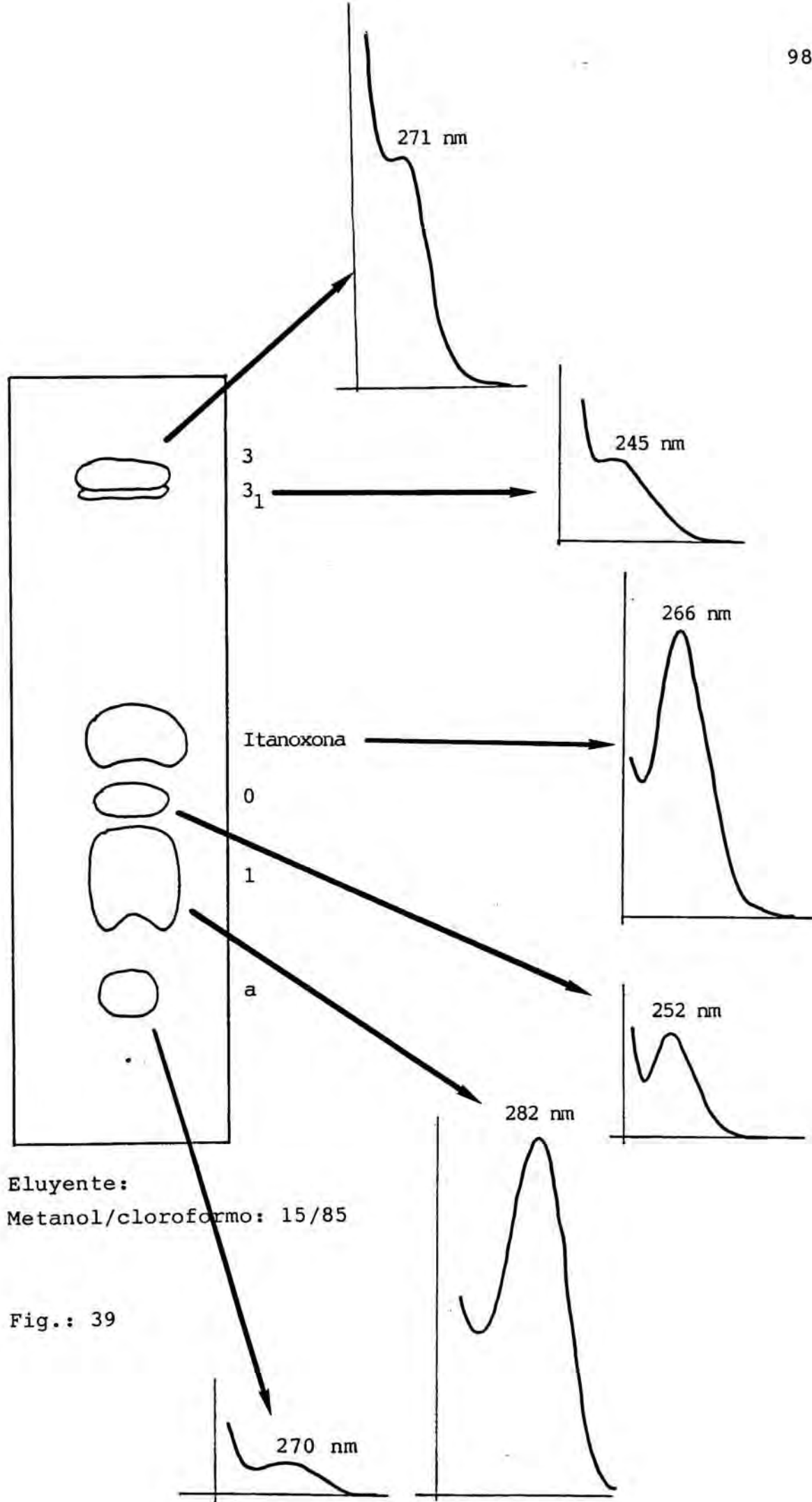
Cromatografía bidimensional en la que se puede apreciar, como tanto la Itanoxona como algunos de sus productos de degradación, sufren alteraciones.



ABSORBANCIA		ABSORBANCIA
0'190	3	1'015
0'220	Itanoxona	0'058
0'005	0	
0'758	1	0'328
0'165	a	0'075

Figura : 38

Cromatogramas y absorbancias de productos envejecidos a 70°C durante 411 horas, que se diferencian en que una se ha degradado en disolución etanólica y la otra sobre placas de silicagel. Los valores de absorbancia de la disolución inicial de Itanoxona es de 1.060.



algunos de los cuales pueden presentar interés en tecnología farmacéutica, por utilizarse como excipiente de formas farmacéuticas sólidas. Por esta razón se han realizado estudios de degradación sobre alguno de estos excipientes, tales como: lactosa, celulosa microcristalina, estearato magnésico, talco y óxido magnésico. Como referencia para ver el efecto de los excipientes sobre la degradación de la Itanoxona, se ha estudiado la estabilidad de una muestra sólida-cristalizada en medio seco y húmedo.

5.1. DEGRADACION EN FASE HOMOGENEA.

5.1.1. Estabilidad del sólido puro cristalizado.

Material.

- Itanoxona sintetizada por los Laboratorios Pierre Fabre.
- Etanol Merck.
- Etanol Uvasol Merck.
- Cromatofolios de silicagel Merck F-254 (Kieselgel 60 F-254).
- Cápsulas de porcelana.
- Recipiente hermético.
- Jeringuilla Hamilton 0,1 ml .
- Cámara cromatográfica Desaga.
- Cloroformo Merck.
- Metanol Merck.
- Lámpara Uvaton 254 y 360 nm .
- Estufa Heraeus, con termorregulación (+/-1°C).
- Espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 356.

Método y resultados.

Se ha sometida a la temperatura de 70°C dos muestras de Itanoxona pura cristalizada, una de ellas en un ambiente húmedo y otra en contacto con el aire. Con ello se pretende poner de manifiesto la posible influencia de la humedad sobre la estabilidad del producto puro.

En el esquema de la figura 40 se muestra como se ha conseguido una atmósfera de humedad 100% en el interior de la estufa.

Los resultados obtenidos sirven de referencia para ver los efectos que sobre la degradación producen los excipientes sólidos, con los que se puede mezclar.

En el cuadro 41 se dan los resultados que se han obtenido al ir sacando muestras periódicamente, disolverlas en etanol y aplicar el método analítico.

En general se puede afirmar que la Itanoxona en estas condiciones presenta una gran estabilidad a pesar de haberse experimentado a temperatura muy elevada (70°C). Puede observarse también que el producto mantenido en atmósfera húmeda, se degrada con mayor facilidad aunque su estabilidad es también muy elevada.

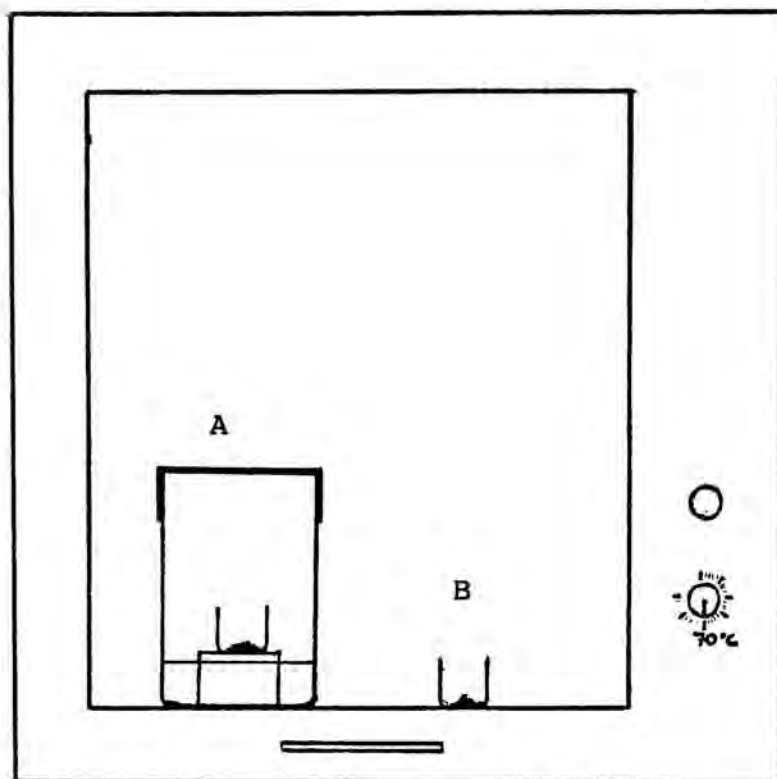


Figura 40: Degradaciones simultaneas de Itanoxona, una en atmósfera saturada de agua (A), y la otra en condiciones ambientales normales(B).

TIEMPO	ABSORBANCIAS			
Días	SECO		HUMEDAD 100%	
	1	Itanoxona	1	Itanoxona
0	0.001	0.850	0.001	0.850
10.04	0.001	0.855	0.001	0.840
53.06	0.001	0.850	0.001	0.810
91.00	0.001	0.850	0.010	0.800
213.00	0.001	0.853	0.010	0.790

Cuadro 41: Resultados que se han obtenido al ir sacando muestras periódicamente, disolverlas en etanol y aplicar al método analítico. Una de ellas estaba sometida a un ambiente con humedad al 100% y al otra en un ambiente seco.

5.1.2. Estabilidad en medio acuoso.

Si bien no ha sido posible seguir cuantitativamente los procesos de degradación en medio acuoso por medio de las técnicas de separación cromatográfica, se ha tenido interés en seguir estas degradaciones por la evolución de los espectros UV.

Se han preparado dos soluciones que presenta absorbancias del mismo orden en el UV, una de ellas en medio acuoso y la otra en medio etanólico. En medio acuoso se ha obtenido la solución a partir de una suspensión de Itanoxona por filtración.

Se han mantenido ambas soluciones en estufa a 50°C registrándose sus espectros UV a determinados intervalos de tiempo. Los resultados se muestran en las tablas siguientes:

TIEMPO horas	ABSORBANCIAS	
	ITANOXONA/Etanol	ITANOXONA/Agua
0	0.305 (266.0 nm)	0.312 (270.5 nm)
25.0	0.365 (276.5 nm)	0.298 (270.5 nm)
47.0	0.365 (277.3 nm)	0.298 (272.0 nm)
73.3	0.375 (281.0 nm)	0.308 (274.2 nm)
144.3	0.380 (281.0 nm)	0.290 (278.0 nm)
188.3	0.409 (282.5 nm)	0.305 (282.5 nm)

TIEMPO horas	ABSORBANCIAS	
	ITANOXONA/Etanol	ITANOXONA/Agua
0	0.472 (265 nm)	0.448 (270.5 nm)
21.66	0.455 (271 nm)	0.485 (271.6 nm)
45.66	0.440 (273.5 nm)	0.490 (272.3 nm)
72.24	0.440 (275 nm)	0.493 (275 nm)
141.84	0.430 (276.5 nm)	0.482 (277 nm)
189.84	0.442 (278 nm)	0.470 (281 nm)

En la figura 42 podemos ver la representación gráfica de absorbancias frente al tiempo, de los resultados de las tablas anteriores.

En las figuras 43-44 se muestran los espectros comparativos de Itanoxona/Etanol e Itanoxona/Agua, en los estados inicial y final del proceso de degradación.

Estos estudios ponen de manifiesto una gran analogía en la vía degradatoria de la Itanoxona en ambos medios; las diferencias de absorbancia que se presentan en los dos medios no tiene significación, ya que en dos experiencias consecutivas los resultados han sido opuestos, pero si que es posible afirmar que las absorbancias globales de la Itanoxona y los productos de degradación no sufren alteraciones importantes y presentan una tendencia a desplazarse hacia longitudes de onda crecientes, como resultado de la formación de Producto 1.

Con objeto de obtener la separación cromatográfica de los productos de degradación en medio acuoso, hemos procedido a concentrar una solución degradada y sembrarla sobre un cromatofolio de silicagel, para obtener el cromatograma. Con ello se ha podido comparar los productos obtenidos en medio acuoso, con los que normalmente se obtienen en medio alcohólico.

En la figura 45 se dan dos cromatogramas, procedentes de muestras degradadas en medio acuoso y en medio

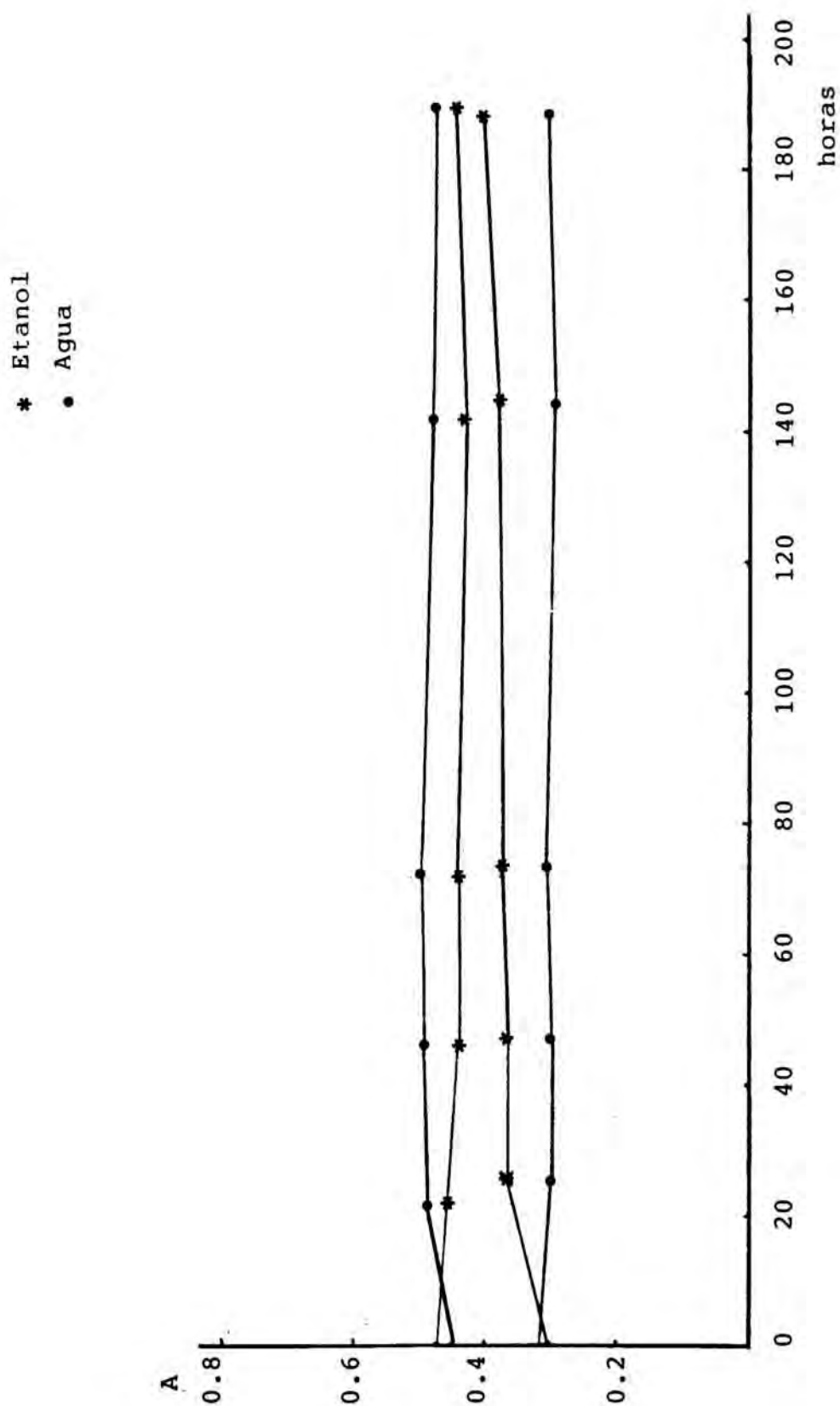


Figura : 42

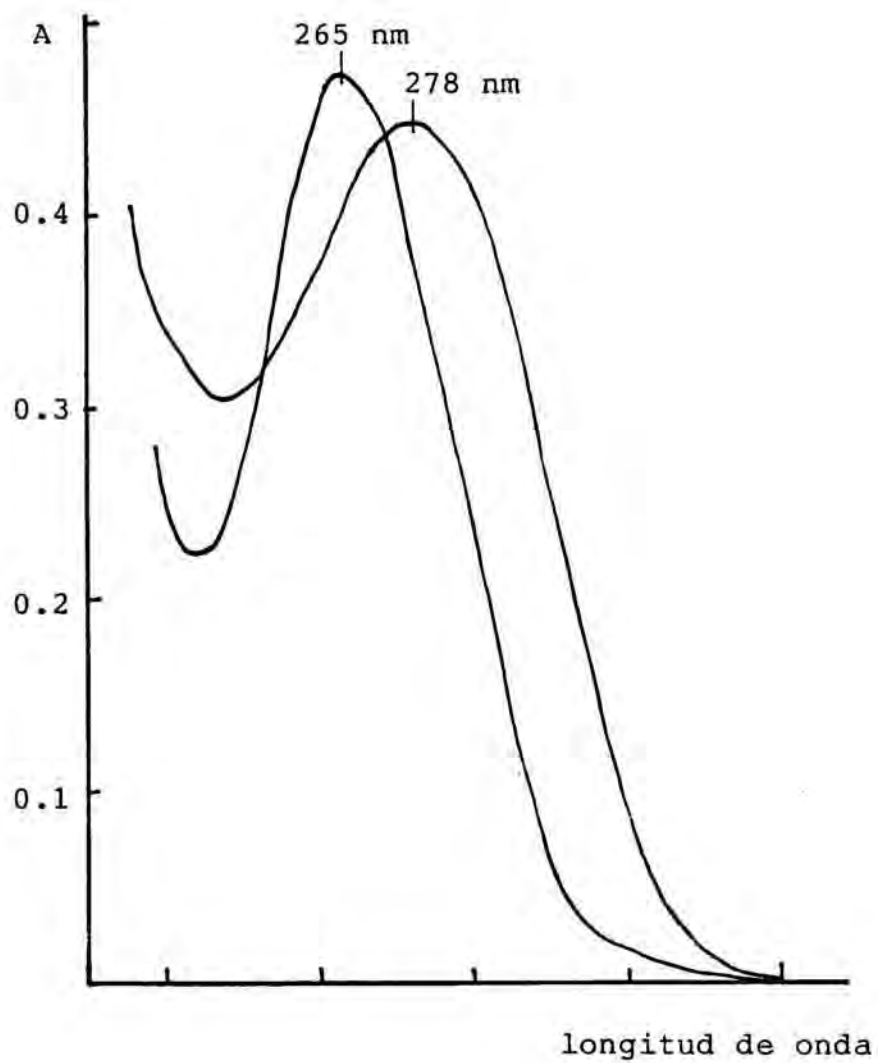


Figura 43: Espectros de Itanoxona/etanol en los estados inicial y final al que se ha llegado, del proceso degradatorio.

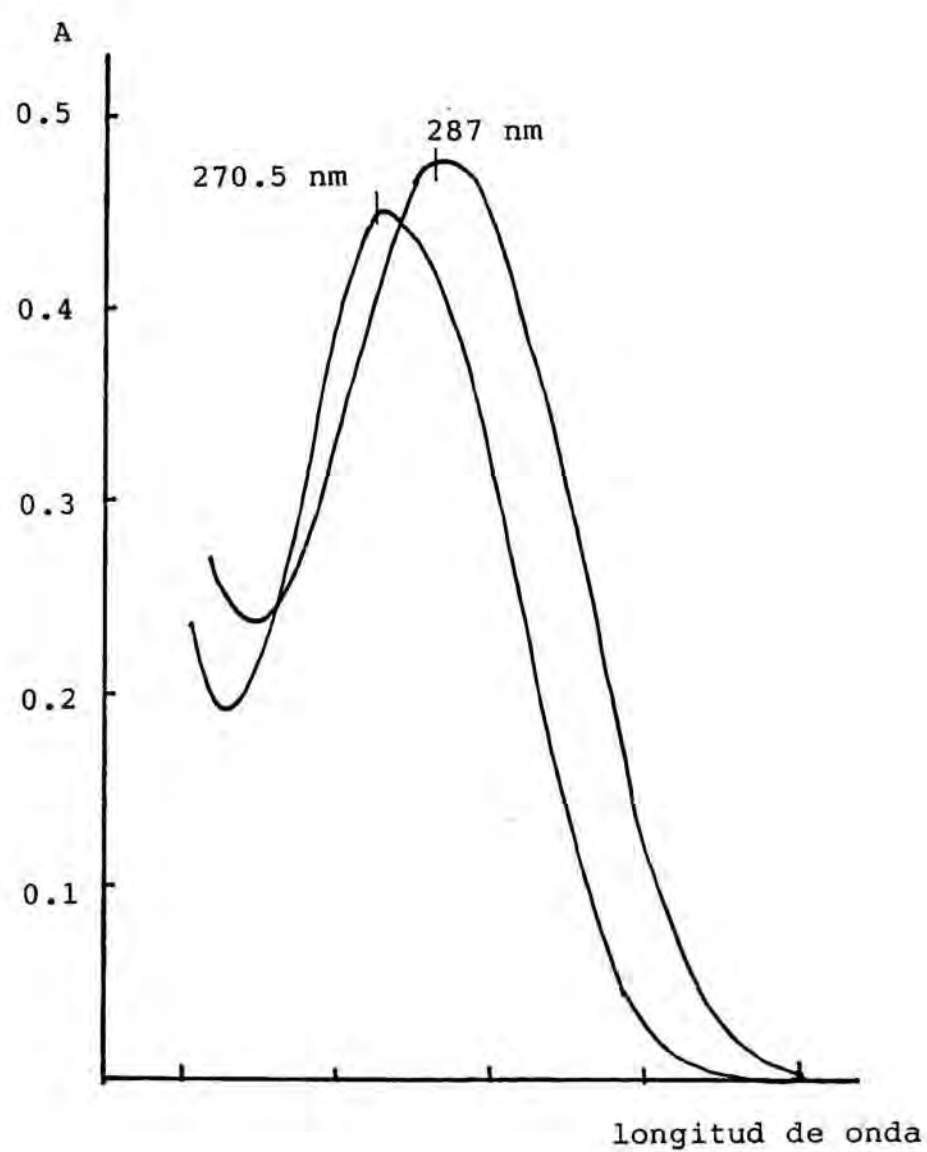
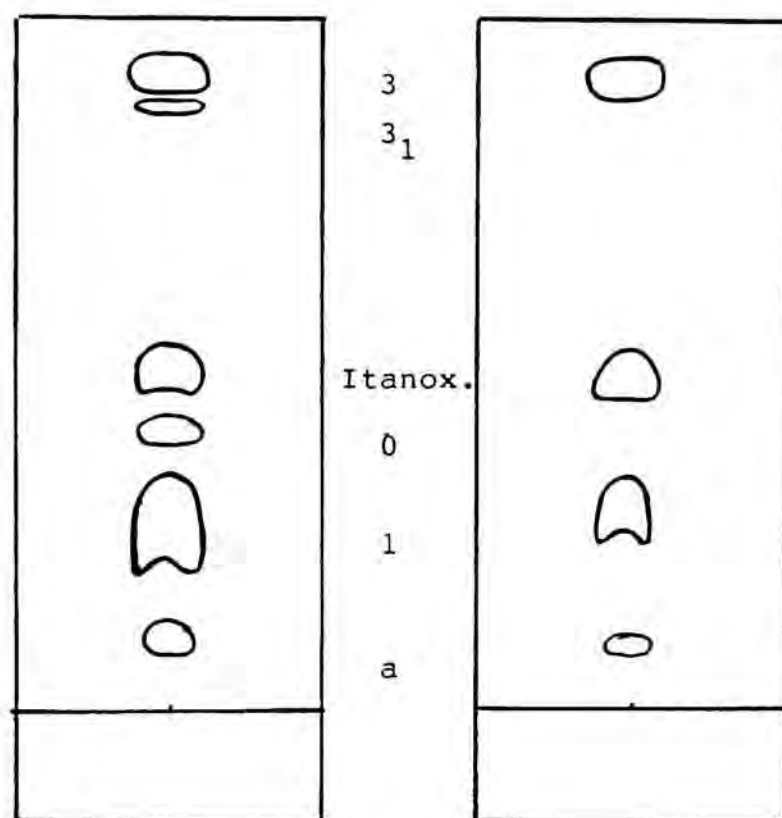


Figura 44 : Espectros de Itanoxona/agua en los estados inicial y final al que se ha llegado, del proceso degradatorio.

etanólico respectivamente. Se puede apreciar en dichos cromatogramas, que los productos formados son los mismos. Esta afirmación se basa, no solamente en la posición de los "spots" (R_f), sino también por los espectros UV que presentan dichos productos, al ser eluidos con etanol.



Cromatograma de la
degradación en solu
ción etanólica.

Cromatograma de la
degradación en medio
acuoso.

Figura 45:

Cromatogramas procedentes de muestras
degradadas en medio acuoso y en medio
etanólico.

5.1.3. Estabilidad en solución etanólica.

Material.

- Itanoxona sintetizada por Laboratorios Pierre Fabre.
- Etanol Merck.
- Etanol Uvasol Merck.
- Cromatofolios de silicagel Merck F-254 (Kieselgel 60 F-254).
- Jeringuilla Hamilton 0,1 ml.
- Cámara cromatográfica Desaga.
- Cloroformo Merck.
- Metanol Merck.
- Lámpara Uvatón 254 y 360 nm.
- Probeta graduada con conexión esmerilada.
- Refrigerante.
- Material volumétrico aforado.
- Baños termostatizados con silicona (+/- 1°C).
- Estufa Heraeus, con termorregulación (+/- 1°C).
- Espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 356.

Método.

La disolución etanólica de Itanoxona se introduce en el baño termostatizado adecuado, y se toman muestras de la misma a distintos tiempos.

Con la fracción de solución separada, se realiza la técnica cromatográfica y la espectrofotometría posterior, siguiendo el método analítico ya estudiado, obteniendo, a ser posible, la absorbancia de la Itanoxona y de sus productos de degradación.

El procedimiento empleado inicialmente consiste en utilizar como recipiente de la disolución un tubo

pyrex de tapón roscado.

Para controlar posibles fugas de los vapores de alcohol durante el periodo de calentamiento, es conveniente señalar el nivel de líquido en el tubo, una vez se ha estabilizado la temperatura. En varias experiencias se han tenido que desechar muestras en que se vió que el tapón roscado no era totalmente hermético.

En los casos en que el sistema funciona con buena hermeticidad no puede evitarse que se produzcan pérdidas de disolvente cada vez que se abre el recipiente para tomar muestra.

Si para evitar esta pérdida de disolvente dejamos enfriar los tubos a la temperatura ambiente antes de abrirlos, introducimos unas alteraciones de temperatura que pueden afectar los resultados del proceso cinético.

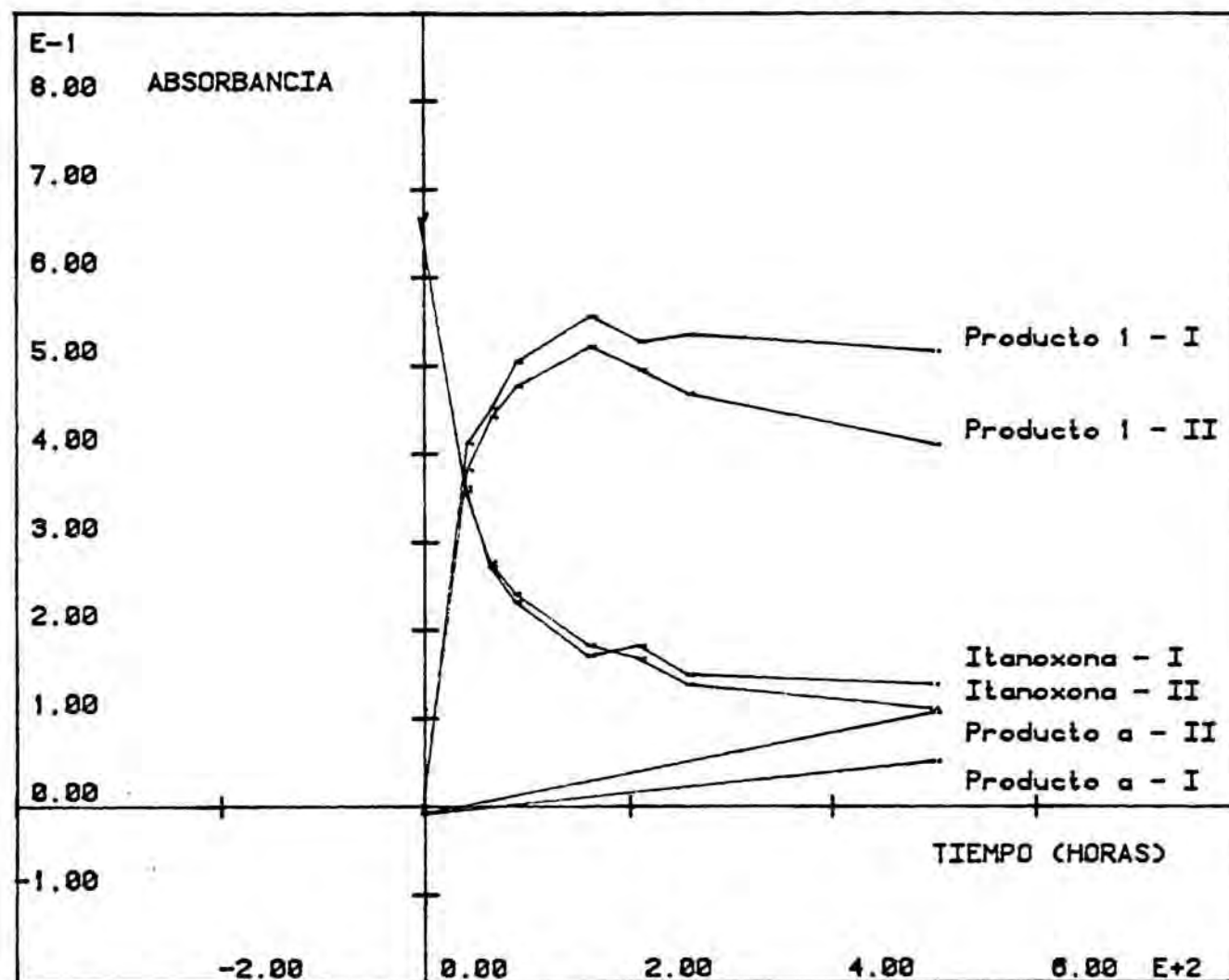
La utilización de viales, como contenedores de la solución, no ha dado mejores resultados, ya que la presión de vapor del alcohol provoca evaporaciones evidentes una vez el vial ha sido perforado para extraer muestra, varias veces.

El empleo de tubos pyrex roscados, individuales, para cada toma de muestra, que se abren una vez enfriados, en los que se realizan procesos cinéticos paralelos, ha permitido llegar a resultados aceptables, pero presenta la eventual desventaja de introducir un mayor factor de azar en los resultados que se comparan, debido a que cada proceso cinético es independiente y las condiciones térmicas locales u otros efectos incontrolados, pueden influir en forma distinta en cada uno de los tubos.

En la Tabla 47 y representación gráfica 46, se ha

FIGURA 46.

DEGRADACION DE ITANOXONA EN TUBOS PARALELOS. T=70C., Sol. etanólica.



DEGRADACIONES SIMULTANEAS DE ITANOXONA EN SOL. ETANOLICA A 70C.

TABLA 47.

TIEMPO		ABSORBANCIAS						
DIAS	HORAS	SOLUCION 1			SOLUCION 2			
		ITANX	PRD.1	PRD.a	ITANX	PRD.1	PRD.a	PRD.0
0	0	0.680,	0	0,	0.680,	0	0	0
1.86	44.58,	0.375,	0.420,	0,	0.370,	0.390,	0	0
2.86	68.60,	0.285,	0.460,	0,	0.290,	0.450,	0	0
3.86	92.60,	0.245,	0.512,	0,	0.254,	0.485,	0	0
6.86	164.60,	0.183,	0.565,	0,	0.195,	0.530,	0	0
8.90	213.60,	0.195,	0.535,	0,	0.180,	(*)	0	0
10.87	260.85,	0.161,	0.543,	0,	0.150,	0.475,	0	0
20.95	502.85,	0.150,	0.523,	0.060,	0.122,	0.418,	0.115	0.024

(*) Dato perdido.

puesto de manifiesto la desviación que puede presentar cada una de estas cinéticas paralelas. Aunque la cantidad de Itanoxona remanente sufre oscilaciones de poca importancia, se observa que su repercusión en los productos de degradación formados, puede ser de mayor entidad.

Una forma alternativa de verificar las cinéticas en medio alcohólico, con la que se han obtenido los mejores resultados, consiste en el montaje de la figura 48, que consta de una probeta graduada introducida en el baño termostatzado, unido mediante conexión esmerilada, a un refrigerante de reflujo.

Desde la parte superior del refrigerante se introduce un tubo de vidrio de pequeño diámetro, que penetra hasta el fondo de la probeta, con el fin de poder tomar muestras directamente sin desconectar el proceso de refrigeración con reflujo.

El reflujo es lento y continuado, y no puede influir sensiblemente en la temperatura de la solución, de la que se dispone de un volumen considerable.

También en este caso se producen ligeras pérdidas de disolvente, que pueden ser detectadas por la disminución del nivel de líquido en la probeta, y que deben ser corregidas añadiendo unas gotas de disolvente puro a través del tubo capilar, hasta recuperar el nivel.

Este sistema tiene la ventaja de que se puede controlar y corregir la pérdida de disolvente, y de que se evitan evaporaciones incontroladas en la toma de muestras, como consecuencia de la sobrepresión. Todo ello se consigue a partir de una única solución y por lo tanto, de un solo proceso cinético.

Se ha visto, en el estudio del método analítico,

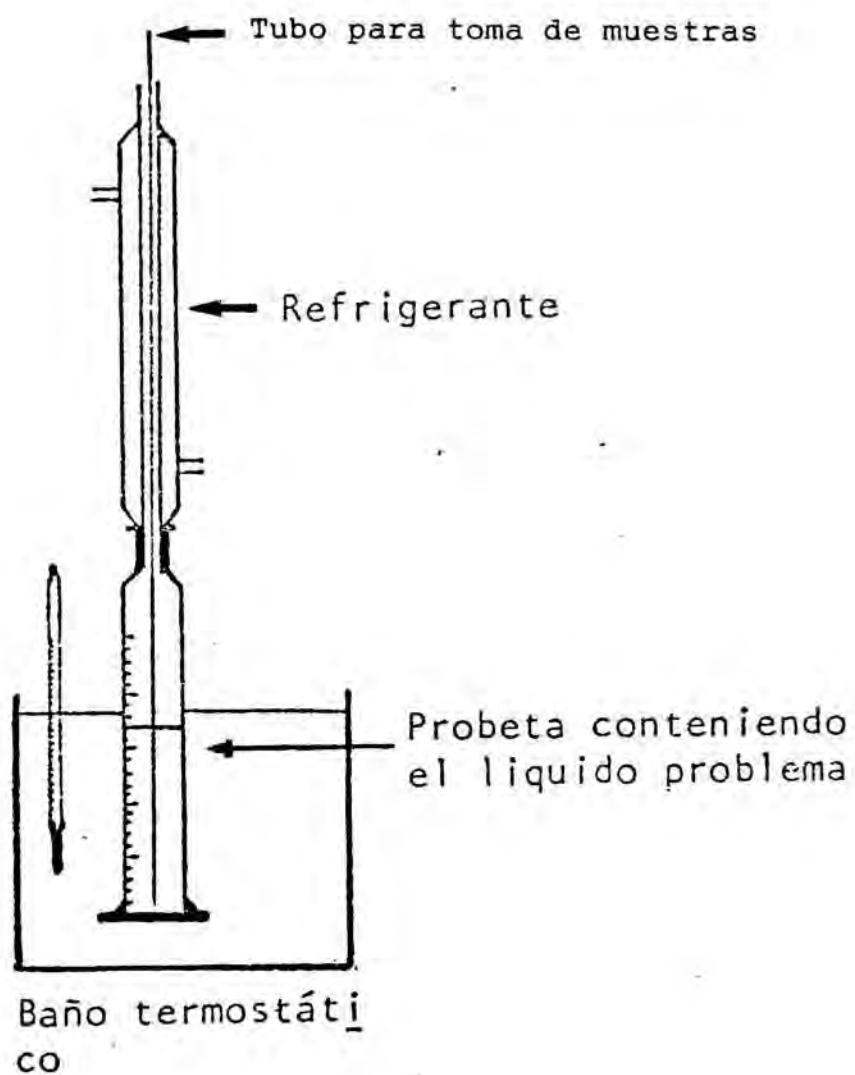


Figura 48:

Dispositivo empleado para las degradaciones en solución etanólica.

que una hora es suficiente, a la temperatura ambiente, para que las porciones de cromatofolio cedan la totalidad de la Itanoxona adsorbida.

También se han realizado estudios parecidos con los distintos productos de degradación, determinando el tiempo necesario para obtener una absorbancia estable. En este caso no es posible asegurar que la cesión sea del 100% por desconocer la cantidad y la absorbilidad de los productos formados. No obstante, dada la semejanza química entre la Itanoxona y sus productos de degradación, al constatar que la cesión es también muy rápida y del mismo orden, se cree razonable suponer que la cesión es también del 100% (ver gráfico 49).

Es también interesante verificar experimentalmente, que en el periodo de tiempo que normalmente mantenemos las disoluciones en la nevera, antes de leerlas en el espectrofotómetro (un día), no se producen alteraciones detectables en la naturaleza y proporciones de los productos de degradación. Para ello se ha utilizado una muestra envejecida de la que, por cromatografía en capa fina, se han separado los productos de degradación y a los que se ha aplicado la técnica de elución.

Las absorbancias obtenidas se comparan con las que se obtienen en posteriores determinaciones del mismo líquido guardado en la nevera.

Otra característica de dichas soluciones, que nos permite detectar posibles alteraciones, es la posición de los máximos de absorbancia.

Los resultados obtenidos, que se refieren en la tabla 50, permiten afirmar, con base experimental, que a lo largo de dos días de permanencia en la nevera son indetectables las alteraciones que puedan tener lugar. Sin embargo al cabo de cuatro días aparecen ya indicios de alteración.

ITEM NO.	X	Y
1	0	0.045
2	5	0.25
3	10	0.5
4	15	0.54
5	20	0.56
6	25	0.577
7	30	0.58
8	40	0.583
9	65	0.59
10	80	0.591
11	95	0.595
12	120	0.6

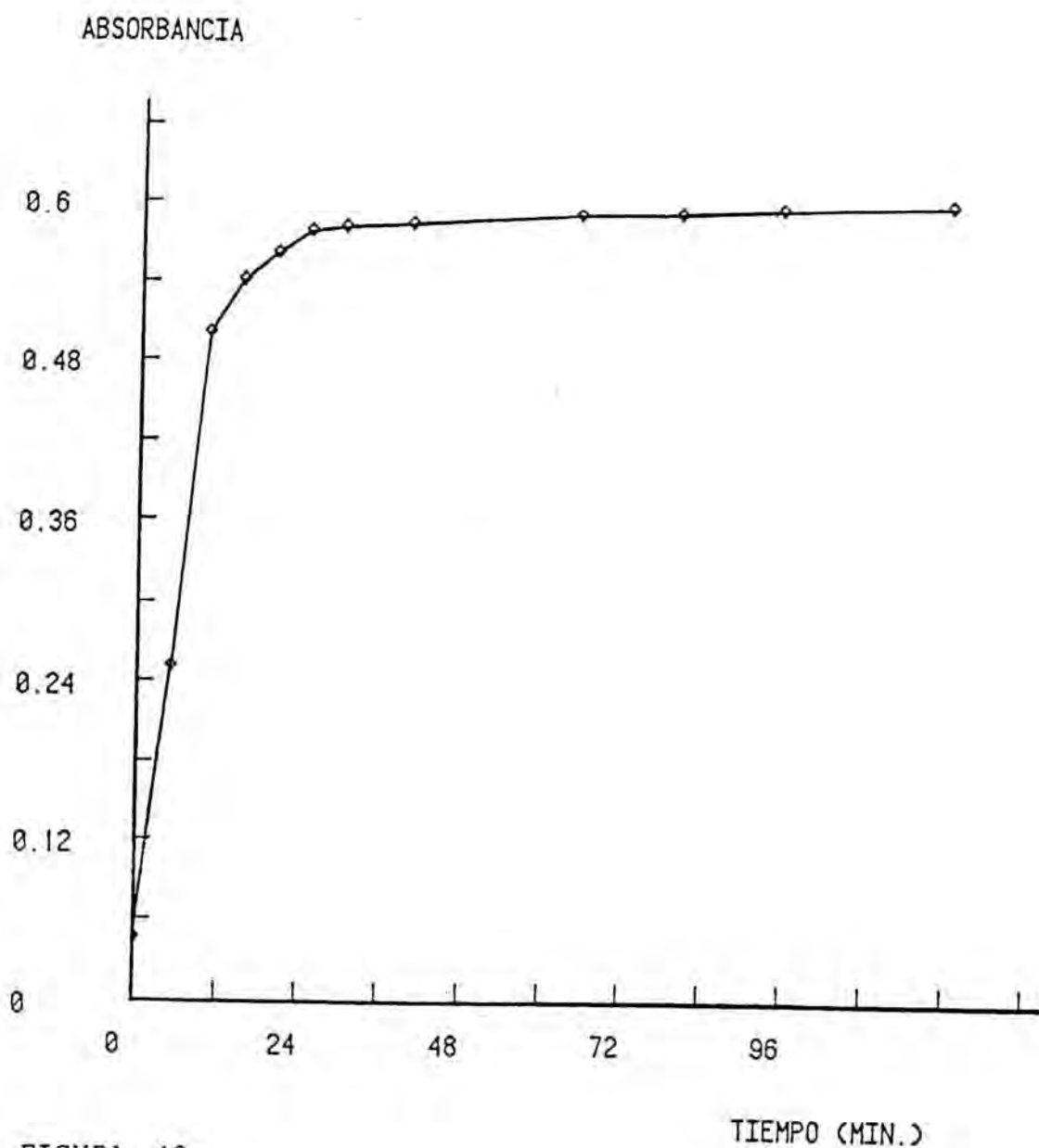


FIGURA 49.

TIEMPO	ABSORBANCIAS			
	a	1	Itanoxona	3
0.0	0.05(270)	0.805(282)	0.250(265)	0.210(265)
24.0	0.05(270)	0.805(282)	0.250(265)	0.210(265)
48.0	0.05(270)	0.805(282)	0.250(265)	0.210(265)
144.0	0.05(270)	0.805(282)	0.240(268)	0.215(265)

Tabla 50:

Estudio realizado en la nevera para determinar los días de permanencia, de Itanoxona en etanol, sin que aparezcan alteraciones.

Las cifras de la tabla que se encuentran dentro del paréntesis es la longitud de onda del máximo de absorción en nm .

5.1.3.1. Resultados.

A lo largo de las experiencias realizadas se establece una secuencia de productos, en los cromatogramas de las muestras degradadas, que se sigue en todos los procesos de degradación en solución etanólica. Las distintas temperaturas solo aceleran el proceso. En la figura 51 podemos ver como evolucionan los cromatogramas de los productos de degradación con el tiempo.

Los nombres convencionales y sus espectros se han indicado en la figura 39.

Los resultados experimentales obtenidos se muestran en las tablas 52 a 75, con sus respectivas representaciones gráficas (figuras 53 a 76), citando en ellas las condiciones en que han sido realizadas las degradaciones.

Regularidades observadas.

Las cinéticas de degradación de la Itanoxona no se corresponden con un modelo simple de orden cero o uno, más bien se pueden interpretar como una superposición de dos procesos cinéticos de orden uno, uno rápido y otro lento, que afecta a dos porciones de la Itanoxona inicial. Tal como podemos ver en el ejemplo representado en la figura 77 que corresponde a la tabla 52.

El producto 1 presenta una curva cinética característica, que es propia de los productos intermedios, alcanzándose un máximo, en su concentración, que se obtiene, para cada temperatura, a un tiempo aproximadamente constante. En muestras envejecidas, su concentración es prácticamente inexistente. Cuando alcanza la concentración máxima, la proporción entre la Itanoxona y el producto 1 se mantiene constante

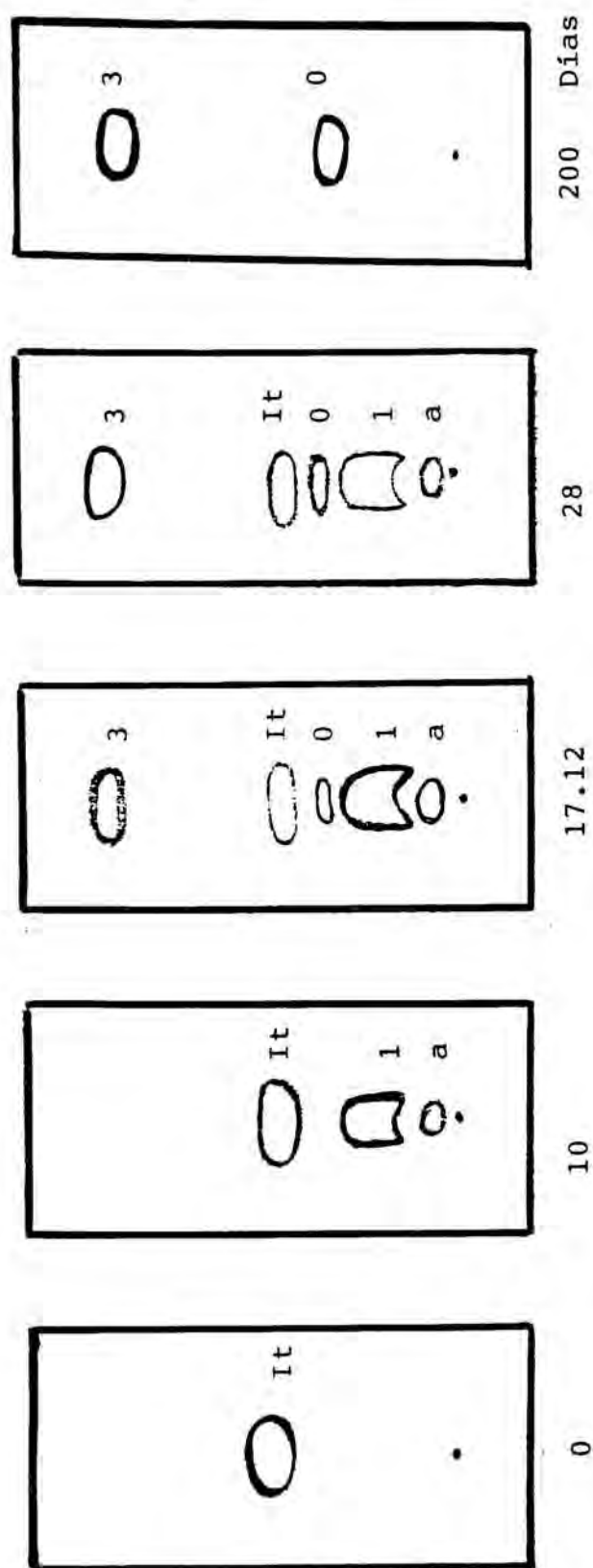


Fig.:51.

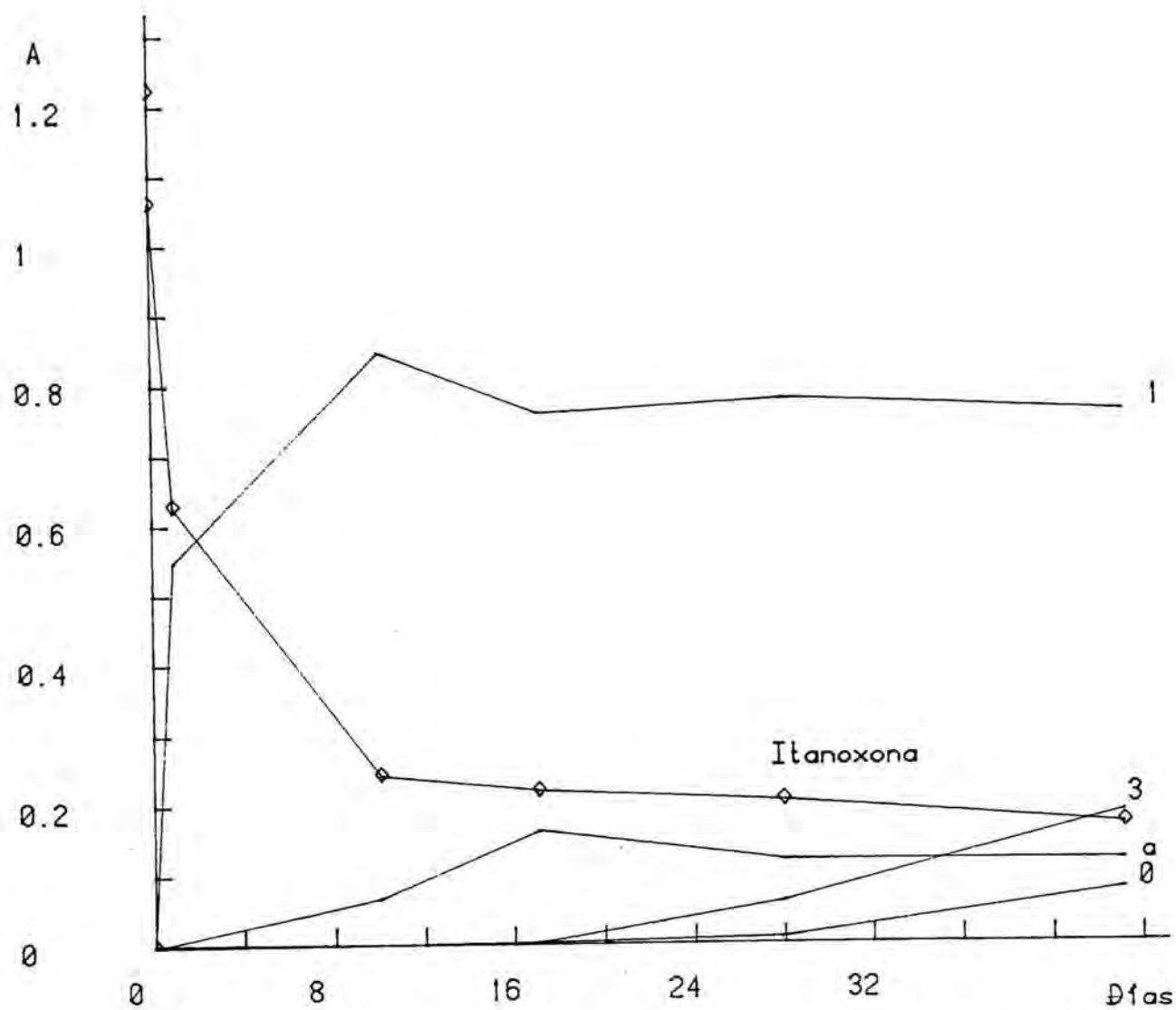
Degradación en solución etanólica 70% C, cuyo proceso se puede visualizar gracias a los cromatogramas de muestras tomadas al inicio del proceso, 10, 17.12, 28 y 200 días.

(It : Itanoxona)

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	1.060		0.000		
0.98- 23.50	0.627		0.550		
10.09- 242.25	0.242	0.070	0.847		
17.12- 411.00	0.220	0.165	0.760	0.010	0.010
28.00- 675.15	0.205	0.121	0.780	0.011	0.063
43.17-1036.08	0.170	0.120	0.760	0.080	0.190

Tabla 52:

Degradación de Itanoxona en solución
etanólica a 70°C. (nº 1).



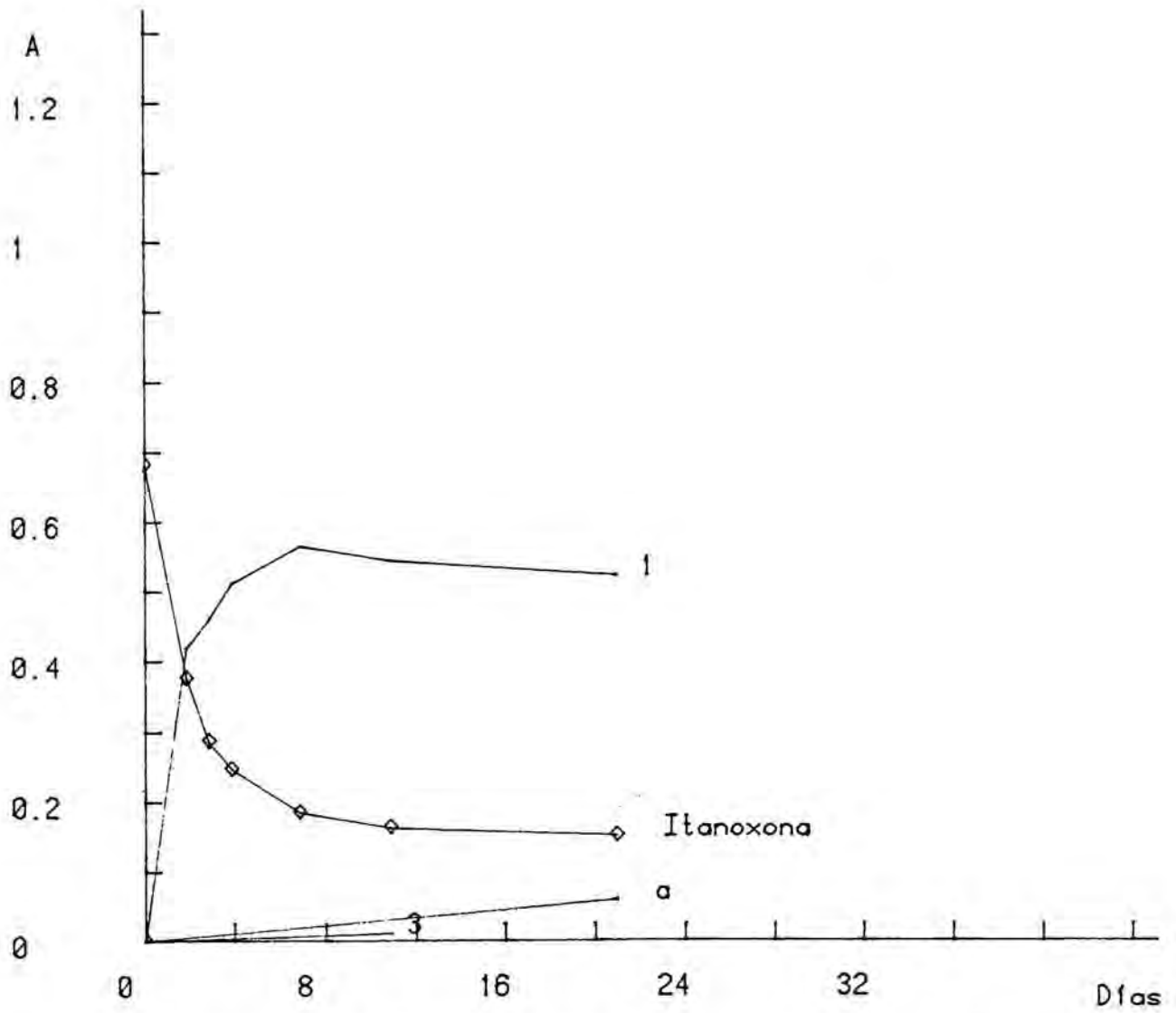
DEGRADACION DE ITANOXONA SOLUCION ETANOLICA A 70C., Núm. 1

FIGURA 53.

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	0.680		0.000		
1.86- 44.58	0.375		0.420		
2.86- 68.60	0.285		0.460		
3.86- 92.60	0.245		0.512		
6.86-164.60	0.183		0.565		
8.90-213.60	0.195		0.535		
10.87-260.80	0.161		0.543		0.011
20.95-502.85	0.150	0.060	0.523		0.020

TABLA 54:

Degradación de Itanoxona en solución etanólica
a 70°C. (nº 2)



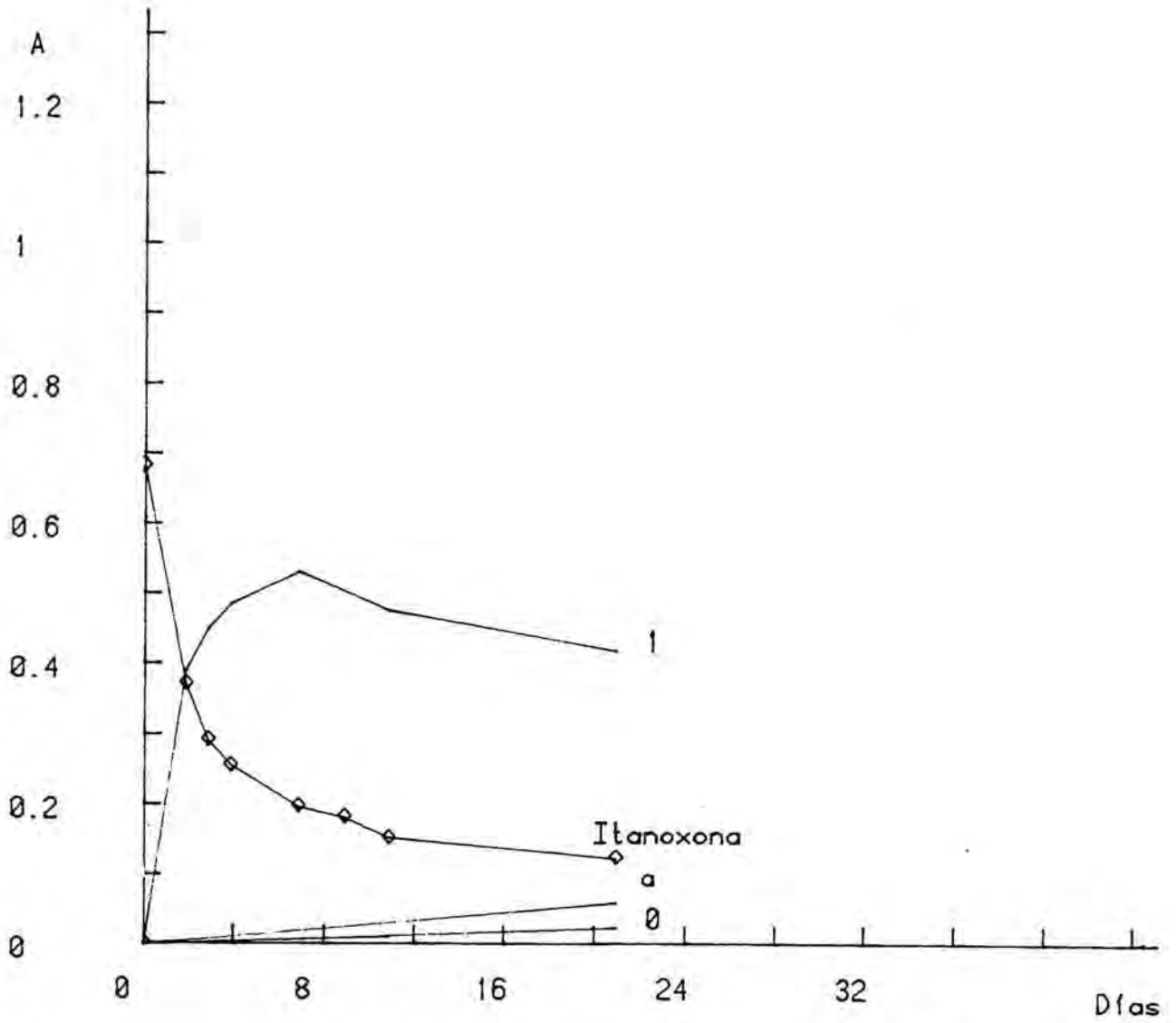
DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOLUCION ETANOLICA A 70C., Núm. 2

FIGURA 55.

TIEMPO		ABSORBANCIAS			
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	0.680		0.000		
1.86- 44.58	0.370		0.390		
2.86- 68.60	0.290		0.450		
3.86- 92.60	0.254		0.480		
6.86-164.60	0.195		0.530		
8.90-213.60	0.180		0.510		
10.87-260.85	0.150		0.475		0.011
20.95-502.85	0.122	0.115	0.418	0.024	0.020

TABLA 56:

Degradación de Itanoxona en solución etanólica
a 70°C. (nº 3)



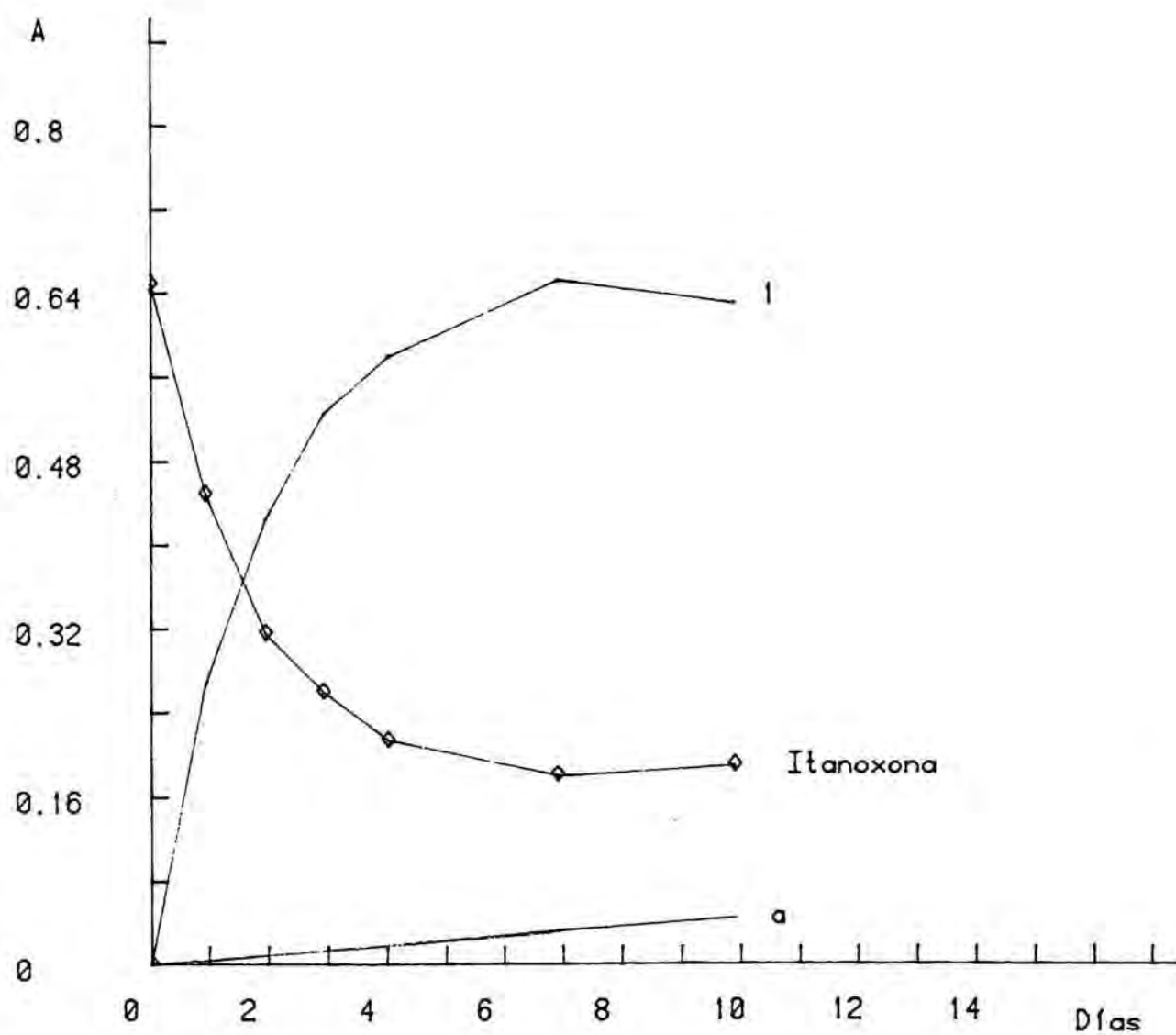
DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOLUCION ETANOLICA A 70C., Núm. 3

FIGURA 57.

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	0.648		0.000		
0.94 - 22.50	0.448		0.268		
1.95 - 46.70	0.315		0.425		
2.93 - 70.45	0.259		0.525		
4.02 - 96.45	0.213		0.580		
6.90 - 165.65	0.180	0.033	0.652		
9.90 - 237.75	0.190	0.045	0.630		0.01

TABLA 58:

Degradación de Itanoxona en solución
etanólica a 70°C. (nº 4)



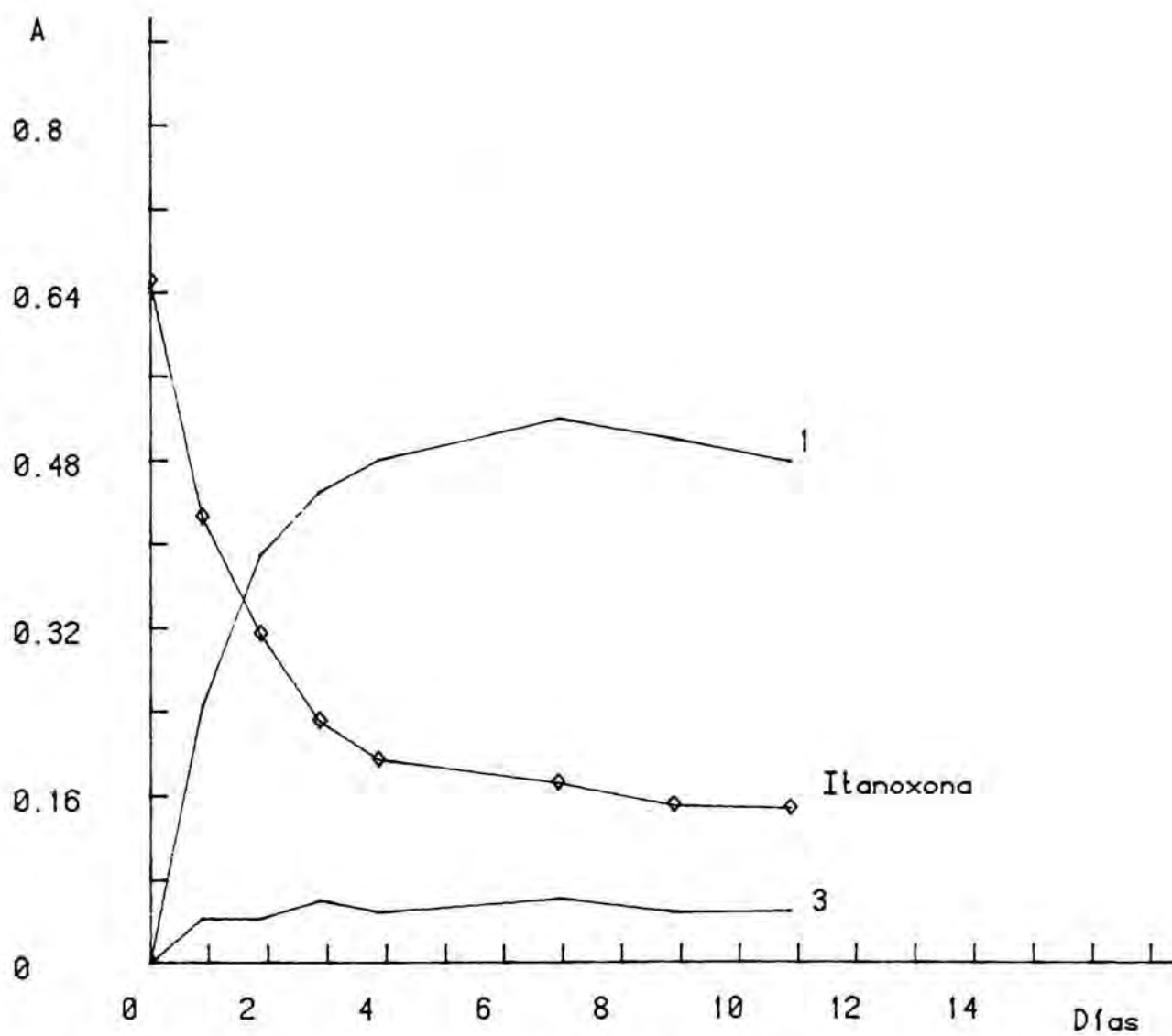
DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOLUCION ETANOLICA A 70C., Núm. 4

FIGURA 59.

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		2	1	0	3
0	0.650		0.000		0.000
0.9 - 21.3	0.425		0.245		0.043
1.9 - 44.9	0.313		0.390		0.042
2.9 - 68.9	0.230		0.450		0.060
3.9 - 92.9	0.193		0.481		0.490
6.9 - 165.9	0.171		0.520		0.062
8.9 - 213.0	0.150		0.500		0.048
10.9 - 261.0	0.147		0.478		0.050
20.0 - 480.0	0.097		0.370	0.017	0.070

TABLA 60:

Degradación de Itanoxona en solución
etanólica a 70°C. (nº 5).



DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOLUCION ETANOLICA A 70C., Núm. 5

FIGURA 61.

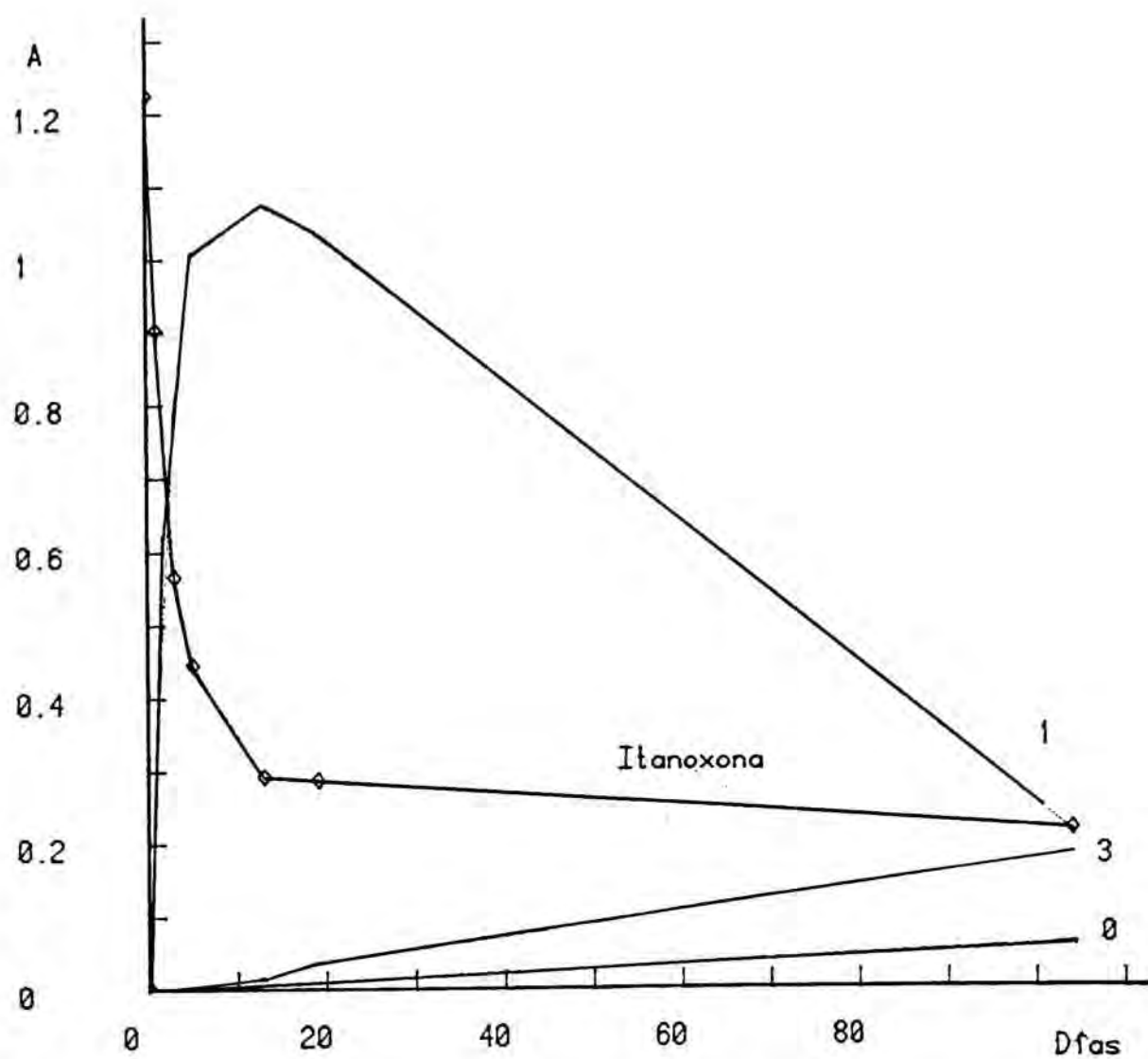
TEMPERATURA 70°C		60°C		
TIEMPO	ABSORBANCIAS		ABSORBANCIAS	
HORAS	ITANOXONA REMANENTE	1	1	ITANOXONA REMANENTE
0	0.850	0.000	0.000	0.850
3			0.071	0.833
4.15	0.797	0.120	0.092	0.811
6.05	0.725	0.130	0.115	0.778
25.60	0.449	0.451	0.312	0.613

TABLA 62: Estudio comparativo, en las primeras fases del proceso de degradación, en solución etanólica.

TIEMPO		ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS		ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
			a	1	0	3
0		1.222		0.000		
1.0-	24.0	0.900		0.344		
3.0-	72.5	0.563		0.787		
5.1-	122.0	0.442		1.005		
9.1-	218.0	0.400		1.050		0.014
13.1-	315.0	0.290		1.075		0.016
19.1-	459.0	0.285		1.035		0.037
104.0-	2496.0	0.216		0.214	0.062	0.186

TABLA 63:

Degradación de Itanoxona en solución
etanólica a 60°C. (nº 1).



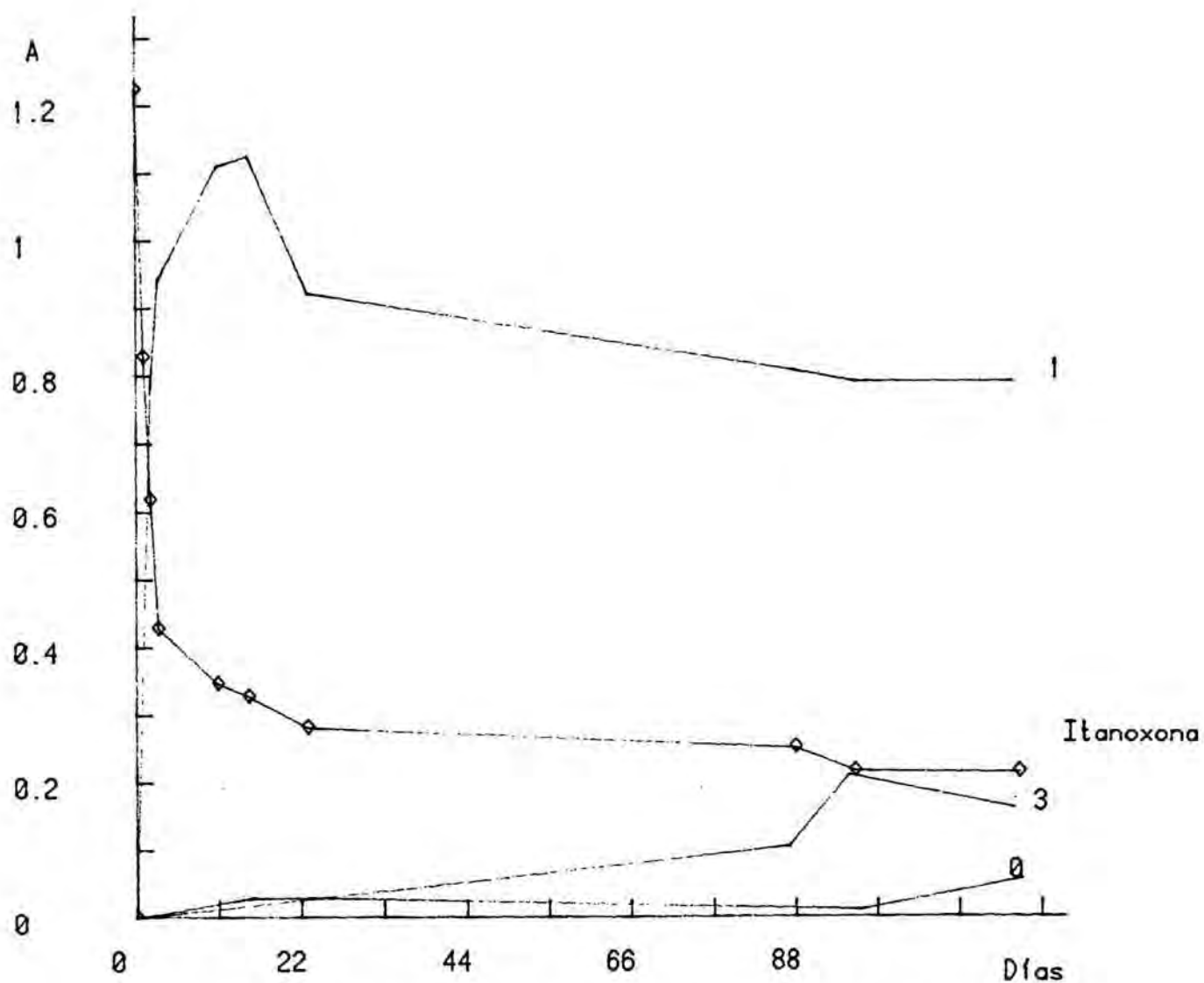
DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOLUCION ETANOLICA A 60C., Núm. 1.

FIGURA 64.

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	0.827				
0.96- 23.00	0.615		0.784		
1.96- 47.00	0.426		0.942		
9.91- 237.75	0.345		1.110		
13.95- 358.75	0.326		1.125	0.030	
21.88- 525.25	0.280		0.922	0.030	
87.00-2088.00	0.250		0.807	0.030	0.105
95.00-2280.00	0.215		0.790	0.025	0.210
117.00-2808.00	0.213		0.790	0,057	0.170

TABLA 65:

Degradación de Itanoxona en solución
etanólica a 60°C. (nº 2)



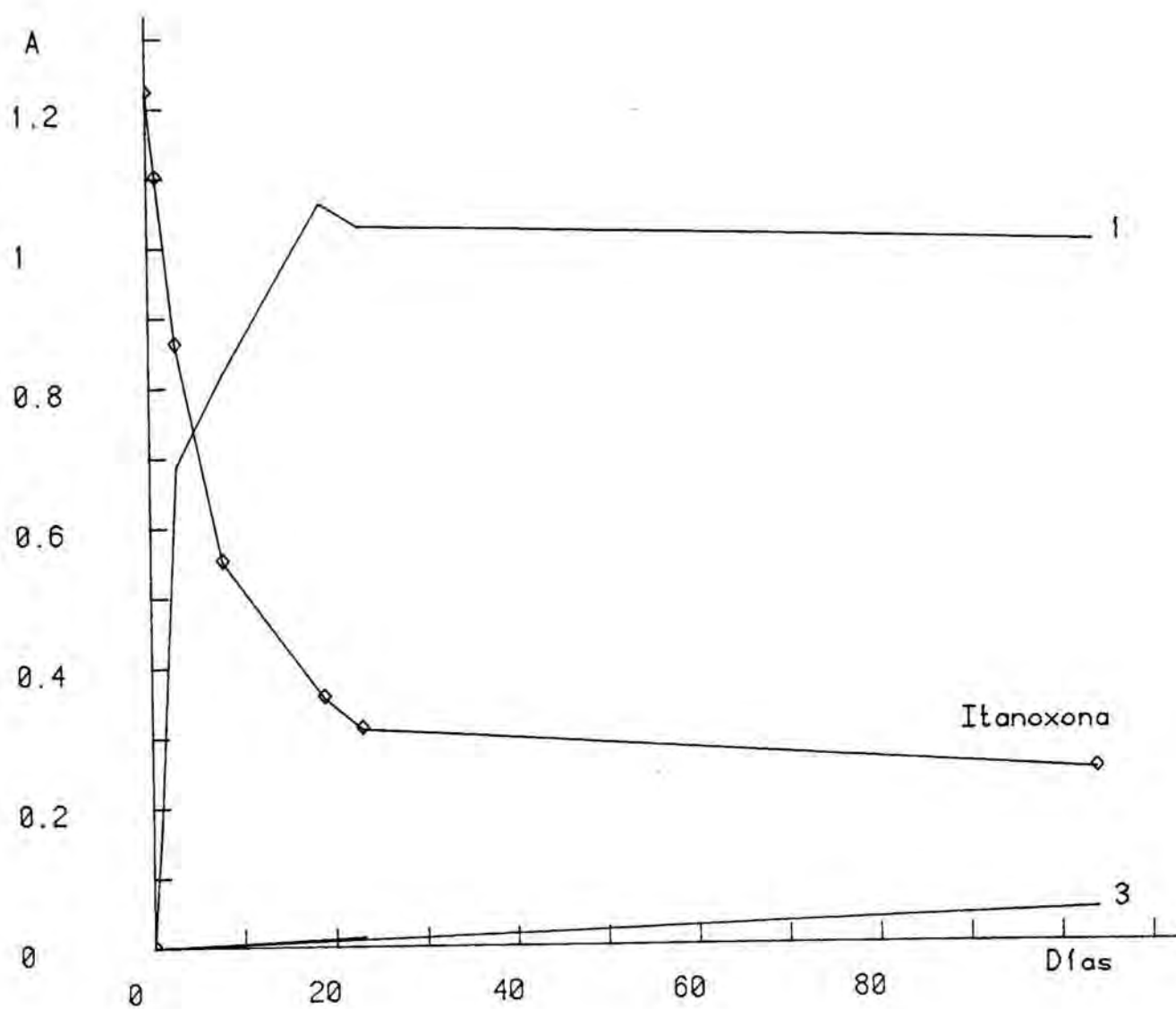
DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOLUCION ETANOLICA A 60°C., Núm. 2.

FIGURA 66.

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	1.222		0.000		
1.0 - 24.0	1.100		0.175		
3.0 - 72.0	0.860		0.689		
8.0 - 192.0	0.550		0.815		
19.0 - 458.0	0.355		1.062		
23.2 - 555.0	0.310		1.029		0.013
104.0 -2496.0	0.245		1.000		0.047

TABLA 67:

Degradación de Itanoxona en solución
etanólica a 50°C. (nº 1).



DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOL. ETANOLICA A 50C., Núm. 1

FIGURA 68.

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	0.760				
0.12 - 2.83	0.707		0.042		
0.93 - 22.25	0.645		0.142		
1.12 - 26.83	0.605		0.220		
1.93 - 49.66	0.592		0.315		0.072
20.00 - 530.66	0.170		0.645		0.120

TABLA 69:

Degradación de Itanoxona en solución
etanólica a 50°C. (nº 2).

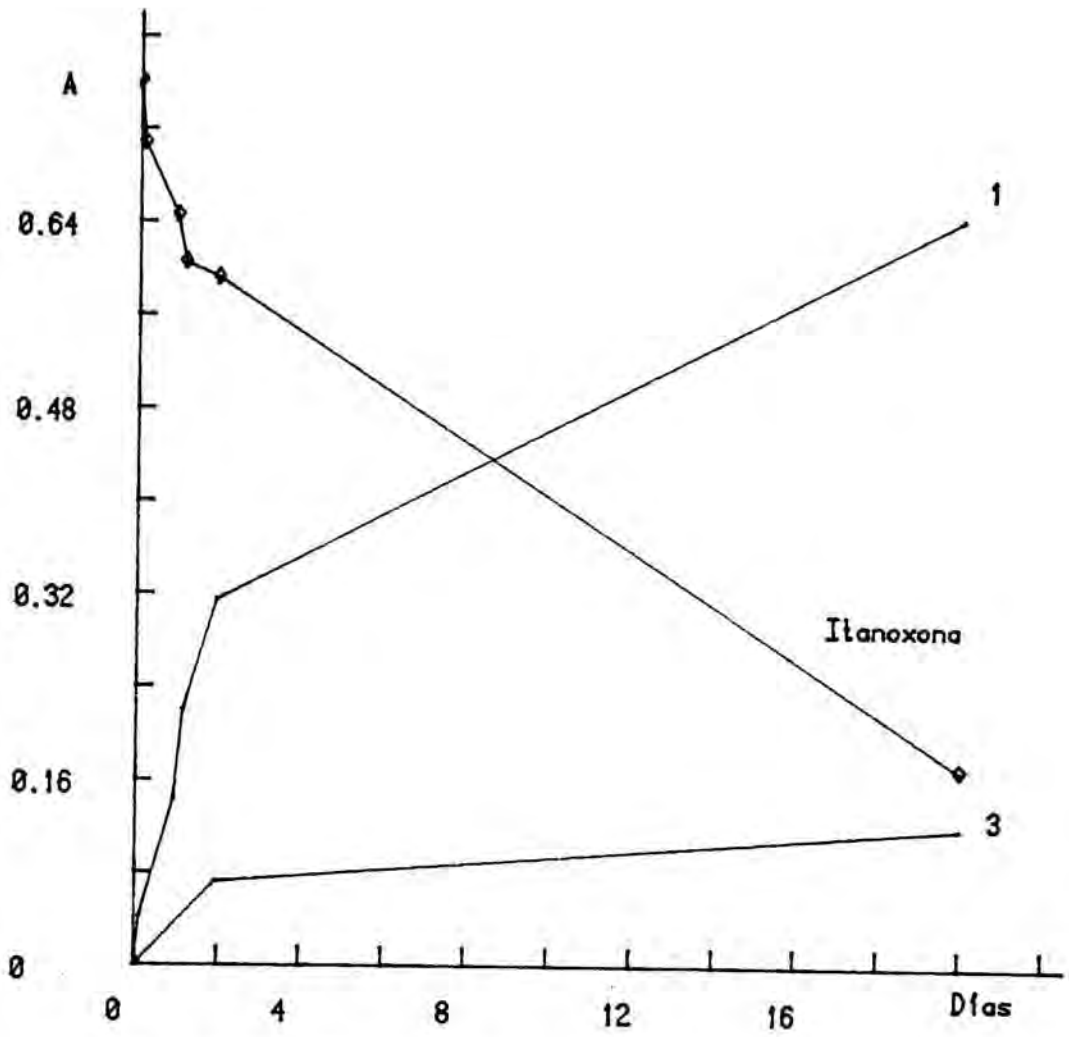


FIGURA 70: DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOL. ETANOLICA A 50C., Número 2.

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	0.651				
0.96 - 23.16	0.575		0.113		
1.12 - 27.00	0.553		0.132		
1.95 - 46.75	0.503		0.199		
2.10 - 50.50	0.500		0.226		
6.14 - 147.33	0.383		0.400		
9.08 - 217.92	0.263		0.460		
15.95 - 382.92	0.171		0.520		

TABLA 71:

Degradación de Itanoxona en solución
etanólica a 50°C (nº 3).

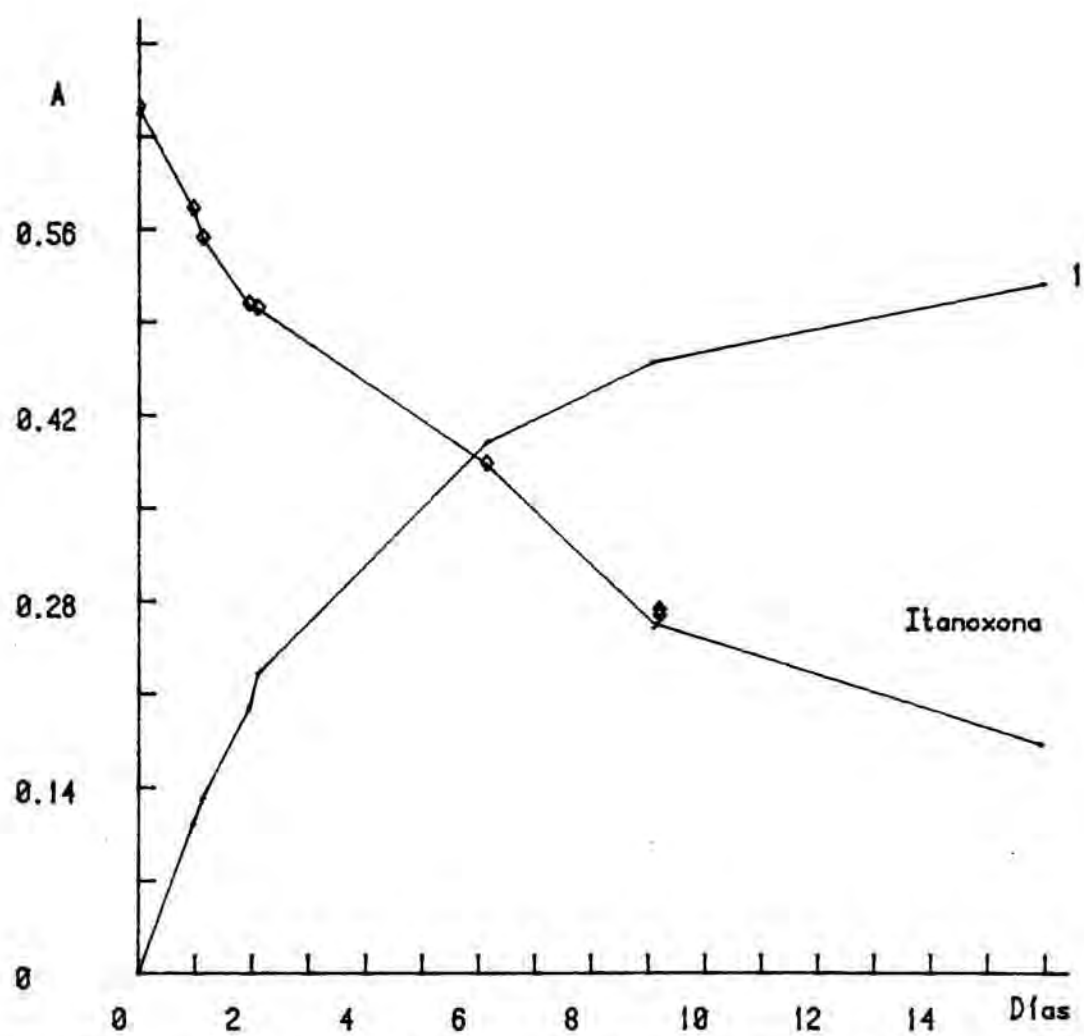


FIGURA 72: DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOL. ETANOLICA A 50°C., Núm. 3.

TIEMPO		ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS		ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
			a	1	0	3
0		0.735		0.000		
0.16	- 3.9	0.718		0.037		
0.26	- 6.2	0.710		0.052		
0.35	- 8.5	0.707		0.059		
1.00	- 24.0	0.673		0.140		
1.08	- 26.0	0.670		0.150		
1.16	- 28.9	0.670		0.160		

TABLA 73:

Degradación de Itanoxona en solución
etanólica a 50°C. (nº 4).

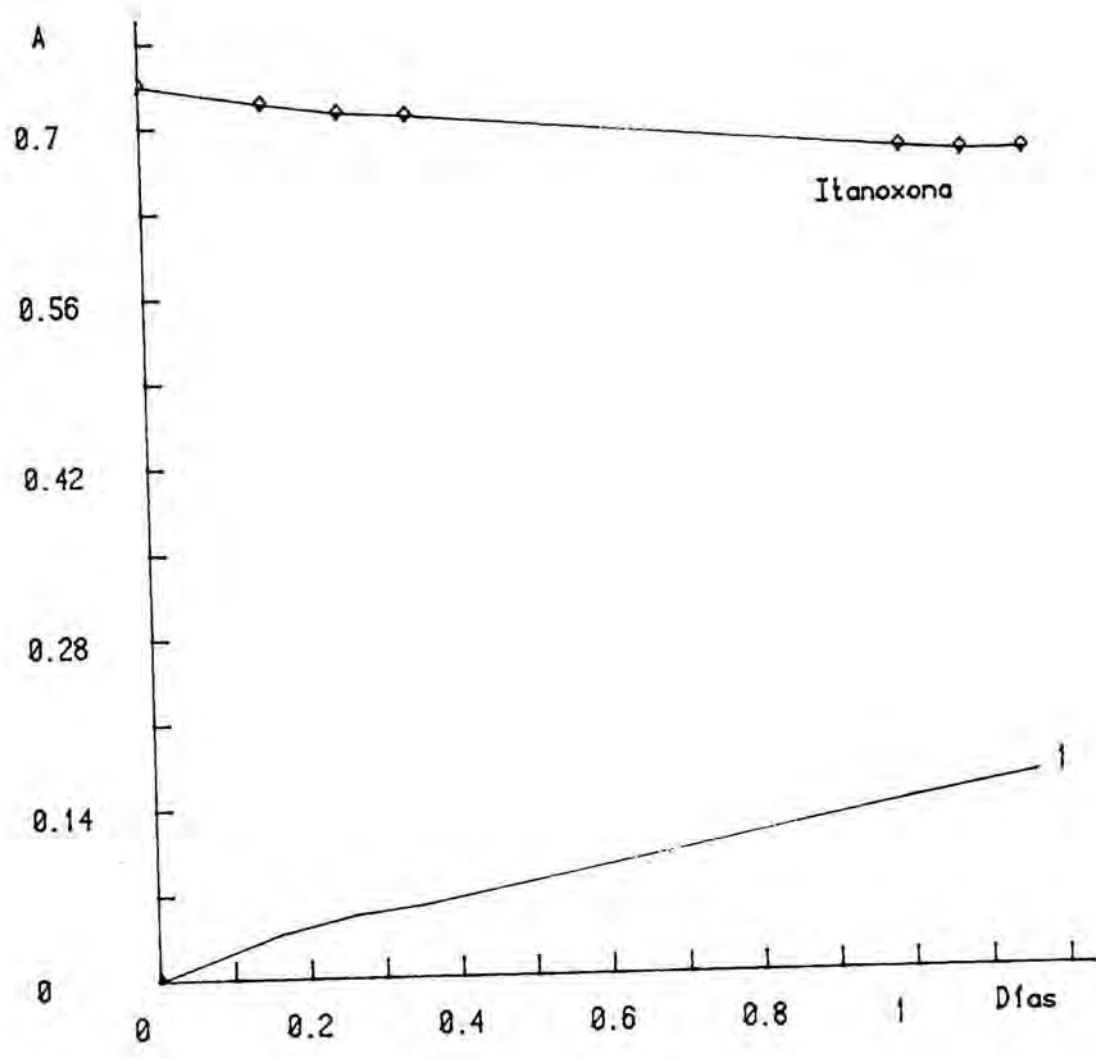


FIGURA 74: DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOLUCION ETANOLICA A 50C.(N.4)

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	1.222		0.000		
1.08- 26.0	1.259		0.071		
5.08- 122.0	1.200		0.260		
105.00-2544.0	0.312		1.070		
126.00-3024.0	0.300		1.150		0.000

TABLA 75:

Degradación de Itanoxona en solución etanólica a 35°C. (nº1).

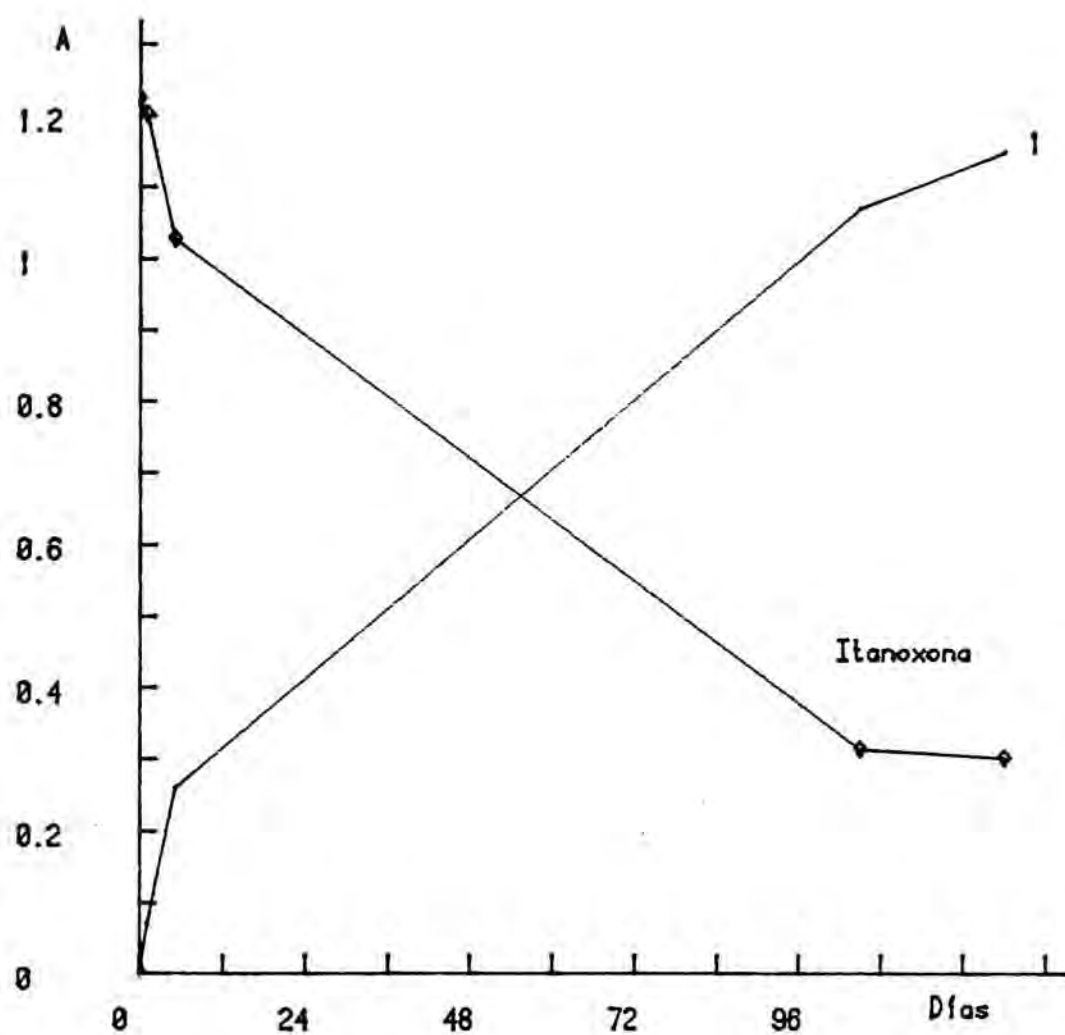


FIGURA 76c: DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOL. ETANOLICA A 35C. Núm. 1.

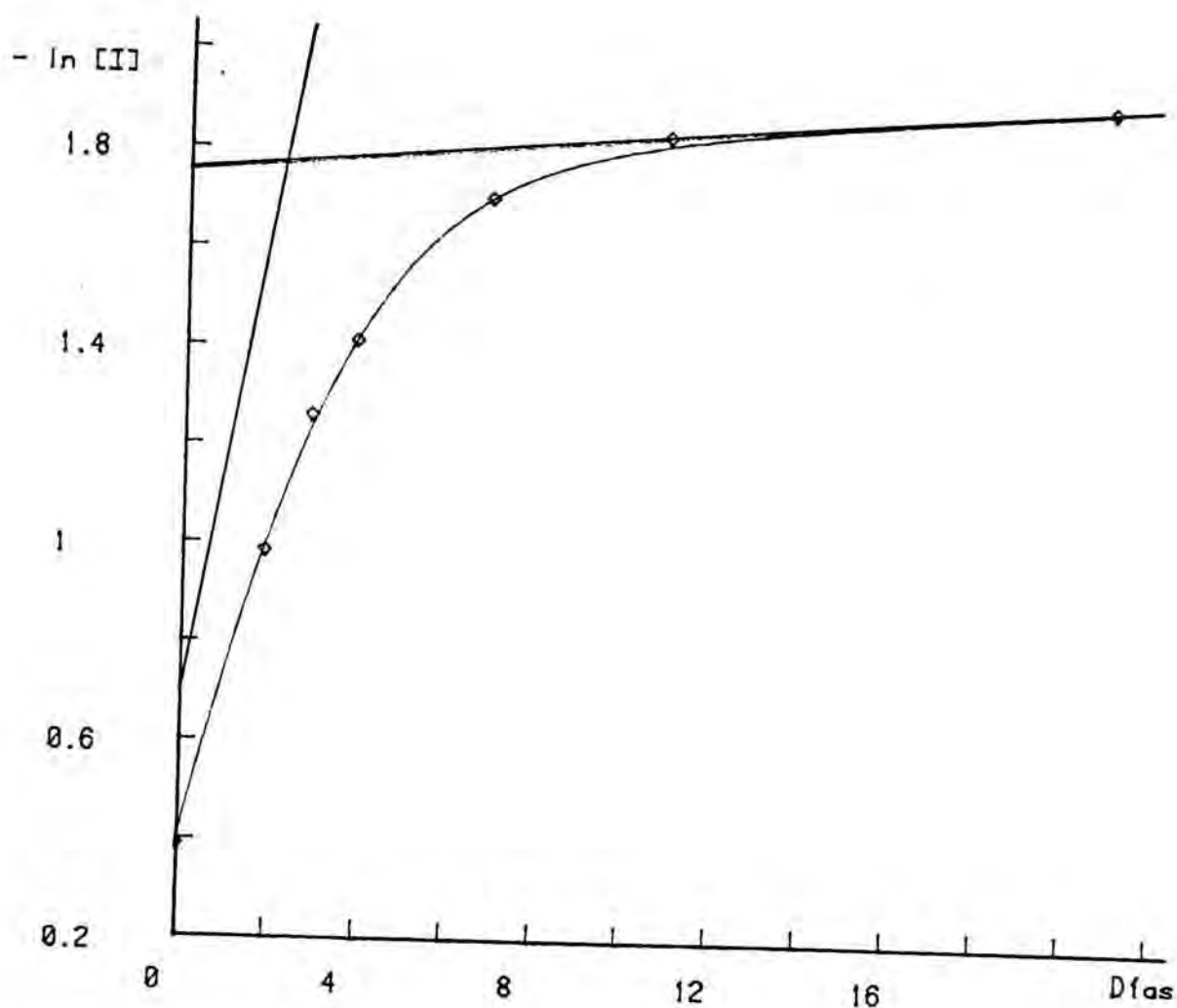
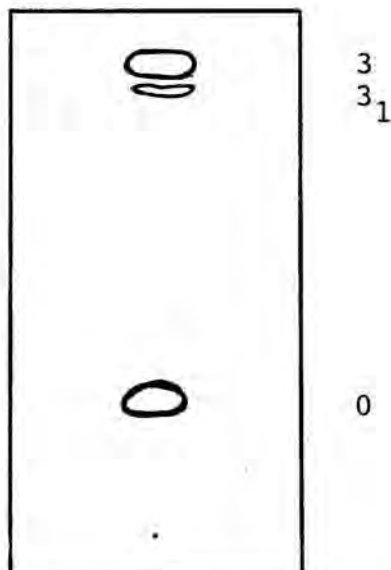


FIGURA 77: Degradación de Itanoxona en solución etanólica a 70°C (Núm.: 1). Representación de los dos procesos cinéticos de orden uno que se superponen para dar el proceso global.

para cada temperatura. Si se representan las concentraciones de Itanoxona frente al producto 1 se presentan curvas características en las que se visualiza la proporción característica para el máximo del producto 1 (Fig. 78).

El producto 0 aparece en las fases avanzadas de la degradación, solo se consiguen cantidades apreciables en soluciones muy envejecidas en las que ya no se aprecian indicios del producto original o del producto intermedio 1, así por ejemplo en una muestra envejecida de dos años a 70°C solo se aprecian los productos 0 y 3.



Se considera por todo ello uno de los productos finales de la degradación en medio etanólico.

El producto 3 es otro de los productos finales que presenta un crecimiento casi lineal a temperaturas elevadas y sigmoidal a temperaturas más bajas (Figuras 79 y 80).

Cuando la degradación está muy avanzada es posible apreciar su desdoblamiento en dos productos de Rf casi igual, que pueden diferenciarse por su máximo de absorción a la luz ultravioleta (271 nm y 245 nm). Siempre el predominante es el de 271 nm, lo que

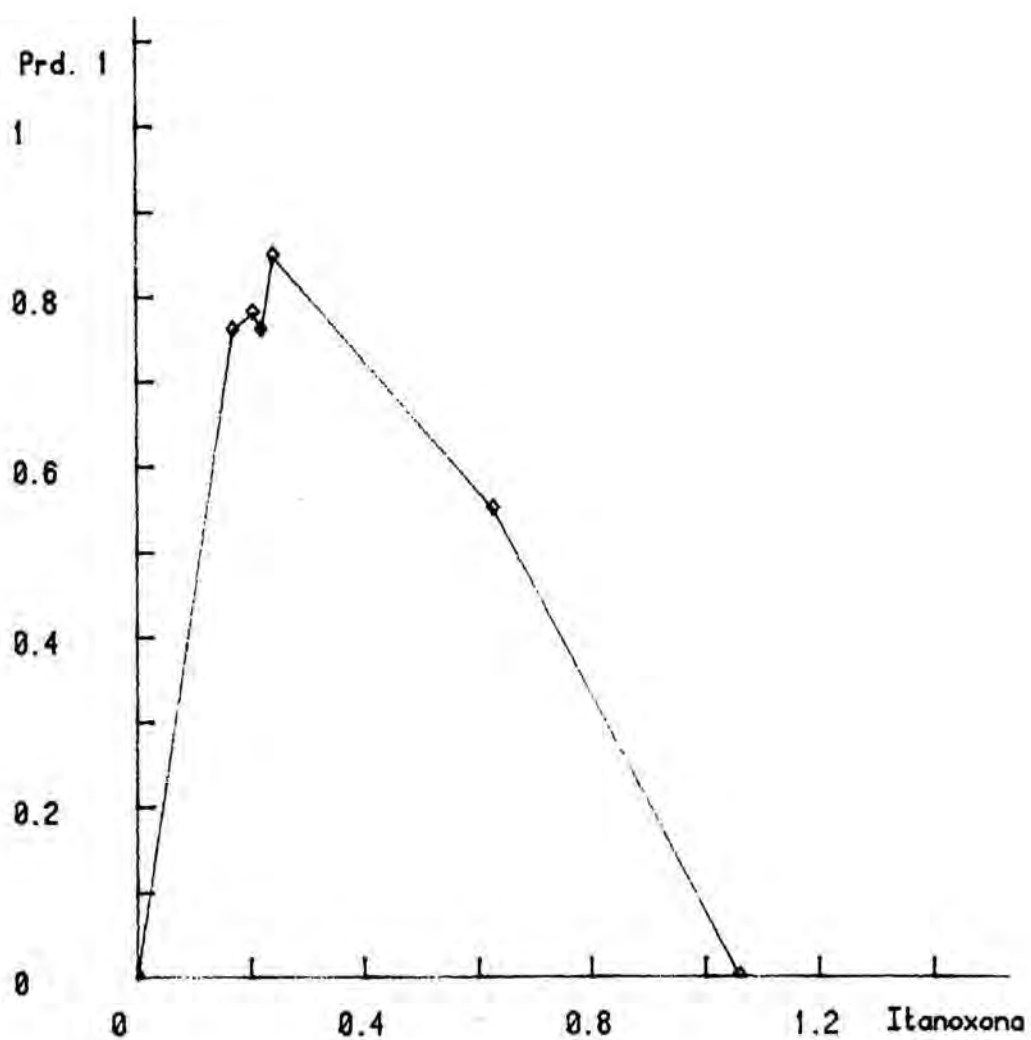


FIGURA 78: Representación de las absorbancias del Producto 1 frente a las de Itanoxona.

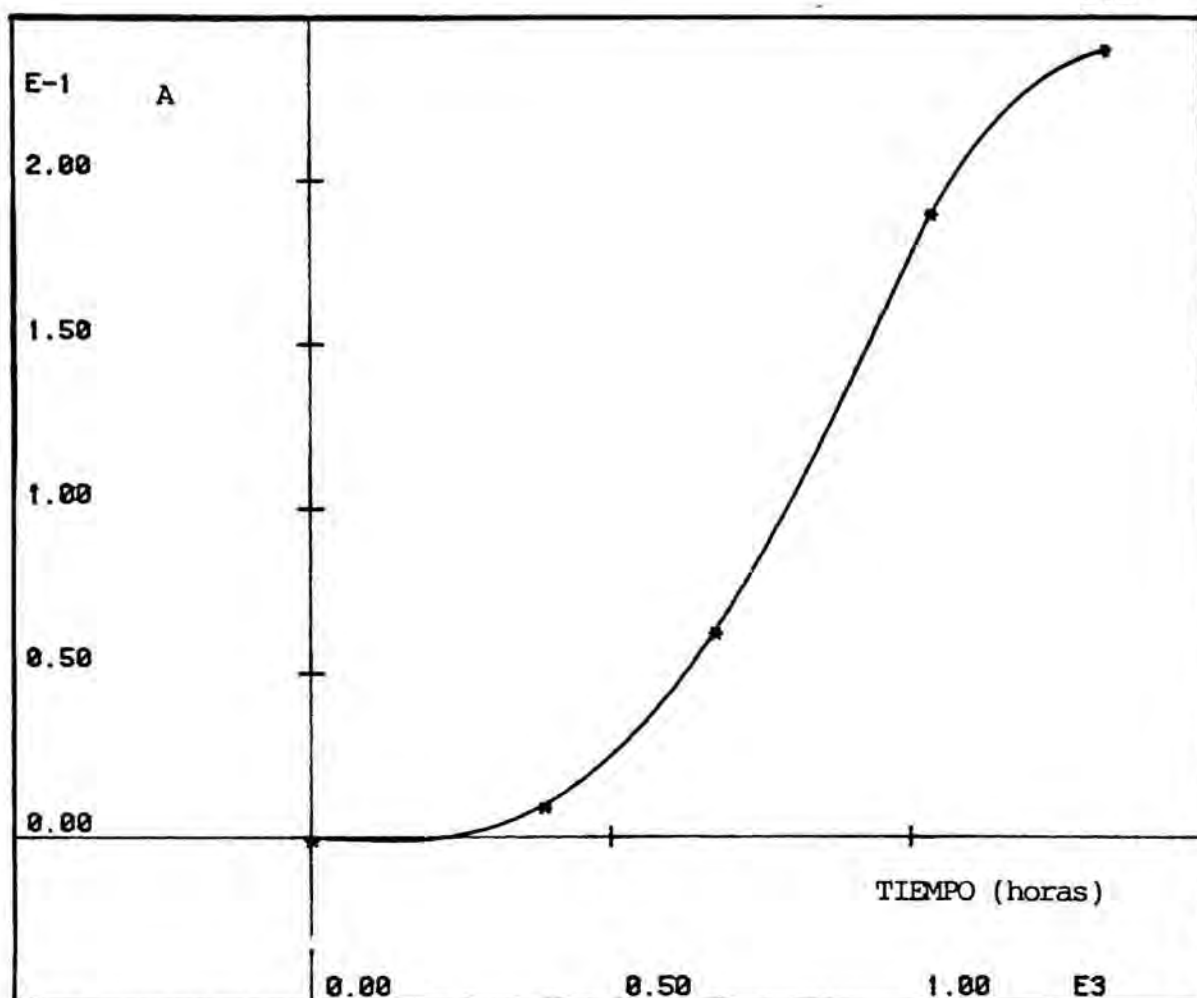


FIGURA 79: Degradación de Itanoxona a 50°C. Representación de las absorbancias del producto 3 frente al tiempo.

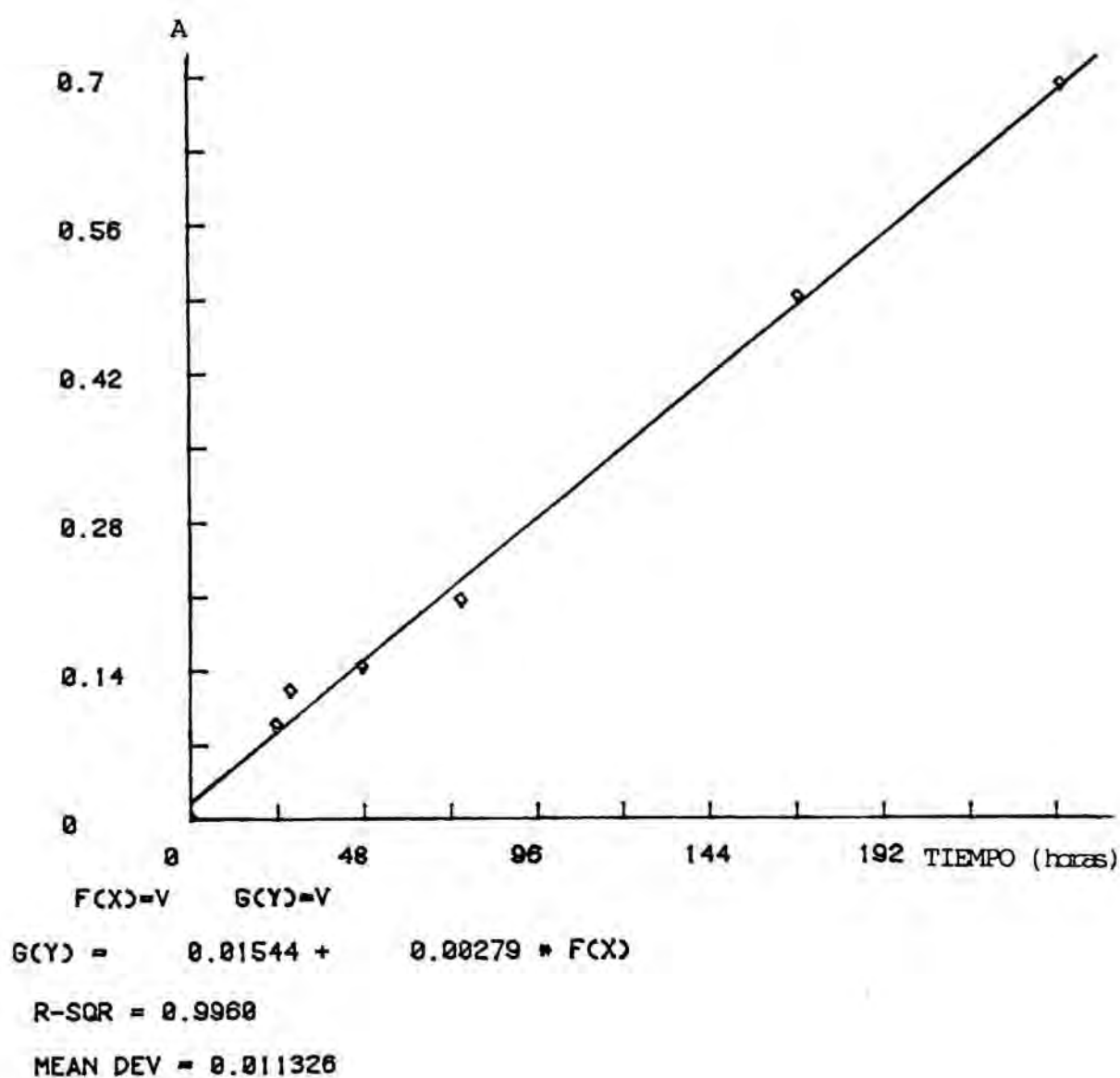


FIGURA 80: Degradación de Itanoxona a 70°C. Representación de las absorbancias del producto 3 frente al tiempo.

explica cierta variabilidad del máximo hacia 265 nm cuando aparecen superpuestos.

Producto a: este producto tiene, en las cinéticas en solución, una presencia caracterizada por absorancias poco intensas que siguen un proceso de crecimiento y decrecimiento propio de los productos intermedios. En muestras envejecidas no se detecta su presencia. (Tal como se observa en el ejemplo anteriormente citado).

A temperaturas muy bajas (4-5°C) la única descomposición detectada al cabo de 4 años es la formación de producto 1 y una muy pequeña formación de producto a.

Una regularidad digna de mención es que la proporción entre el producto 1 y la Itanoxona es la misma ($1/It=3.31$) en muestras diferentes que llevan 2 y 4 años a esta temperatura corroborando con ello que existe un equilibrio entre ambos isómeros.

A temperaturas de -18°C no se ha constatado alteración alguna a lo largo de 2 meses.

En las primeras fases de estas degradaciones el principal proceso que tiene lugar es la formación de producto 1, a partir de la Itanoxona. Proceso que se ha constatado, por medio de la cromatografía bidimensional, que se trata de una isomerización. Aunque la absorbabilidad del producto 1 es desconocida, se puede tener una idea aproximada de su valor al comparar la disminución de absorbancia en la Itanoxona con la absorbancia propia del producto 1 en las primeras fases del proceso. Viéndose claramente que que su absorbilidad es mayor que la Itanoxona.

Un estudio más riguroso basado en el tratamiento cinético de los datos, que se describirá en capítulos posteriores, va a permitir dar con mayor precisión esta absorbilidad, estimando su valor en 1.45 veces el de la Itanoxona.

Se ha intentado establecer algunas ecuaciones matemáticas, de tipo exponencial, que se ajusten a los resultados obtenidos, habiéndose encontrado una buena concordancia para una ecuación del tipo:

$$\text{ITANOXONA} = C_1 e^{R_1 t} + C_2 e^{R_2 t}$$

en la que $C_1 + C_2$ debe corresponder a la Itanoxona inicial y R_1 y R_2 son las velocidades de los procesos cinéticos de primer orden a que se ha hecho referencia anteriormente. Para ajustar esta ecuación se han aplicado los siguientes criterios:

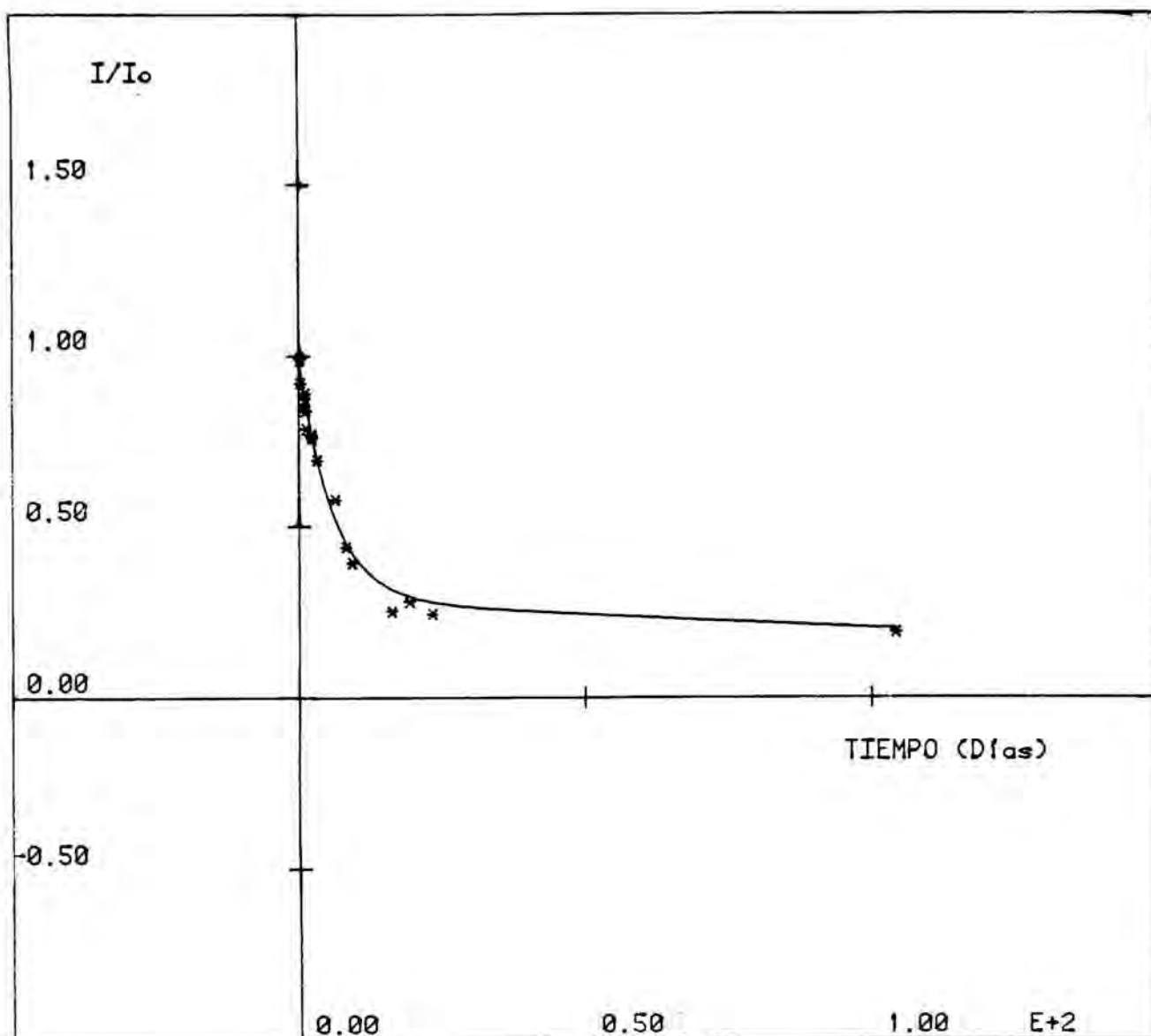
Primero: Calcular la constante R_2 propia del proceso lento, mediante regresión lineal aplicada a los puntos finales del proceso en las que la fase rápida de la degradación está ya prácticamente terminada.

Segundo: Se resta a las absorbancias experimentales las que corresponde a la degradación lenta en cada uno de los puntos experimentales que afectan a la primera parte de la degradación.

Tercero: Con los valores de absorbancia obtenidos en el tratamiento anterior, se calcula mediante regresión lineal, la constante R_1 , propia de la degradación rápida.

Las ecuaciones obtenidas aplicando esta metódica, presentan un ajuste global muy aceptable, y en ellas se aprecia, como regularidad sobresaliente, que la relación C_1/C_2 , es prácticamente constante a todas las temperaturas, y su valor es aproximadamente 3.

Se dan a continuación los resultados de aplicar estos ajustes a los procesos cinéticos, realizados a 50, 60 y 70°C, y la representación de concentraciones relativas de Itanoxona respecto a la concentración inicial (I/I_0), frente al tiempo en días, tal como se obtiene después del ajuste indicado (Figuras 81, 82 y 83).



, FIGURA 81: Degradaciones en solución etanólica a 50°C. Representación del cociente de las absorbancias de Itanoxona por la absorbancia inicial (I/I_0), frente al tiempo en días.

Los coeficientes de la ecuación se han calculado teniendo en cuenta por separado los tiempos finales y los tiempos iniciales, como constituyentes de las dos partes de la ecuación:

$$Y = C1 * e^{R1t} + C2 * e^{R2t}$$

Suma de raíces = 0.01665

Des. estándar = 0.03225

C C1 = 0.69505

C2 = 0.28725

R1 = -0.17311

R2 = -0.00346

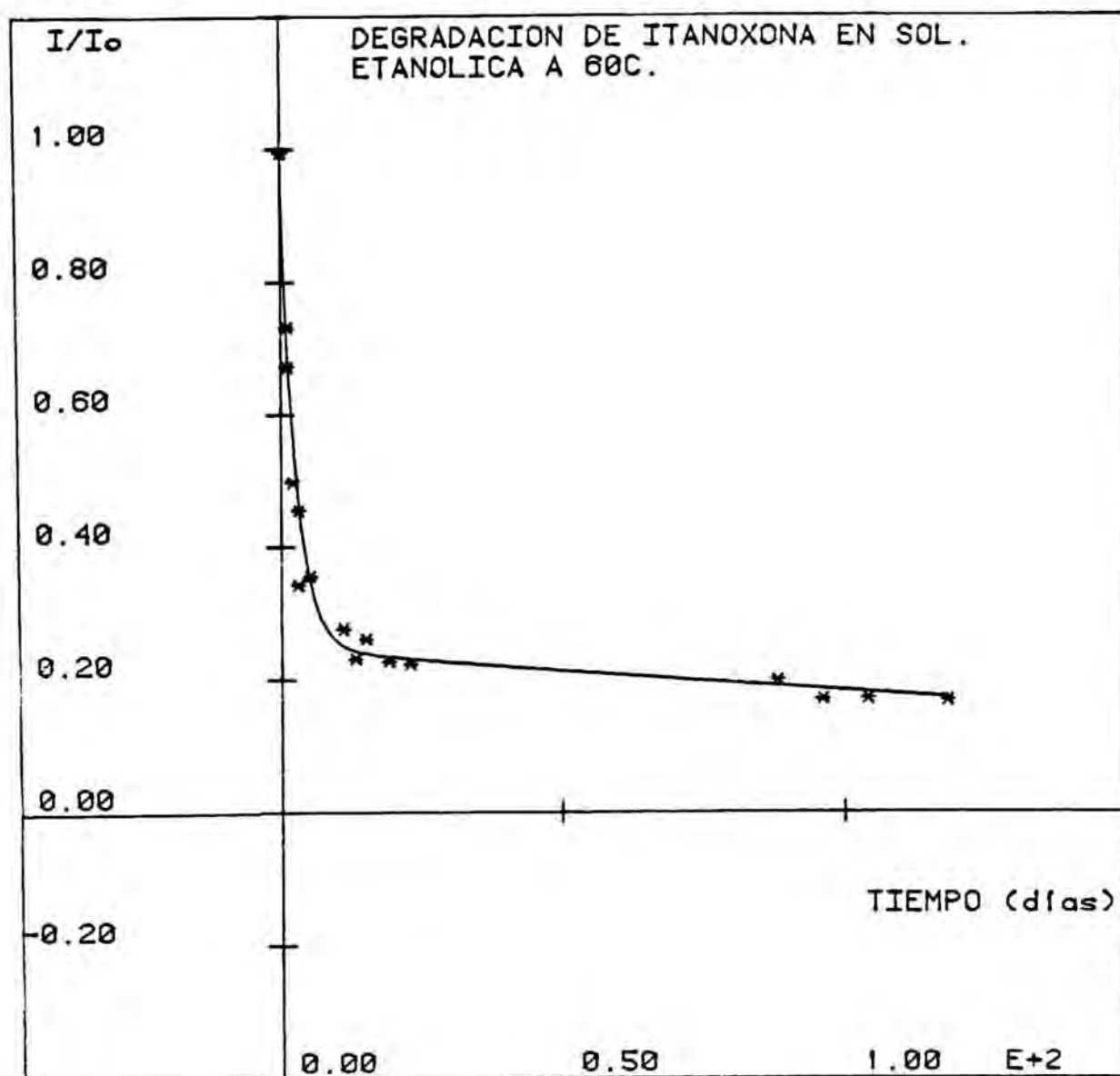


FIGURA 82: Representación del cociente de las absorbancias de Itanoxona por la absorbancia inicial (I/I_0), frente al tiempo en días.

Los coeficientes de la ecuación se han calculado teniendo en cuenta por separado los tiempos finales y los tiempos iniciales, como constituyentes de las dos partes de la ecuación:

$$Y = C1 * e^{R1t} + C2 * e^{R2t}$$

$C1 = 0.67977$
 $C2 = 0.24737$
 $R1 = -0.36913$
 $R2 = -0.00302$

Suma de raices = 0.01841
 Des. standard = 0.04522

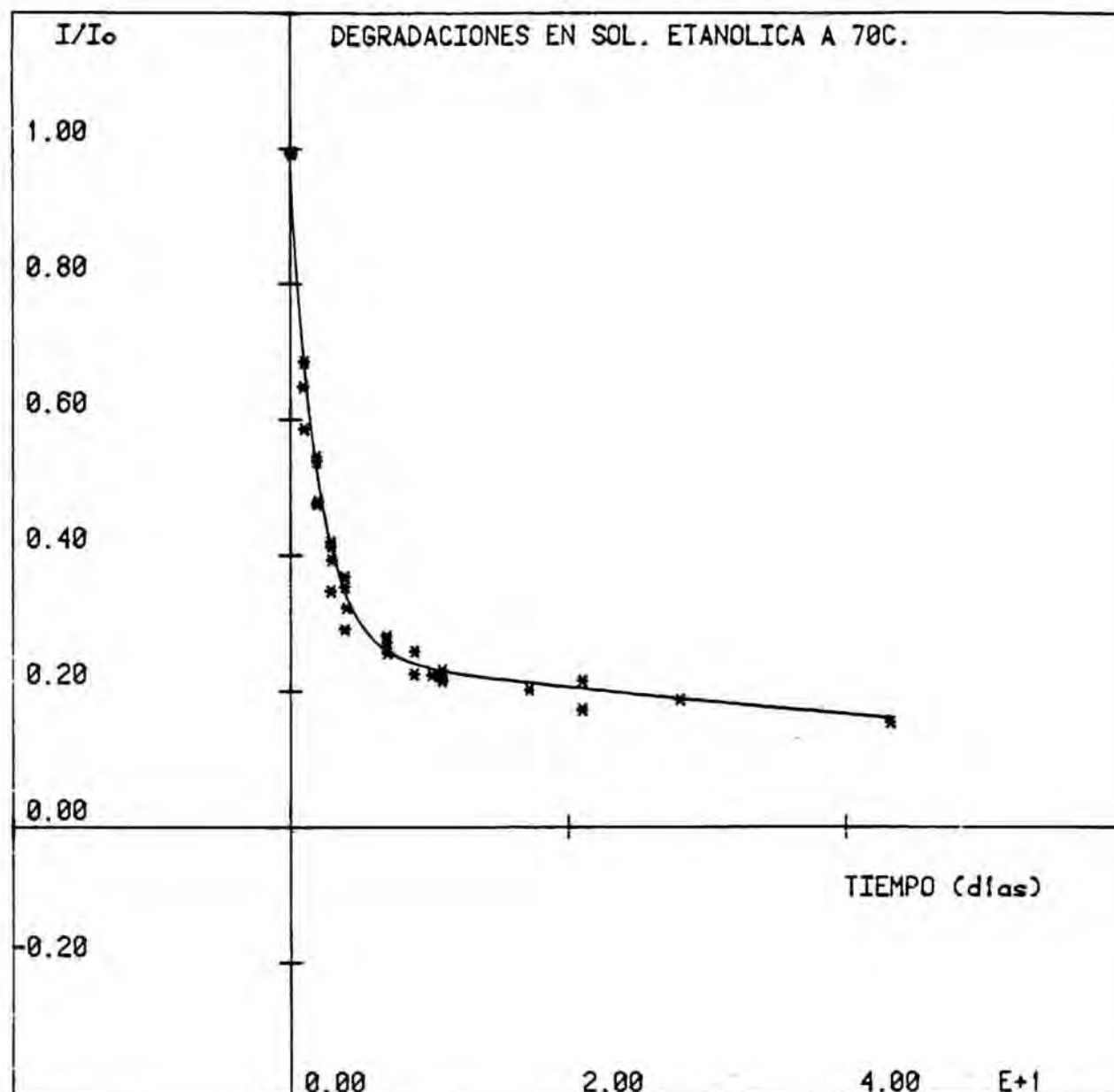


FIGURA 83: Representación del cociente de las absorbancias de Itaconoxona por la absorbancia inicial (I/I_0), frente al tiempo en días.

Los coeficientes de la ecuación se han calculado teniendo en cuenta por separado los tiempos finales y los tiempos iniciales, como constituyentes de las dos partes de la ecuación:

$$Y = C1 * e^{(R1*t)} + C2 * e^{(R2*t)}$$

C1 = 0.69624
C2 = 0.25412
R1 = -0.49103
R2 = -0.01049

Suma de raíces = 0.03710
Des. estándar = 0.03459

Un método alternativo de ajustar dicha ecuación es el método de los mínimos cuadrados de Marquardt, que da como resultado una ecuación parecida con unas desviaciones estandar ligeramente menores. Dicha ecuación pondera de igual manera los datos obtenidos en el periodo de descomposición rápida y los que se han alcanzado en la fase de descomposición lenta, en la que la incidencia de pequeños errores, que afectan a la temperatura o al tiempo de lectura, interferirán mucho menos a los resultados. Dado que la información obtenida en la fase lenta del proceso se considera que es, objetivamente, mucho más segura, creemos que el método de ajuste propuesto es mejor.(43,42)

En las figuras 84 y 85 se comparan los dos métodos de ajuste aplicados a una misma cinética.

La estabilidad de la sustancia en disolución etanólica está condicionada por la componente rápida de la descomposición, que afecta para todas las temperaturas, aproximadamente al 75% de la sustancia inicial presente.

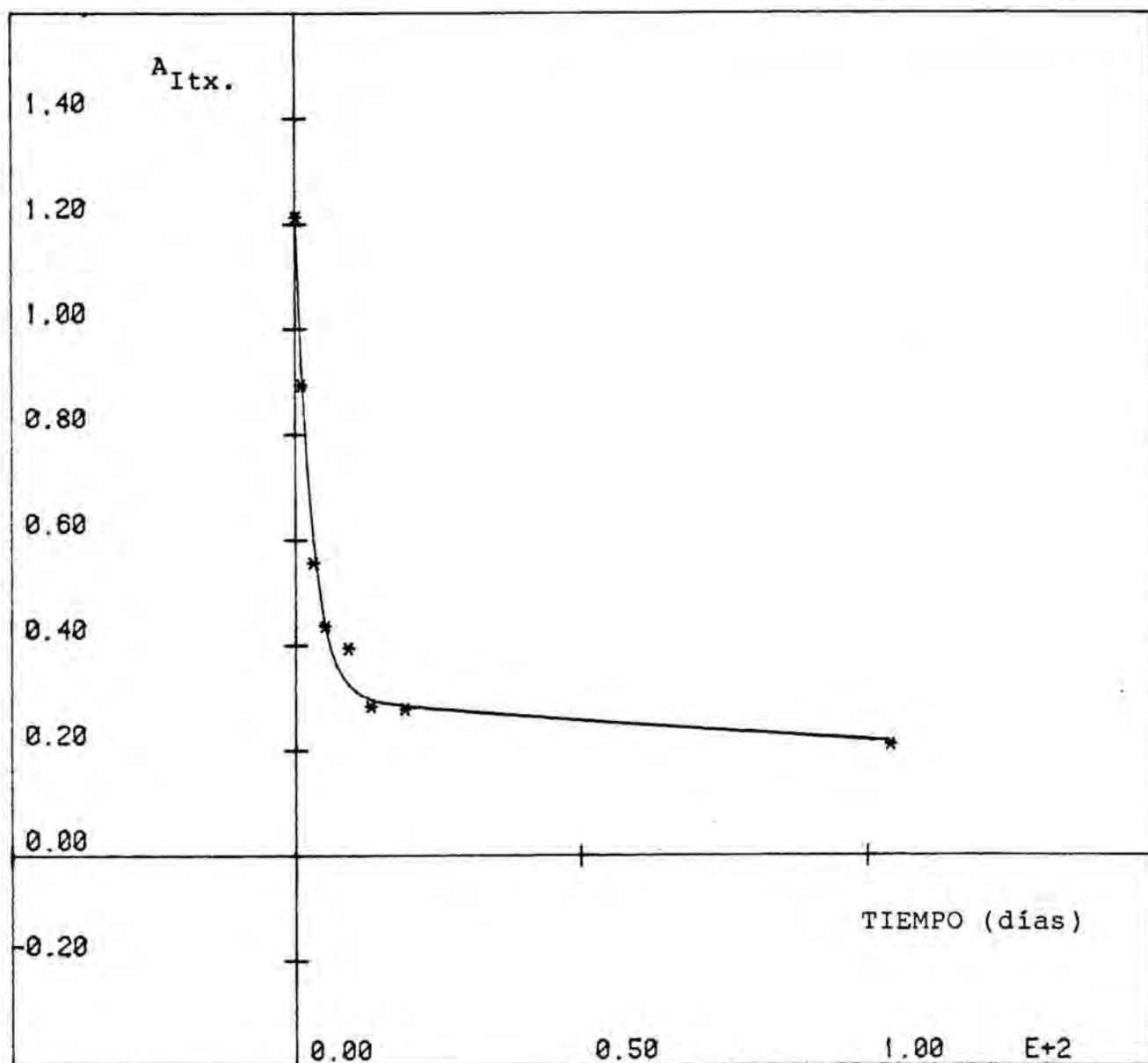


FIGURA 84: Representación de las absorbancias de Itanoxona frente al tiempo en días, en la que se han ajustado los valores a la ecuación (*) teniendo en cuenta en primer lugar la fase lenta, y basándose en los parámetros obtenidos se calcula la fase rápida.

$$(*) \text{ ITANOXONA} = C_1 e^{R_1 t} + C_2 e^{R_2 t}$$

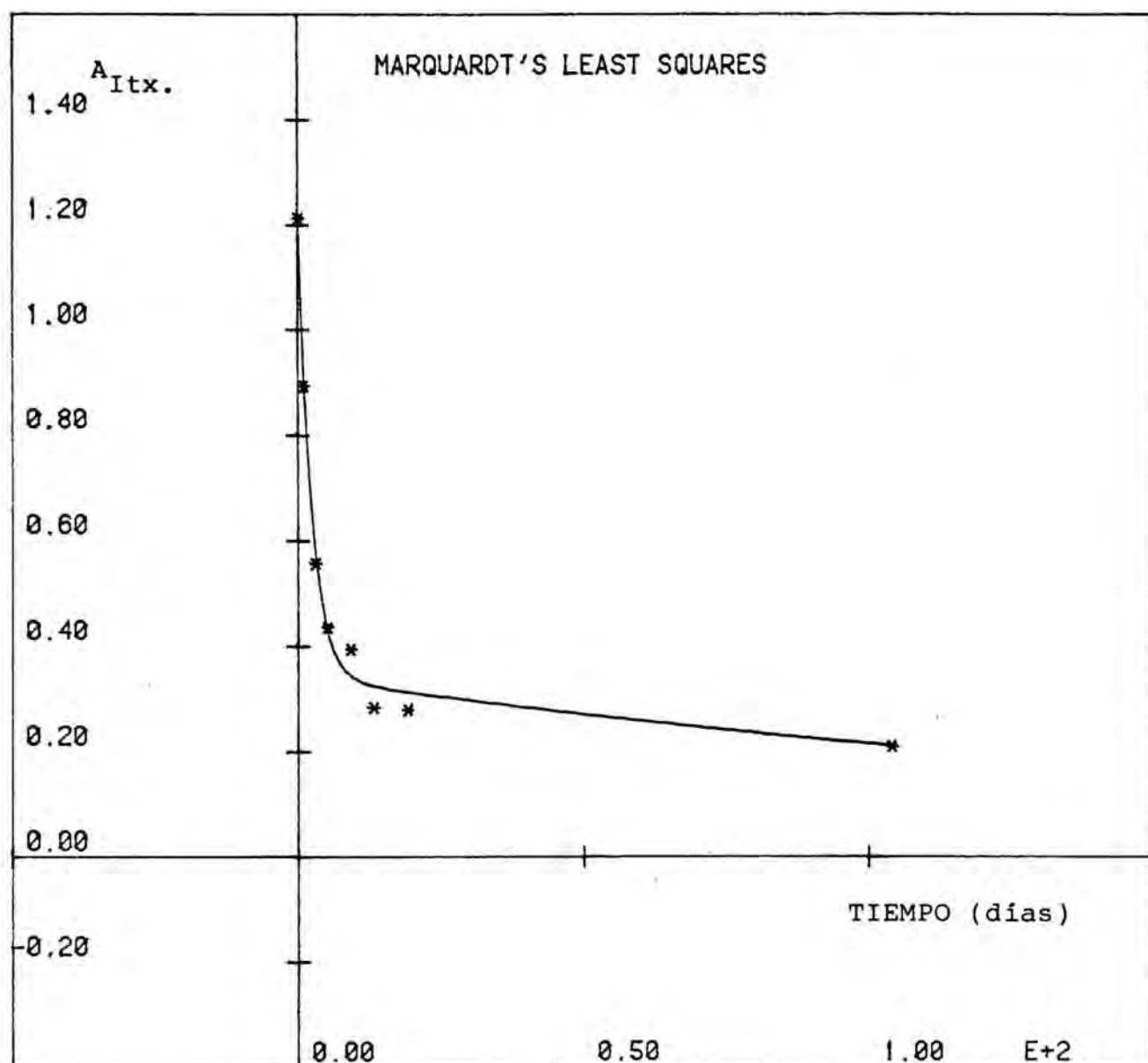


FIGURA 85: Representación de las absorbancias de Itanoxona frente al tiempo en días, en la que se han ajustado los valores a la ecuación (*) mediante el método de Mar - quart.

$$(*) \text{ ITANOXONA} = C1 e^{R1t} + C2 e^{R2 t}$$

5.2. ESTUDIOS DE DEGRADACION EN FASE HETEROGENEA.

5.2.1. Estudio sobre placas de silicagel.

Material.

- Itanoxona, sintetizada por Laboratorios Pierre Fabre.
- Etanol Merck.
- Etanol Uvasol Merck.
- Cromatofolios de silicagel Merck F-254 (Kieselgel 60 F-254).
- Jeringuilla Hamilton 0.1 ml.
- Cámara cromatográfica DESAGA.
- Cloroformo Merck.
- Metanol Merck.
- Lámpara Uvatón 254 y 360 nm.
- Material volumétrico aforado.
- Estufa Heraeus, con termorregulación (+/- 1°C).
- Espectrofotómetro Perkin-Elmer, modelo 356.

Método.

El control del proceso cinético que tiene lugar sobre las placas de silicagel, obliga a la destrucción de la placa analizada. Por esta razón no se puede tomar muestras sobre un proceso cinético único, sino que la reconstrucción del proceso cinético debe hacerse a partir de un gran número de placas, que se degradan paralelamente.

Al iniciar un estudio cinético en estas condiciones, se deben sembrar tantas placas, como puntos se pretenda obtener en la curva de degradación.

Sobre cada placa se aplica una cantidad de disolución de concentración conocida, realizando sobre cada una de ellas cuatro aplicaciones. Se debe procurar que el proceso de siembra se realice en el menor tiempo posible.

Todas las placas sembradas, excepto una, se someten a la temperatura deseada, en estufa, durante tiempos variables. Posteriormente se realiza el proceso de desarrollo cromatográfico, y de extracción y cuantificación, anteriormente descritos en el método analítico. Una de ellas, la que ha sido separada, se utiliza para obtener el valor de absorbancia de la Itanoxona, para el tiempo cero.

Cada proceso de cuantificación analítica se realiza sobre tres de las cuatro aplicaciones realizadas después de proceder a la separación cromatográfica. Se cuantifican tanto la Itanoxona como los productos de degradación. De cada uno de estos productos se obtienen por consiguiente, tres valores independientes, de los que se considera su valor medio.

La técnica de degradación, sobre silicagel, permite seguir el proceso de degradación por separado que afecta a cada uno de los productos, empleando la técnica bidimensional. Para ello deben sembrarse, sobre una placa, una disolución ya degradada, de la que en el primer desarrollo cromatográfico se separan los diversos productos. Se debe realizar dicho desarrollo en uno de los lados de la placa, que posteriormente será desarrollada en perpendicular. Entre el primero y segundo desarrollo, se puede someter la placa a las condiciones deseadas, y después de efectuado el segundo desarrollo, se obtiene de forma clara y separada, los productos de degradación que se han formado a partir de cada uno de los productos iniciales. Esta técnica es de gran valor para estudiar los mecanismos de degradación.

Debe hacerse notar que estos procesos de degradación son mucho más rápidos que los obtenidos en solución. No obstante, la experiencia ha puesto de manifiesto una limitación en el estudio de los procesos de

envejecimiento, especialmente a altas temperaturas, dado que en el transcurso del tiempo las placas se deterioran y nunca se ha podido sobrepasar, a la temperatura de 70°C, seis meses.

5.2.1.1. Resultados.

Se han realizado estudios sistemáticos de degradación a distintas temperaturas, habiéndose obtenido los resultados que se exponen en las tablas 86 a 98, y figuras de la 87 a la 99.

Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto:

- a) El proceso sigue una secuencia de degradación muy parecida, pero no igual a la de la solución etanólica, tal como se muestra en el ejemplo (figura 100). Pudiéndose destacar la no aparición del producto cero.
- b) La técnica cromatográfica bidimensional permite establecer de forma clara los productos que se pueden considerar estables y los que están en equilibrio, probablemente por tratarse de isómeros

Los productos 3 y a, se muestran como completamente estables, y el producto cero, que no se forma sobre silicagel, permanece también inalterado cuando se siembra sobre una placa. Por el contrario, tanto la Itanoxona como el producto 1, dan sobre la placa la misma serie de productos de degradación. Ello pone de manifiesto, por una parte que estos dos productos están en equilibrio y que ni uno ni otro son estables.

Con el objeto de tener información sobre estos procesos de equilibrio y aportar datos que permitan hacer conjeturas sobre el mecanismo segui-

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	1.060	0.0	0.000		0.000
0.08	0.958	0.0	0.100		0.000
0.19	0.841	0.0	0.197		0.000
0.98	0.366	0.0	0.635		0.088
1.14	0.352	0.01	0.645		0.120
1.98	0.231	0.088	0.716		0.143
2.96	0.152	0.095	0.628		
3.12	0.140	0.110	0.600		0.205
3.95	0.137	0.097	0.605		
7.03	0.063	0.086	0.450		0.490
10.09	0.061	0.087	0.338		0.690
17.12	0.058	0.075	0.328		0.726
28.13	0.014	0.046	0.175		0.875
43.17		0.055	0.125		1.015
146.25		0.062			1.283

Fig.: 86

Degradación de la Itanoxona sobre cromatofolios
de silicagel a 70°C . (nº 1)

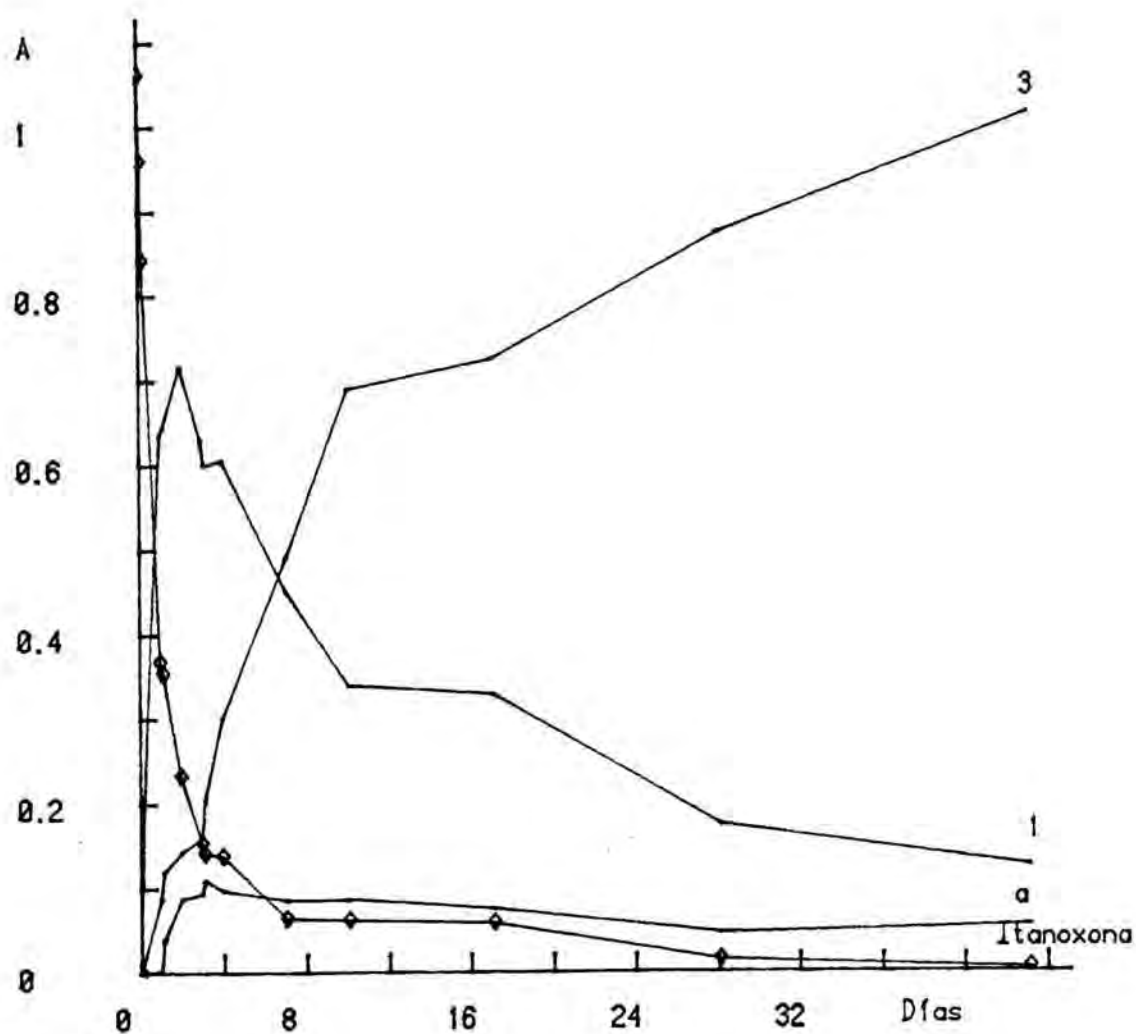


FIGURA 87: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE CROMATOFOLIOS DE SILICAGEL A 70°C.
Núm. 1.

TIEMPO	ABSORBANCIAS		
Días-Horas	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION	
		1	3
0	0.989		
0.90 - 21.5	0.410		
1.96 - 47	0.285		
2.04 - 49	0.280		
2.92 - 70	0.176		
5.96 - 143	0.120		
8.83 - 212	0.115	0.695	0.171

Fig.: 88

Degradación de Itanoxona sobre cromatofolios de silicagel a 70°C (nº 2).

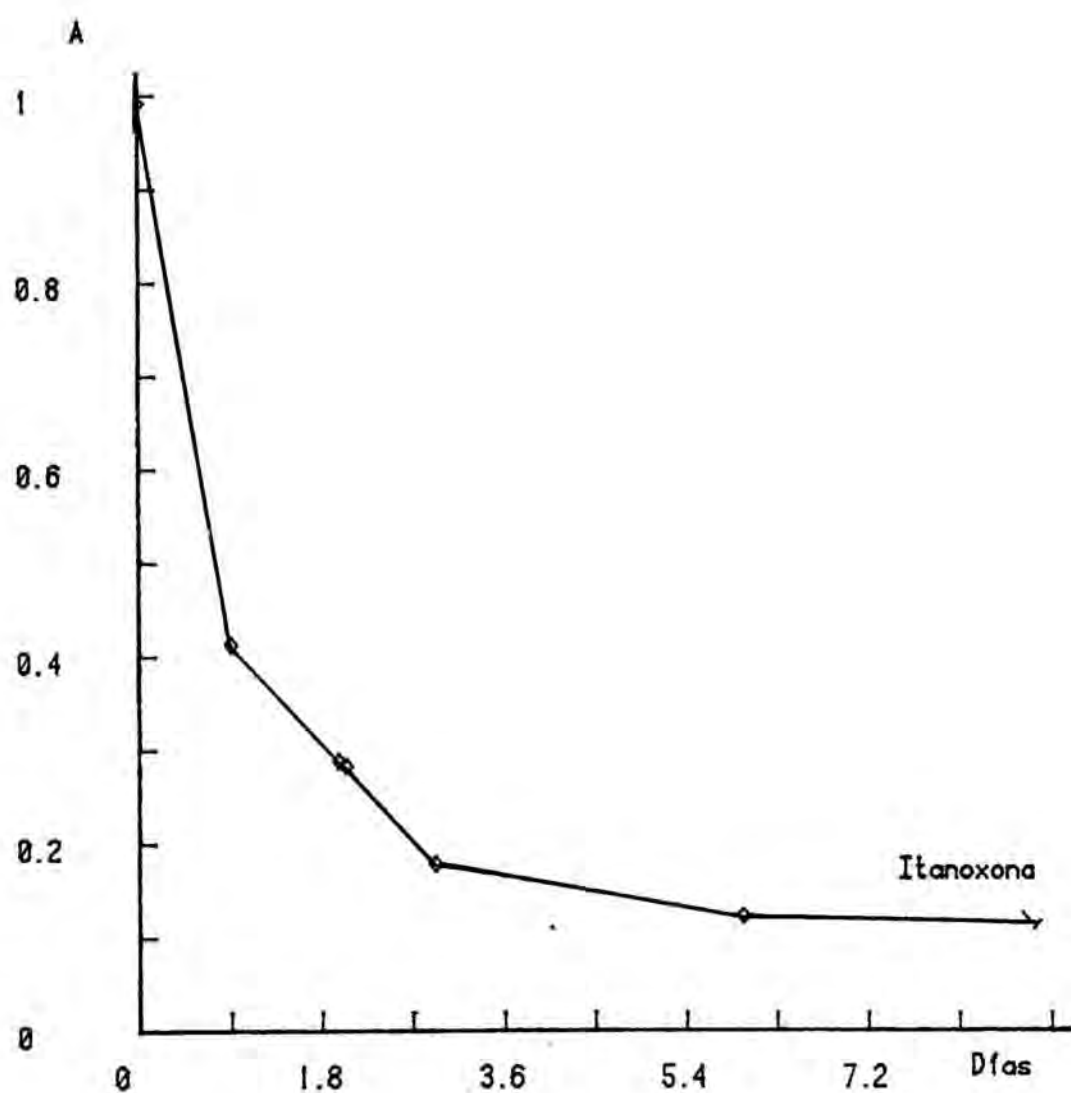


FIGURA 89: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE CROMATOFOLIOS DE SILICAGEL A 70°C. N.ºm. 2.

TIEMPO		ABSORBANCIAS		
		ITANOXONA	PRODUCTOS DE DEGRADACION	
Días-Horas		REMANENTE	1	3
0		0.989		
0.90 -	21	0.395		
1.96 -	47	0.280		
2.04 -	49	0.280		
2.92 -	70	0.172		
5.96 -	143	0.120		
8.83 -	212	0.113	0.7	0.17

Fig.: 90

Degradación de Itanoxona sobre cromatofolios de silicagel a 70°C (nº 3).

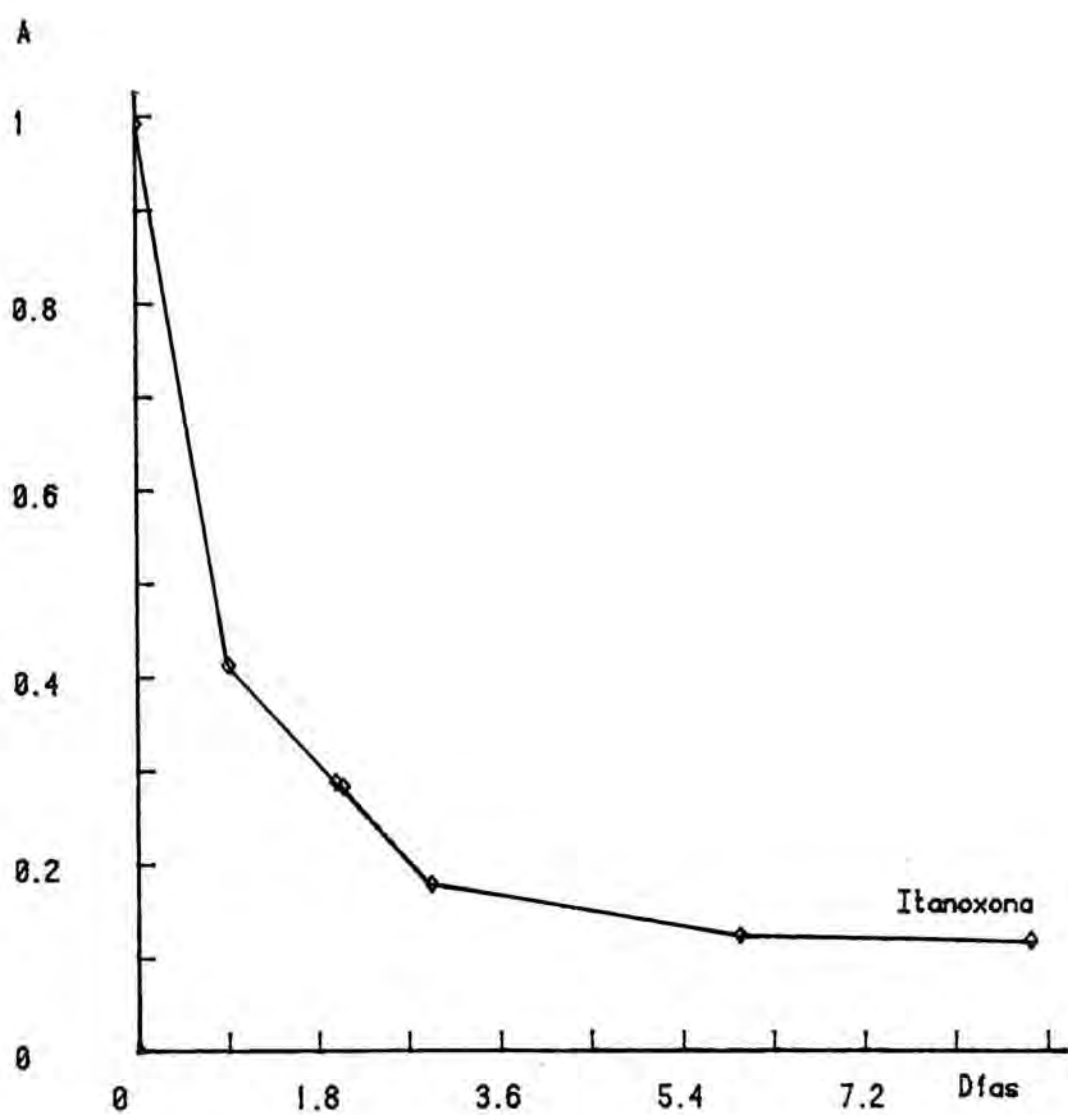


FIGURA 91: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE CROMATOFOLIOS DE SILICAGEL A 70°C. Núm. 3.

TIEMPO DÍAS	ABSORBANCIAS ITANOXONA
0	0.989
0.89	0.410
1.96	0.275
2.04	0.270
2.92	0.176
5.96	0.120
8.83	0.119

Fig.: 92

Degradación de Itanoxona sobre cromatofolios de silicagel a 70°C. (nº 4).

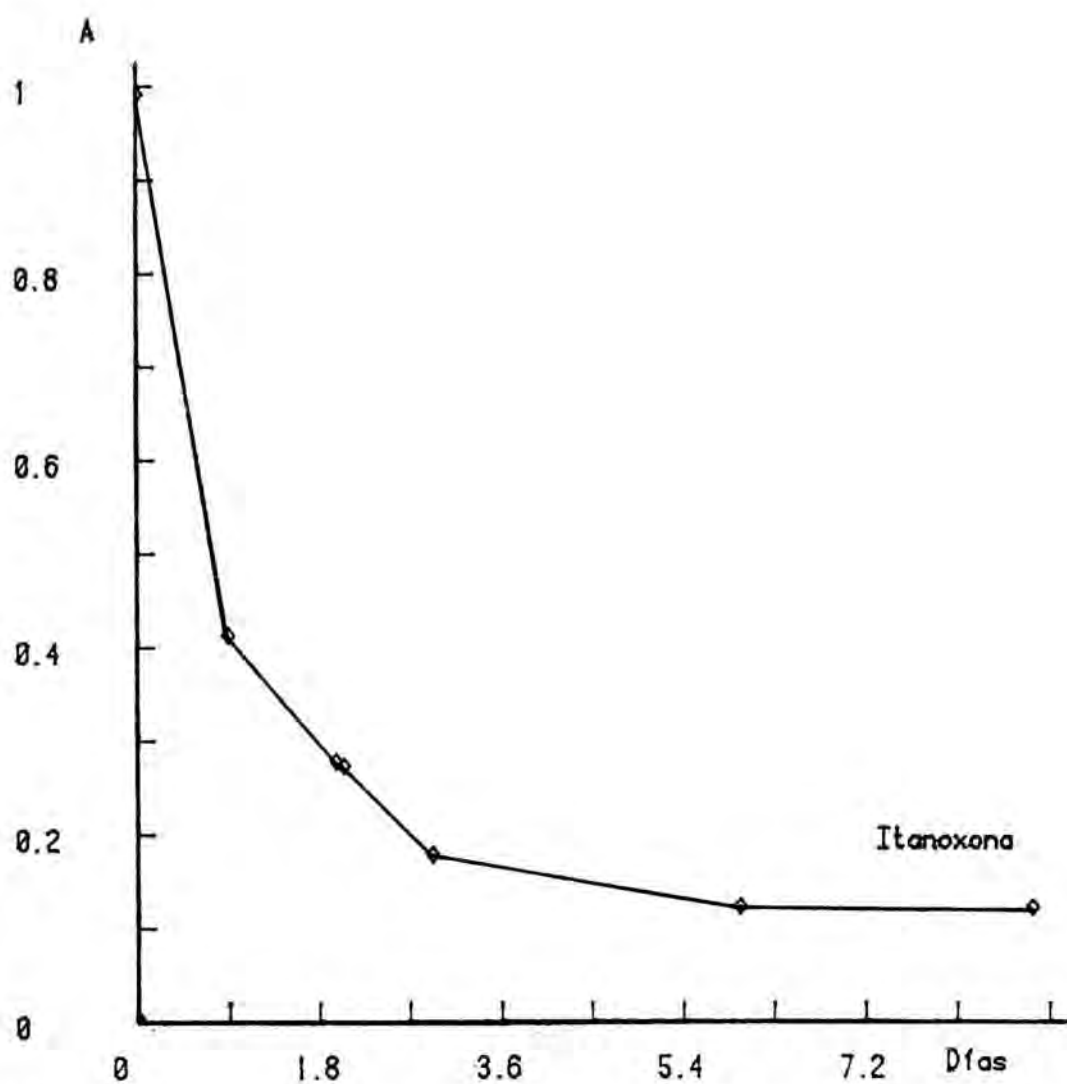


FIGURA 93: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE CROMATOFOLIOS DE SILICAGEL A 70°C. Núm. 4.

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	0.560		0.000		0.000
0.84	0.270		0.145		0.020
1.73	0.180		0.170		0.020
2.14	0.172		0.224		0.030
5.00	0.050		0.230		0.043
7.00	0.066		0.268		0.056
13.00	0.056		0.210		0.141
20.00	0.043		0.160		0.137
44.00			0.013		0.225

Fig.: 94

Degradación de la Itanoxona sobre cromatofolios
de silicagel a 60°C . (nº 1)

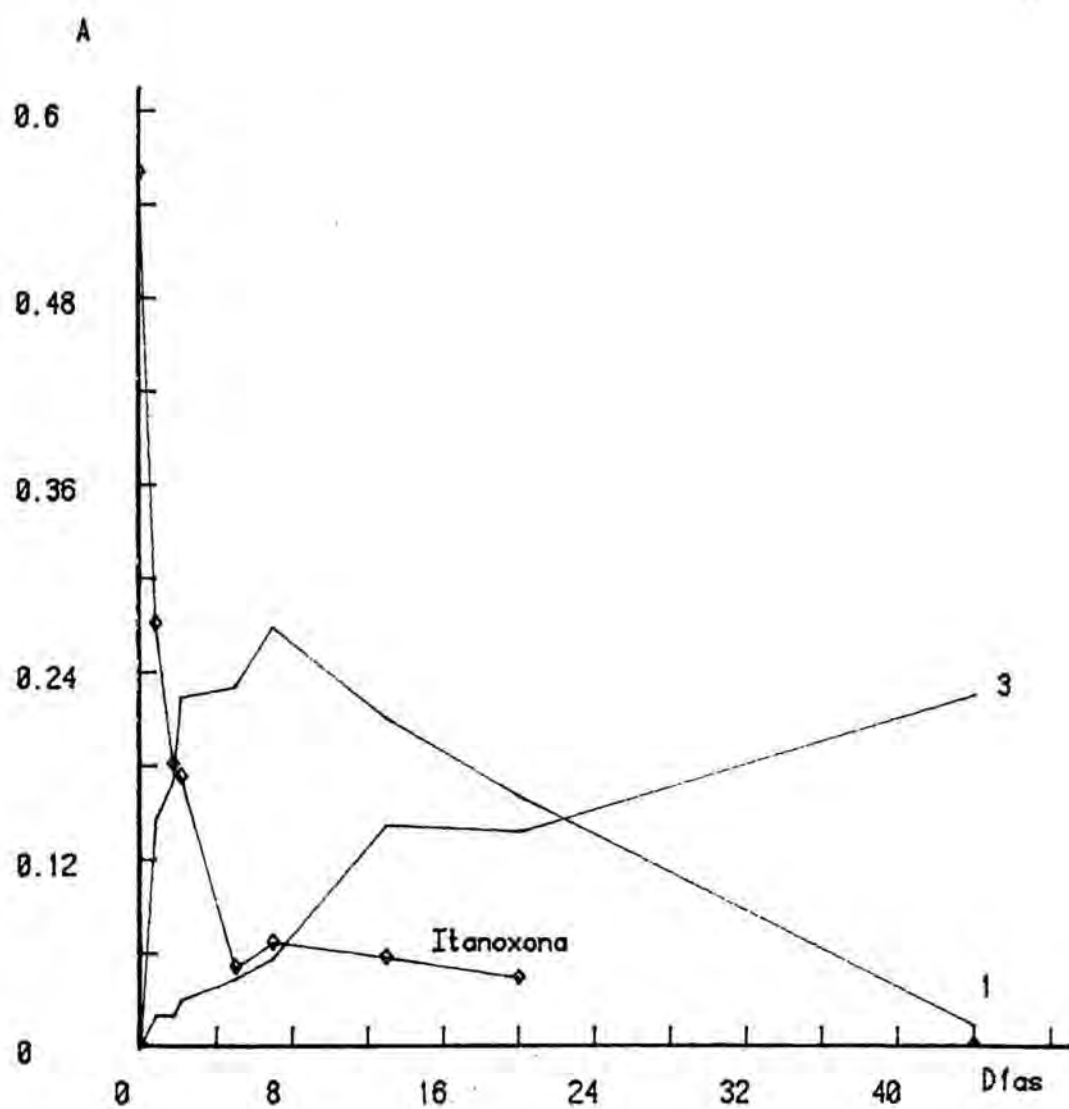


FIGURA 95: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE CROMATOFOLIOS DE SILICAGEL A 60°C. Núm. 1.

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
DIAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	0.742		0.000		0.000
0.833	0.450		0.347		0.026
1.958	0.257		0.485		0.053
2.830	0.172		0.557		0.060
5.920	0.082		0.492		0.144
8.920	0.084		0.463		0.212
13.920	0.063		0.396		0.272
19.920	0.057		0.310		0.406
28.920	0.037		0.182		0.560

Fig.: 96

Degradación de la Itanoxona sobre cromatofolios
de Silicagel a 60°C. (nº 2)

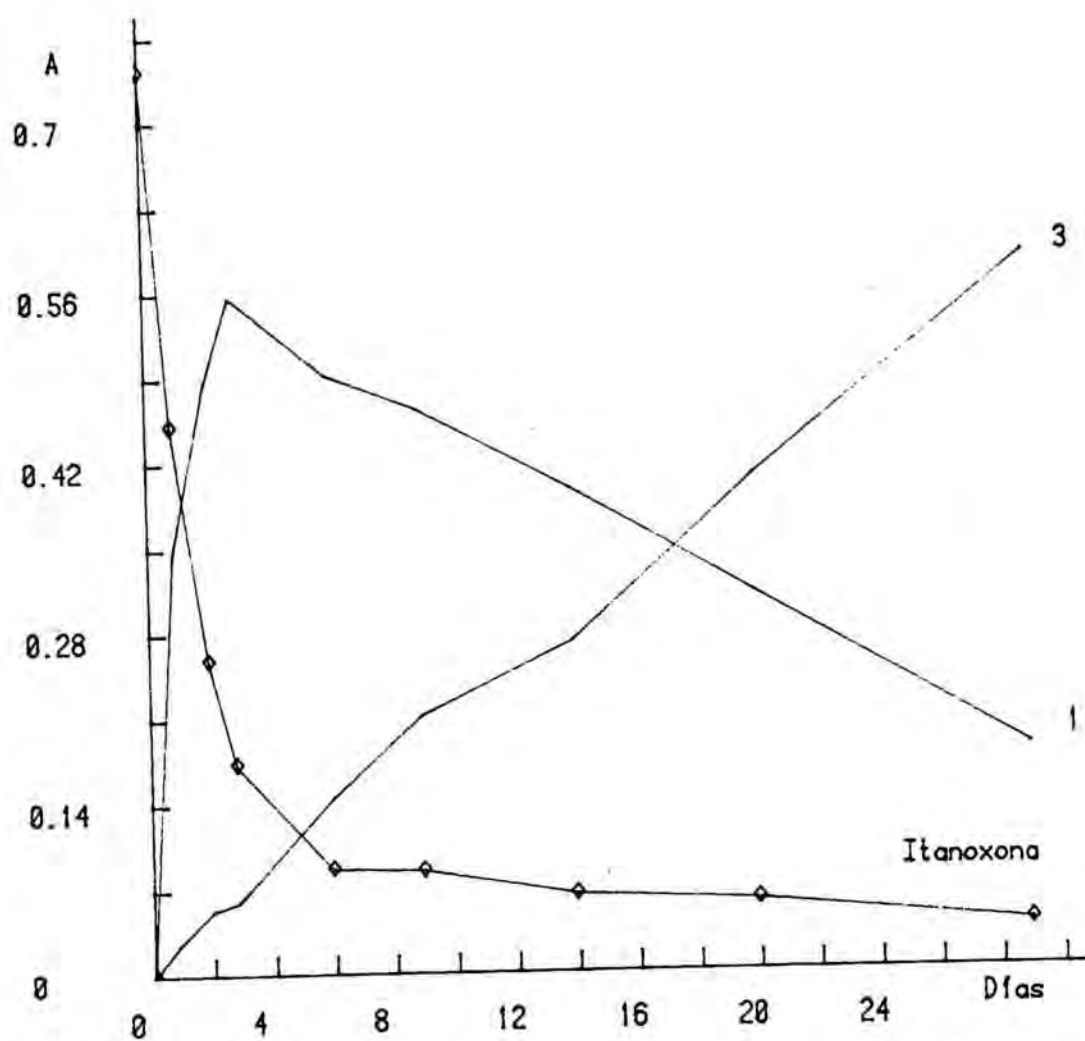


FIGURA 97: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE CROMATOFOLIOS DE SILICAGEL A 60C. Núm. 2.

TIEMPO		ABSORBANCIAS			
DIAS-HORAS	ITANOXONA REMANENTE	PRODUCTOS DE DEGRADACION			
		a	1	0	3
0	0.560		0.000		0.000
0.83- 20	0.420		0.107		0.000
1.29- 31	0.403		0.165		0.000
4.20- 101	0.170		0.271		0.000
8.96- 215	0.080		0.284		0.036
12.16- 292	0.088		0.308		0.086
19.12- 459	0.064		0.262		0.115
33.12- 795			0.204		0.152
47.12-1.131			0.100		0.155

Fig.: 98

Degradación de Itanoxona sobre cromatofolios de
silicagel a 50°C. (nº 1)

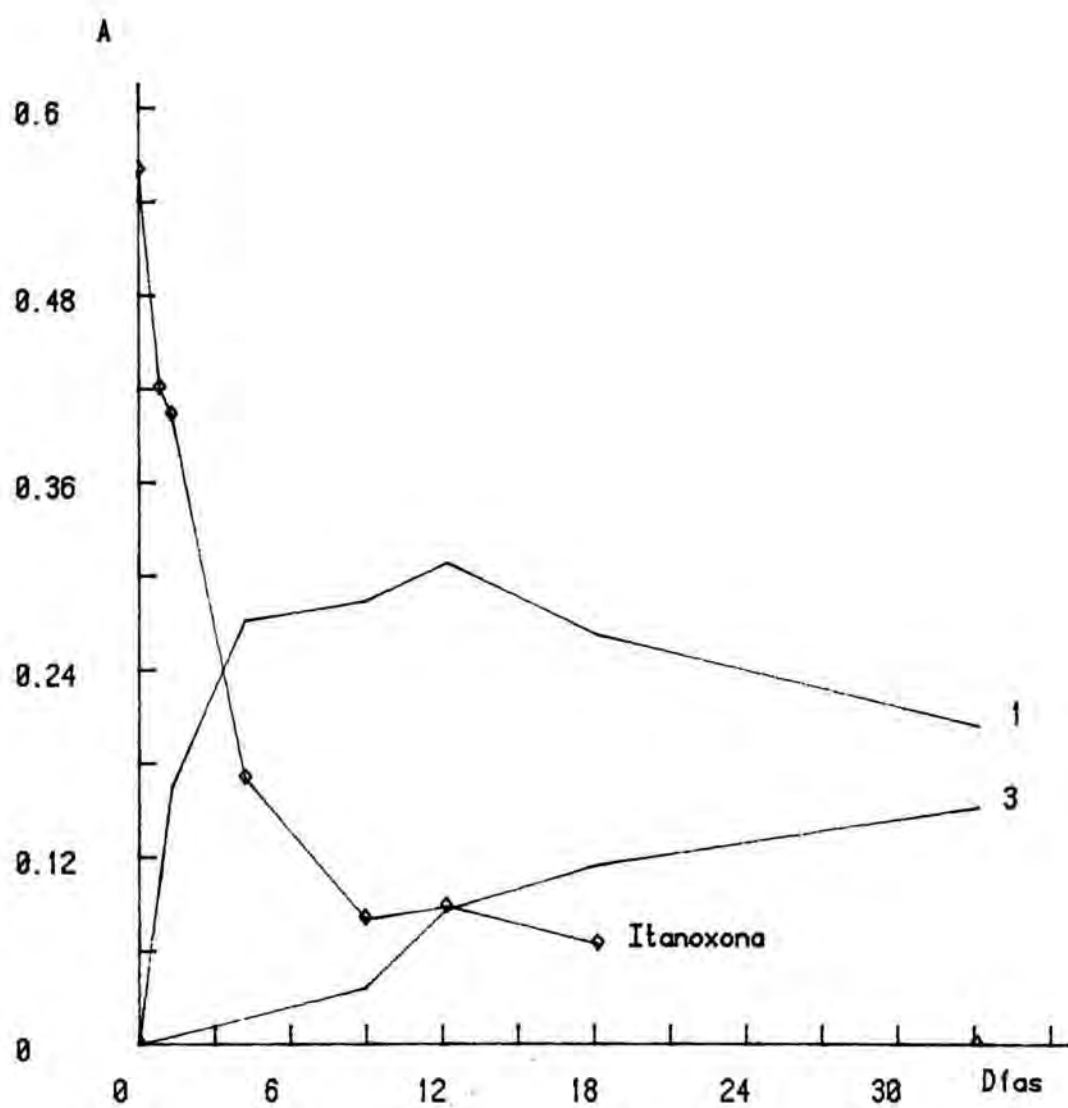


FIGURA 99: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE CROMATOFOLIOS DE SILICAGEL A 50C. N^om. 1.

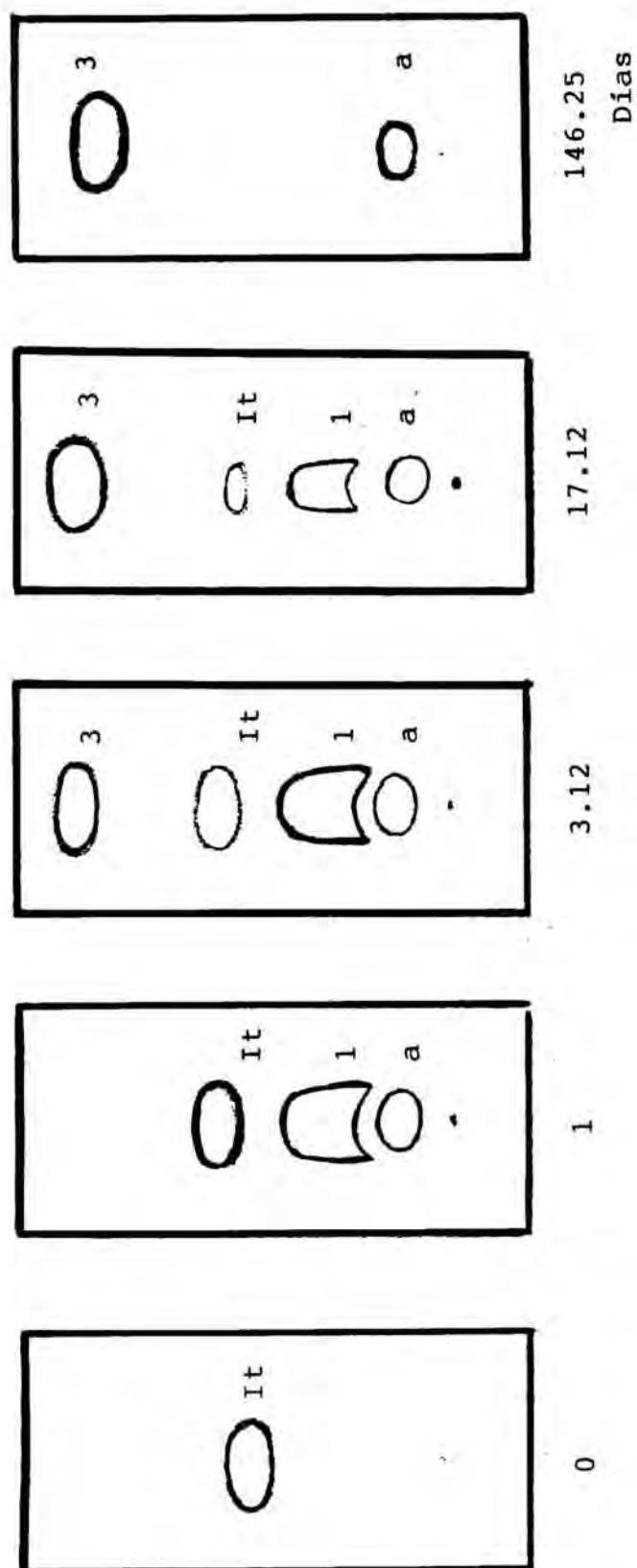


Fig.: 100

Degradación de Itanoxona(It) sobre cromatofolios de silicagel a 70°C.

Se muestran los cromatogramas de la solución recién preparada, 1, 3, 12, 17, 12 y 146.25 días.

do en la degradación, se ha realizado cromatografías bidimensionales en muestras degradadas dejando transcurrir dos y siete días y expresando los resultados en absorbancias del producto extraído (figura 101).

Estos datos permiten poner de manifiesto que el equilibrio entre Itanoxona y producto 1 está muy desplazado hacia el producto 1, lo que concuerda con el resultado obtenido en productos envejecidos a bajas temperaturas en disolución. También ponen de manifiesto que el producto 3 se forma primordialmente a partir de la Itanoxona. Se llega a estas conclusiones al dividir las absorbancias de los distintos productos que resultan de la degradación de la Itanoxona y del producto 1, por el valor de la absorbancia de la Itanoxona inicial o del producto 1 inicial de que proceden, habiendo multiplicado este último por un factor de absorbilidad relativa de 1/1.45, con el objeto de hacer comparables los resultados (Tabla 102).

Regularidades observadas.

Las cinéticas de degradación de la Itanoxona son cualitativamente muy parecidas a las que tienen lugar en disolución, aunque su velocidad es notablemente más elevada.

También es posible reducir el proceso de degradación de la Itanoxona a la superposición de dos procesos cinéticos de primer orden, tal como se pone de manifiesto en el ejemplo de la figura 103.

Dicho parecido se da también en la evolución de los distintos productos con la excepción de la ausencia de producto 0 que se ha reseñado anteriormente.

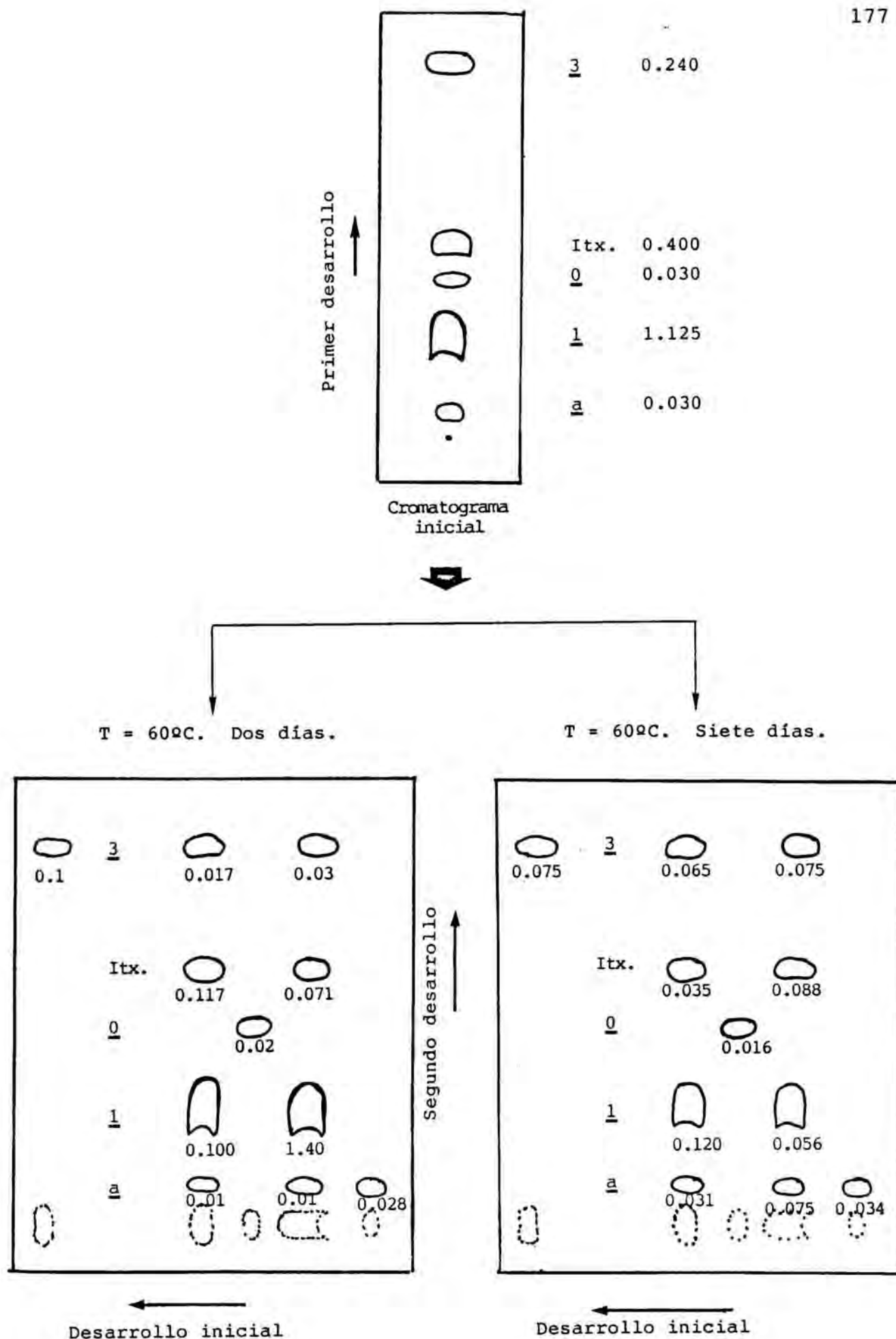


FIGURA 101.

	ITANOXONA 0.400		PRODUCTO <u>1</u> /1.45 0.776	
PRODUCTO	2 días	7 días	2 días	7 días
<u>a</u>	0.008	0.077	0.013	0.097
<u>1</u>	0.250	0.300	1.800	0.721
Itanoxona	0.292	0.087	0.090	0.113
<u>3</u>	0.042	0.162	0.038	0.097

TABLA 102.

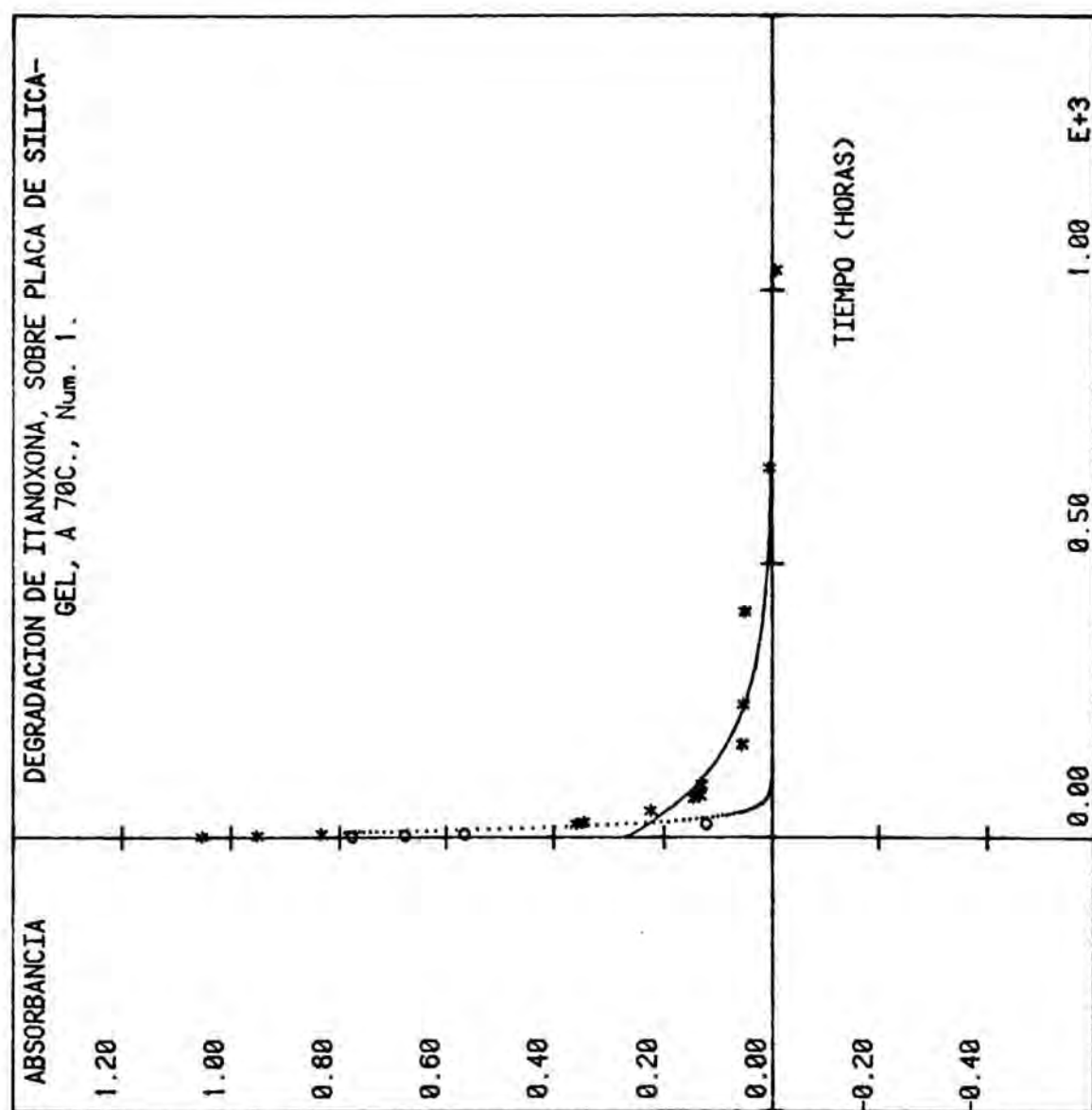


FIGURA 103.

A continuación se analiza con más detalle cada uno de los productos por separado:

Producto 1: Presenta una curva cinética propia de un producto intermedio, dándose su valor máximo a tiempos, aproximadamente constantes para cada temperatura y a una proporción determinada entre la Itanoxona remanente y el producto 1 formado.

Esta regularidades también se habían dado en las degradaciones en solución, pero con valores cuantitativos notablemente distintos, lo que hace pensar que el mecanismo cinético de la degradación es básicamente el mismo en los dos casos.

Producto 3: Es un producto final de degradación, presentando una curva de tipo sigmoideo al representarlo frente al tiempo.

Producto a: A través de las cromatografías bidimensionales, se ha puesto de manifiesto que el producto "a" no se descompone en otros productos detectables. No obstante, en la cinética a 70°, se pone de manifiesto un máximo de absorbancia, aproximadamente a los tres días y una estabilización a valores menores de absorbancia en tiempos posteriores.

Dentro de esta zona del cromatograma existe cierta superposición de productos de baja intensidad, que dificultan el poder llegar a conclusiones precisas. Esta imprecisión en la mancha, que contrasta con la relativa buena definición que se obtiene de la misma en degradaciones en medio etanólico, se pone también de manifiesto en una cierta indeterminación del máximo de absorbancia entre 266.5 - 270 nm.

El seguimiento de este producto se ha realizado solamente en una cinética a 70° C, por la dificultad expuesta anteriormente de caracterizarlo.

Tratamiento de los datos.

Empleando el método de Marquardt se han obtenido las curvas optimizadas, para la fórmula general:

$$I/I_0 = C_1 e^{R_1 t} + C_2 e^{R_2 t}$$

a cada una de las temperaturas estudiadas: 50, 60 y 70°C.(42,44)

Este tratamiento pone de manifiesto una variabilidad muy pequeña en la proporción C_1/C_2 a las distintas temperaturas, hecho que también se da en los estudios realizados en medio etanólico. Esta circunstancia hace relativamente fácil la extrapolación de los resultados a 25°C. Para ello se aplica la ecuación de Arrhenius a los exponentes R_1 y R_2 (figuras 108 y 109), que representan las velocidades específicas de reacción de las fases lenta y rápida.

En la tabla 104 se dan los parámetros resultantes de la optimización de las curvas para cada temperatura, que corresponden a las gráficas 105, 106 y 107, así como los t_{90} correspondientes a cada temperatura y los parámetros obtenidos en la extrapolación a 25°C. Dichos parámetros permiten deducir el t_{90} a dicha temperatura, que resulta ser de 3.24 días.

La velocidad de degradación sobre gel de sílice, puede estar muy relacionada con el grado de división del polvo y con la forma en que la sustancia entra en contacto con él. Por ello este resultado, difícilmente es extrapolable al caso de silicagel en polvo. No obstante se evidencia que el gel de sílice no es un excipiente recomendable para preparados con Itanoxona.

DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE CROMATOFOLIOS DE SILICAGEL.

TEMPE- RATURA	PARAMETROS				DESVIACION ESTANDARD
	C1	C2	R1	R2	
70	0.778916	0.225116	-1.799546	-0.132013	0.0236
60	0.843620	0.150020	-0.830907	-0.039173	0.0322
50	0.838545	0.165530	-0.377740	-0.022497	0.0289

Extrapolación a 25°C:

25	0.820360	0.180222	-0.039788	-0.00159	-
r			0.9999	0.9960	-
Desviación			0.0069	0.1585	-

TEMPERATURA	70	60	50	25
t ₉₀ (días)	0.075	0.149	0.333	3.240

TABLA104: Parámetros obtenidos al optimizar la cinéticas de degradación sobre cromatofolios de silica-gel, mediante el método de Marquardt, para la ecuación:

$$I/I_0 = C1 e^{R1t} + C2 e^{R2t}$$

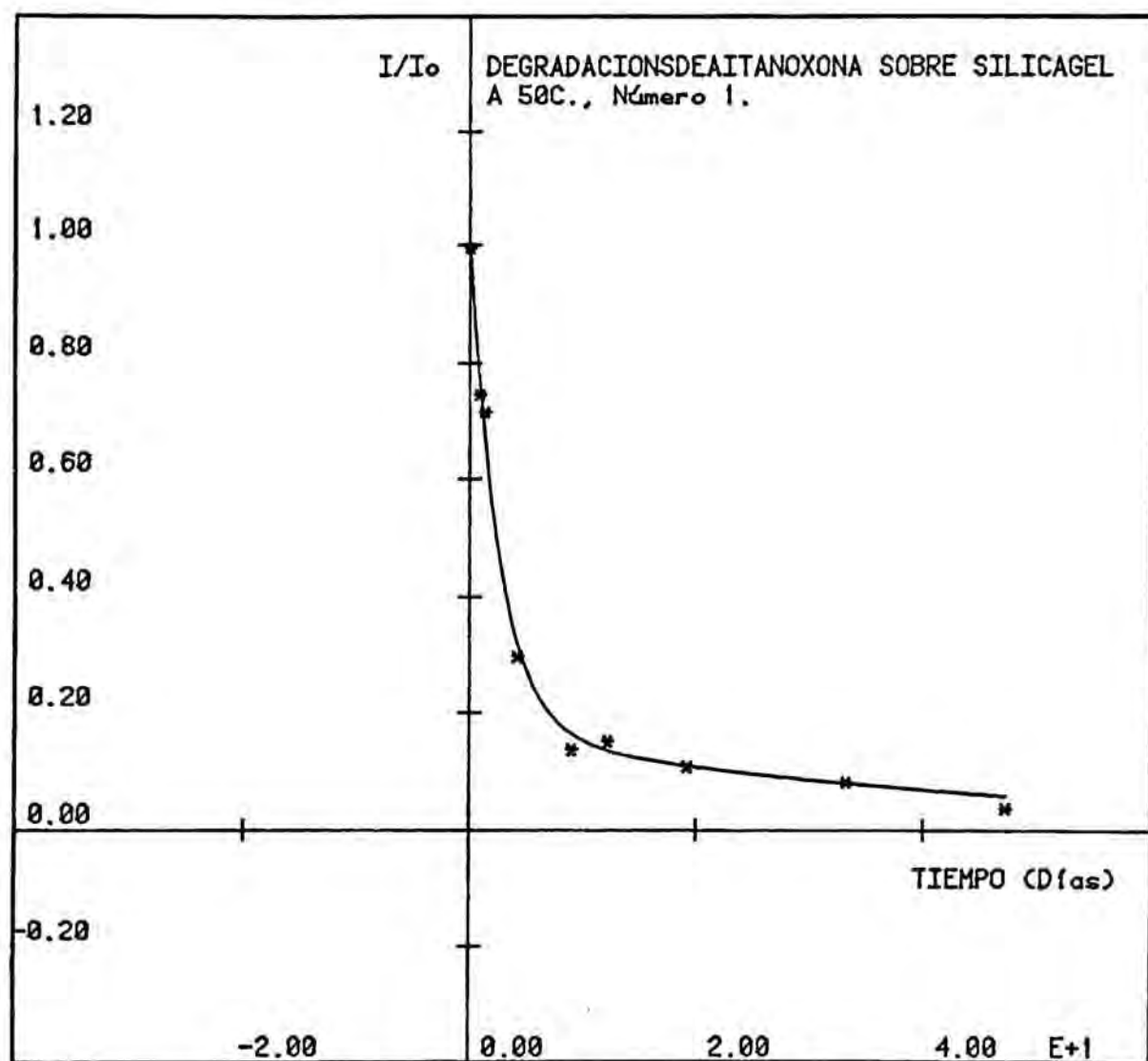


FIGURA 105.

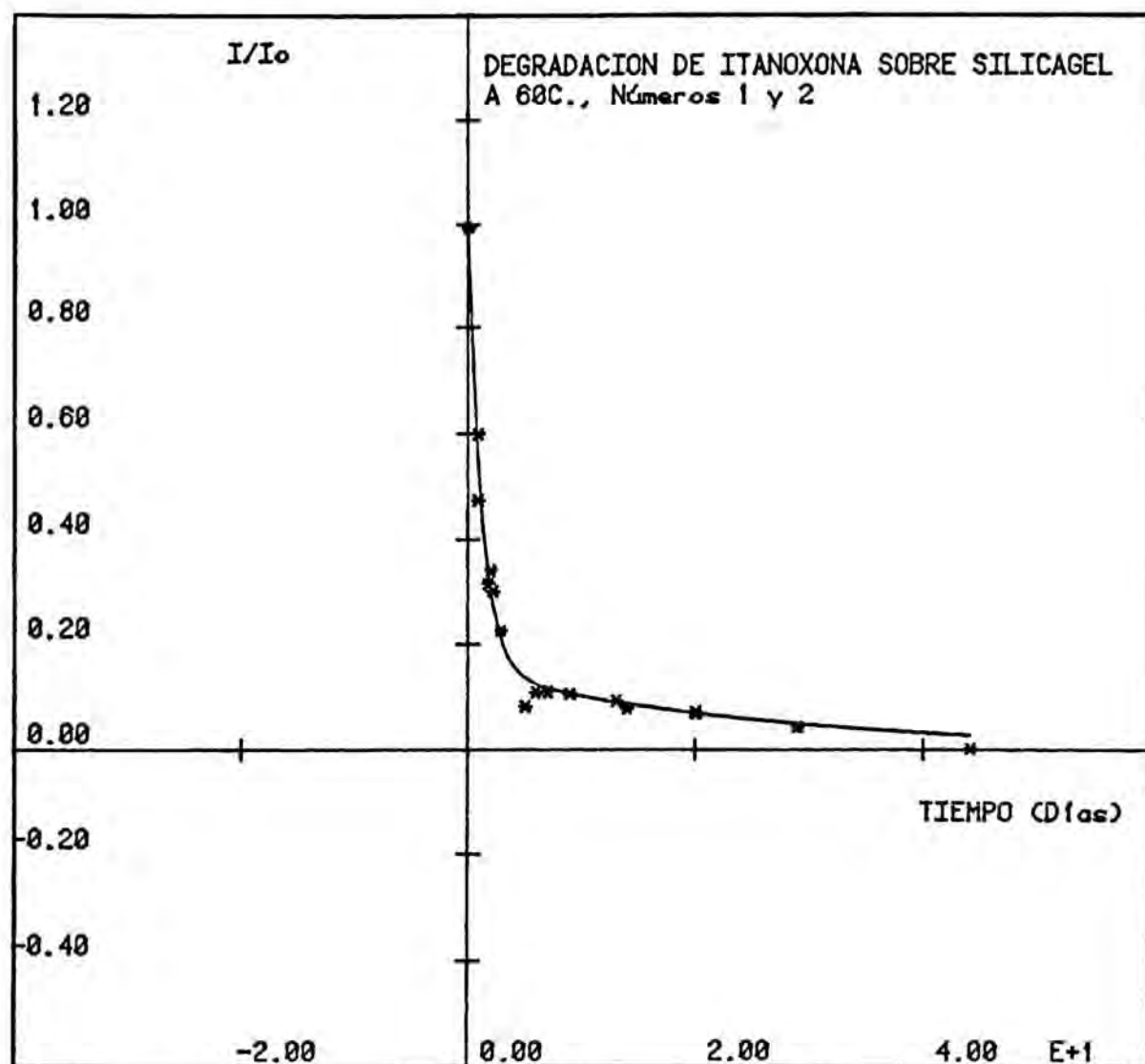


FIGURA 106

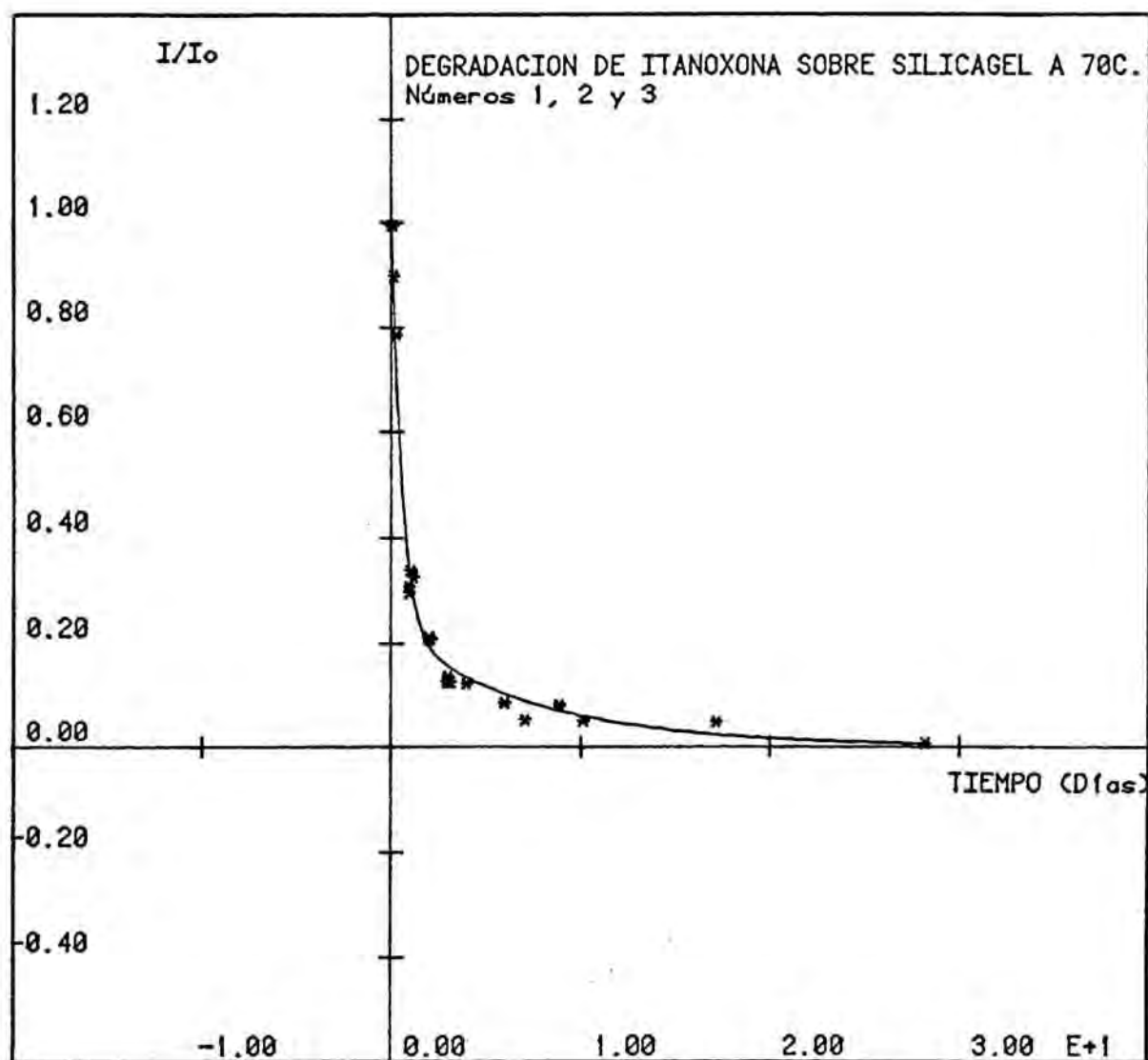


FIGURA 107.

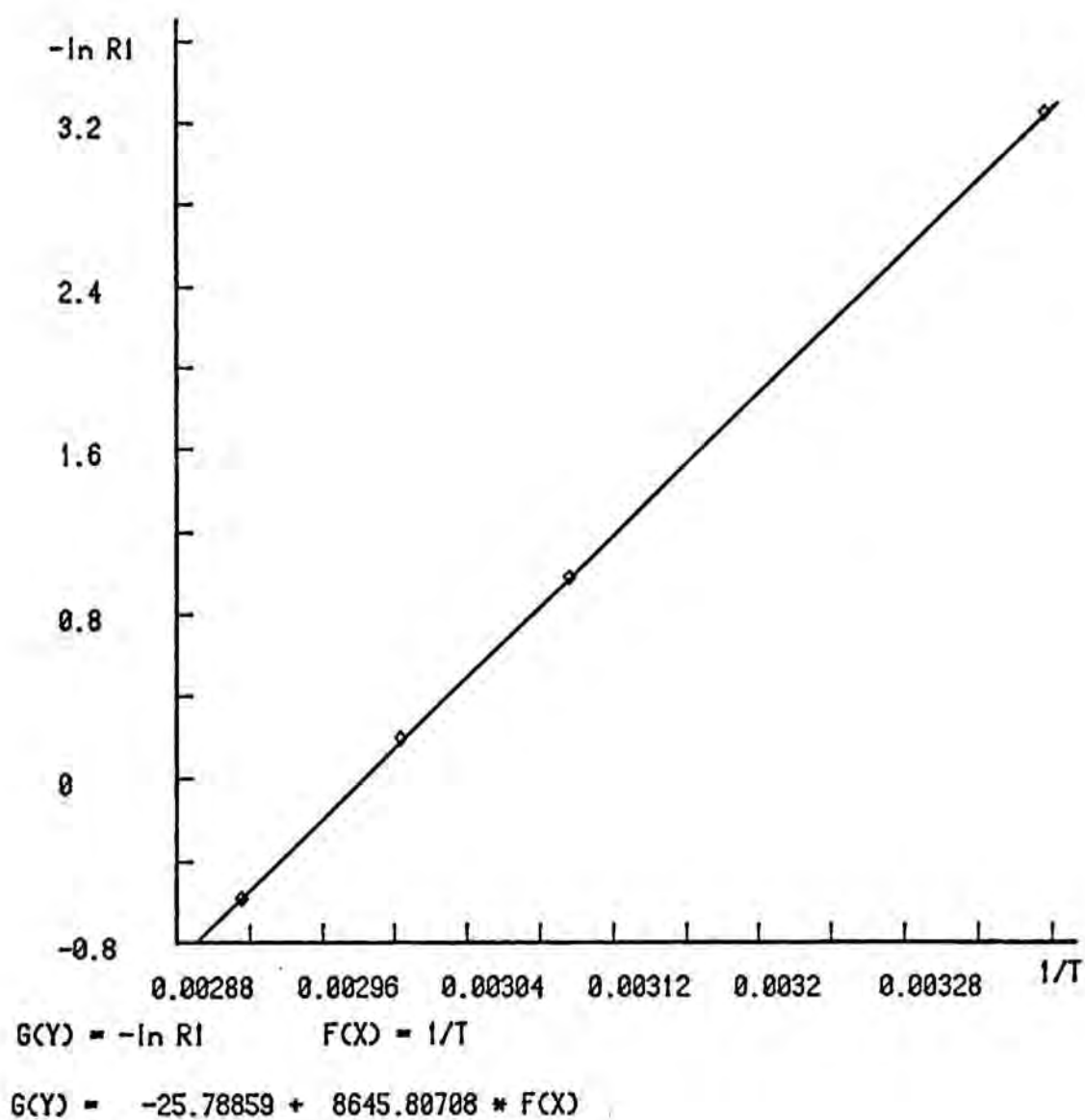


FIGURA 108: Cálculo de $R1$ a 25°C por aplicación de la ecuación de Arrhenius.

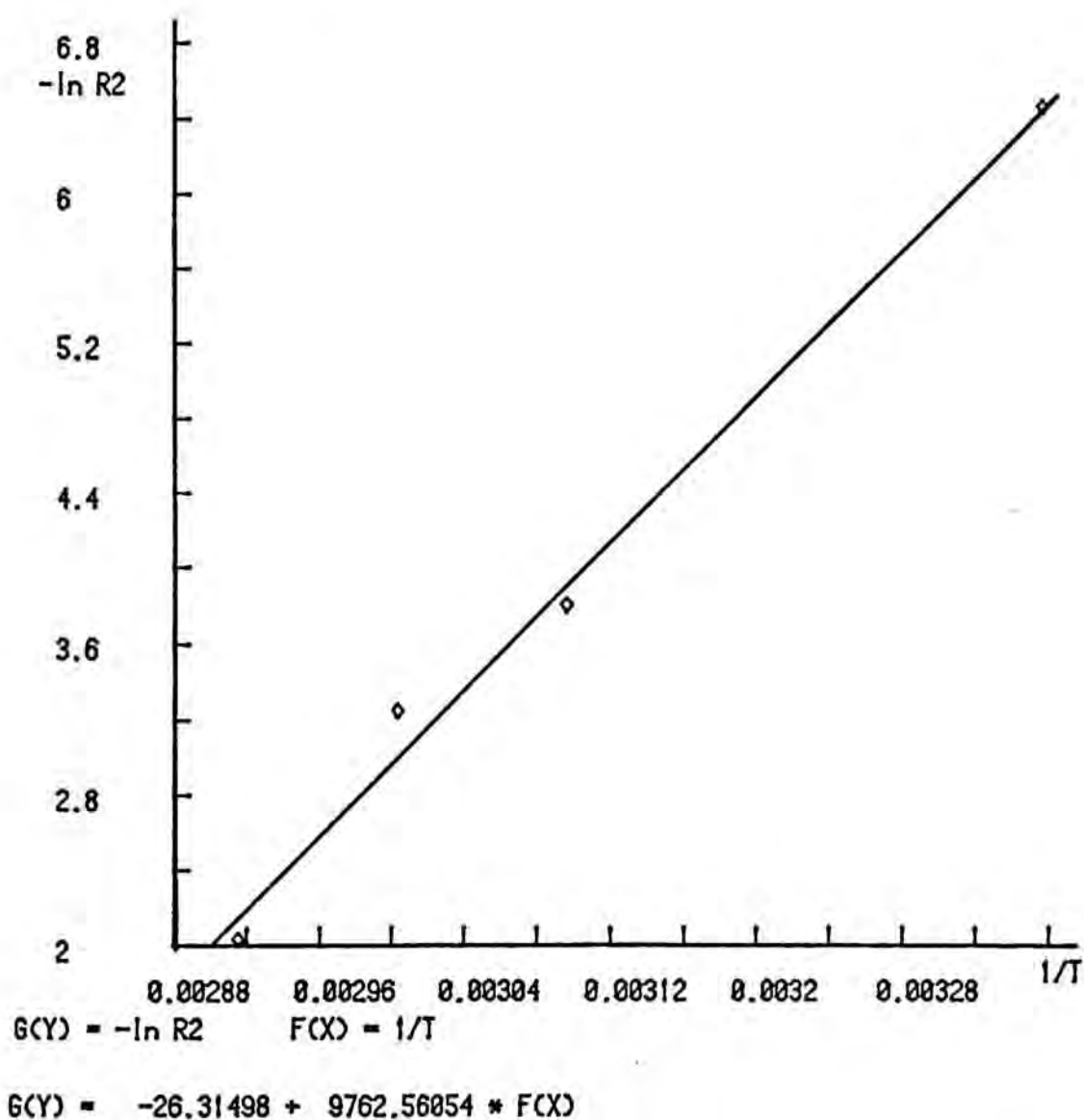


FIGURA 109: Cálculo de $R2$ a 25°C por aplicación de la ecuación de Arrhenius.

5.2.2. Estudios sobre otros soportes sólidos.

Material

Lactosa farmacéutica.
Celulosa microcristalina.
Estearato magnésico.
Oxido de magnesio.
Talco.
Itanoxona, sintetizada por Laboratorios Pierre Fabre.
Acetato de etilo Merck.
Cápsulas de Petri.
Cámara de vacío.
Etanol Uvasol Merck.
Cromatofolios de silicagel Merck F-254 (Kieselgel 60 F-254).
Jeringuilla Hamilton de 0.1 ml.
Cámara cromatográfica DESAGA.
Cloroformo Merck.
Metanol Merck.
Lámpara Uvatón 254 y 360 nm.
Material volumétrico aforado.
Estufa Haeraeus, con termorregulación (+/- 1°C).
Espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo 356.

Método.

Se interpone una disolución de Itanoxona con el polvo del excipiente a estudiar, procurando una buena homogenización. Se evapora el disolvente, empleando, si es necesario, la bomba de vacío. Se mantiene el polvo seco en las condiciones ambientales deseadas. Periodicamente se obtienen muestras que se extraen con el mismo disolvente. El disolvente empleado ha sido el acetato de etilo, que se ha preferido al etanol por las siguientes razones:

- Su mayor volatilidad nos permite obtener una muestra de polvo seco en poco tiempo, apta para el estudio cinético.
- Los excipientes empleados son algo solubles en

etanol y por ello se depositaran sobre la placa de silicagel, dificultando la separación.

- La necesidad de sembrar volúmenes relativamente grandes sobre las placas de silicagel, resulta más practicable por su elevada volatilidad.

Aunque la solubilidad de la Itanoxona en acetato de etilo es inferior a la que presenta en etanol, es suficientemente soluble para poder obtener con comodidad y rapidez las disoluciones a la concentración empleada.

Siendo el principal objeto de este estudio la medida cunatitativa de la Itanoxona remanente, se ha comprobado que la Itanoxona sembrada se recupera en buenas condiciones al determinar su absorbancia en el tiempo cero.

En cuanto a los productos de degradación, no se puede afirmar que el procedimiento tenga la garantía de recuperar el 100% de las sustancias que se hayan formado; no obstante se ha intentado realizar su valoración a través del cromatograma.

Los excipientes empleados han sido: lactosa, celulosa microcristalina, estearato magnésico, óxido de magnesio y talco.

5.2.2.1. Estabilidad sobre lactosa.

Método.

Se ha partido de una disolución de Itanoxona en acetato de etilo, de 1.5 mg/ml aproximadamente, interponiendo, en una cápsula de Petri, 25 ml de esta solución en 15 g de lactosa. Se homogeniza con una varilla de vidrio mientras se evapora el acetato de etilo. Una vez finalizada la operación se deja la cápsula en una cámara de vacío durante

una hora. Todo el proceso de desecación se consigue en menos de dos horas.

Se sacan tres muestras de 1 g de tres puntos distintos para comprobar la homogeneidad y establecer el valor de la absorbancia a tiempo cero. Inmediatamente se depositan las cápsulas en estufas a temperatura controlada, y se toman porciones de 1 g a distintos tiempos, las cuales se extraen con 5 ml de acetato de etilo, dejando el polvo en suspensión en la nevera durante 24 h. El líquido sobrenadante se siembra sobre un cromatofolio de silicagel, siguiendo el método analítico general.

Se han realizado degradaciones a temperaturas controladas de 54, 60 y 70 °C.

Resultados.

Los resultados obtenidos se especifican en las tablas 110, 111 y 112, y en las figuras 113, 114 y 115.

Los productos de degradación que se han podido detectar son : producto a, producto 1 e indicios de producto 3. No se han detectado productos distintos de los obtenidos en procesos sobre placas de silicagel. En silicagel, y para porcentajes de degradación similares, los productos formados serían prácticamente los mismos, si bien la cantidad del producto 1 debería ser mayor.

Se observa una velocidad inicial superior al resto del proceso degradatorio, comportamiento general en las degradaciones sobre soportes sólidos. Para poner de manifiesto este fenómeno se han representado los 25 primeros días del proceso en la gráfica 116. Este efecto es progresivamente menos evidente a temperaturas bajas.

TIEMPO días	ABSORBANCIAS			% ITANOXONA
	Prd. <u>1</u>	Itanox.	Prd. <u>a</u>	
0		0.788		100.00
0.93	0.019	0.782		99.24
2.92	0.020	0.780		98.98
17.93	0.021	0.768	0.009	97.46
80.85		0.730	0.010	92.64
196.85		0.630	0.022	79.95
337.85		0.603		76.52

Tabla 110: Estudio de estabilidad de Itanoxona en lactosa a 54°C.

TIEMPO días	ABSORBANCIAS			% ITANOXONA
	Prd. <u>1</u>	Itanox.	Prd. <u>a</u>	
0		0.785		100.00
1.05	0.015	0.770		98.09
3.10	0.030	0.770		98.09
12.90	0.031	0.750	0.011	95.54
81.89	0.015	0.693		88.28
197.89		0.565	0.030	71.97
338.89		0.510		64.97

Tabla 111: Estudio de estabilidad de Itanoxona en lactosa a 60°C.

TIEMPO días	ABSORBANCIAS			%
	Prd. <u>1</u>	Itanox.	Prd. <u>a</u>	
0	0.027	0.410	0.005	100.00
4.08	0.020	0.390	0.008	95.12
11.00	0.036	0.380	0.031	92.68
18.96		0.380	0.043	92.68
42.01		0.355	0.048	86.59
83.01		0.330	0.050	80.49
115.01	0.025	0.315	0.047	76.83
248.01	0.030	0.270	0.070	65.85

Tabla 112: Estudio de estabilidad de Itanoxona en lactosa a 70°C. A los 248.01 días se observan también sombras de producto 3.

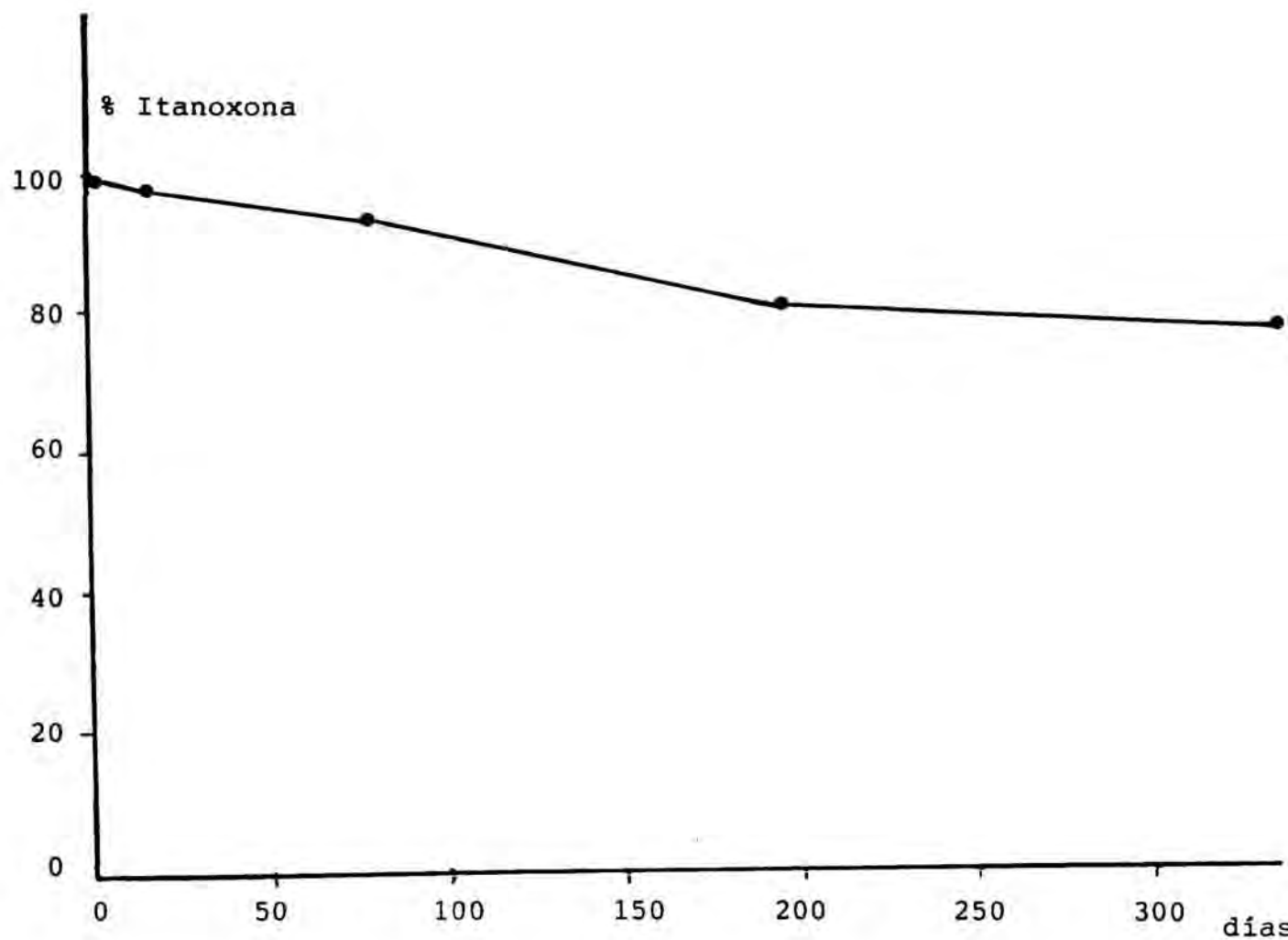


Figura 113: Degradación de Itanoxona adsorbida sobre lactosa a 54°C. En la representación se muestra el % de Itanoxona remanente frente al tiempo.

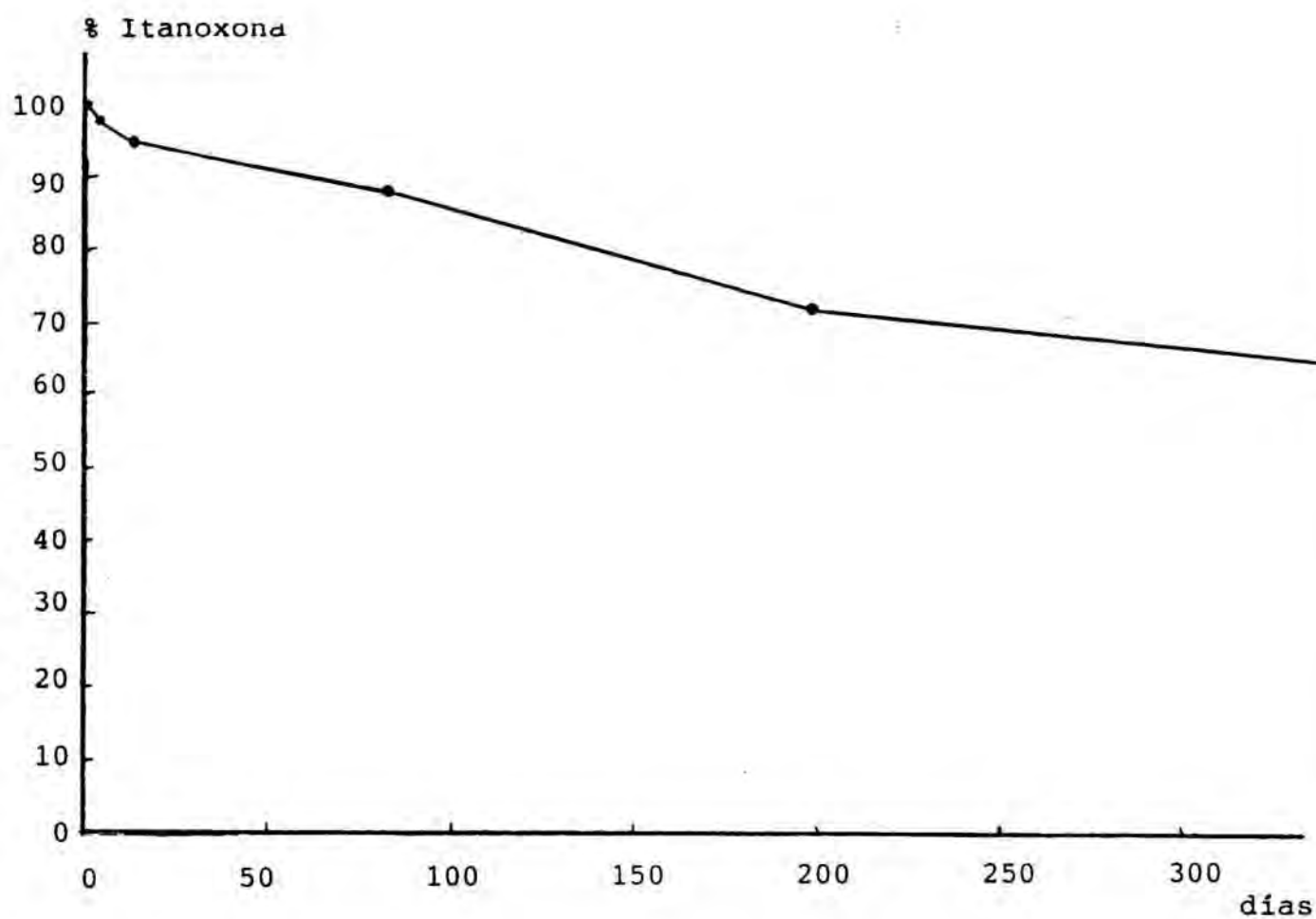


Figura 114: Degradación de Itanoxona adsorbida sobre lactosa a 60°C. En la representación se muestra el % de Itanoxona remanente frente al tiempo.

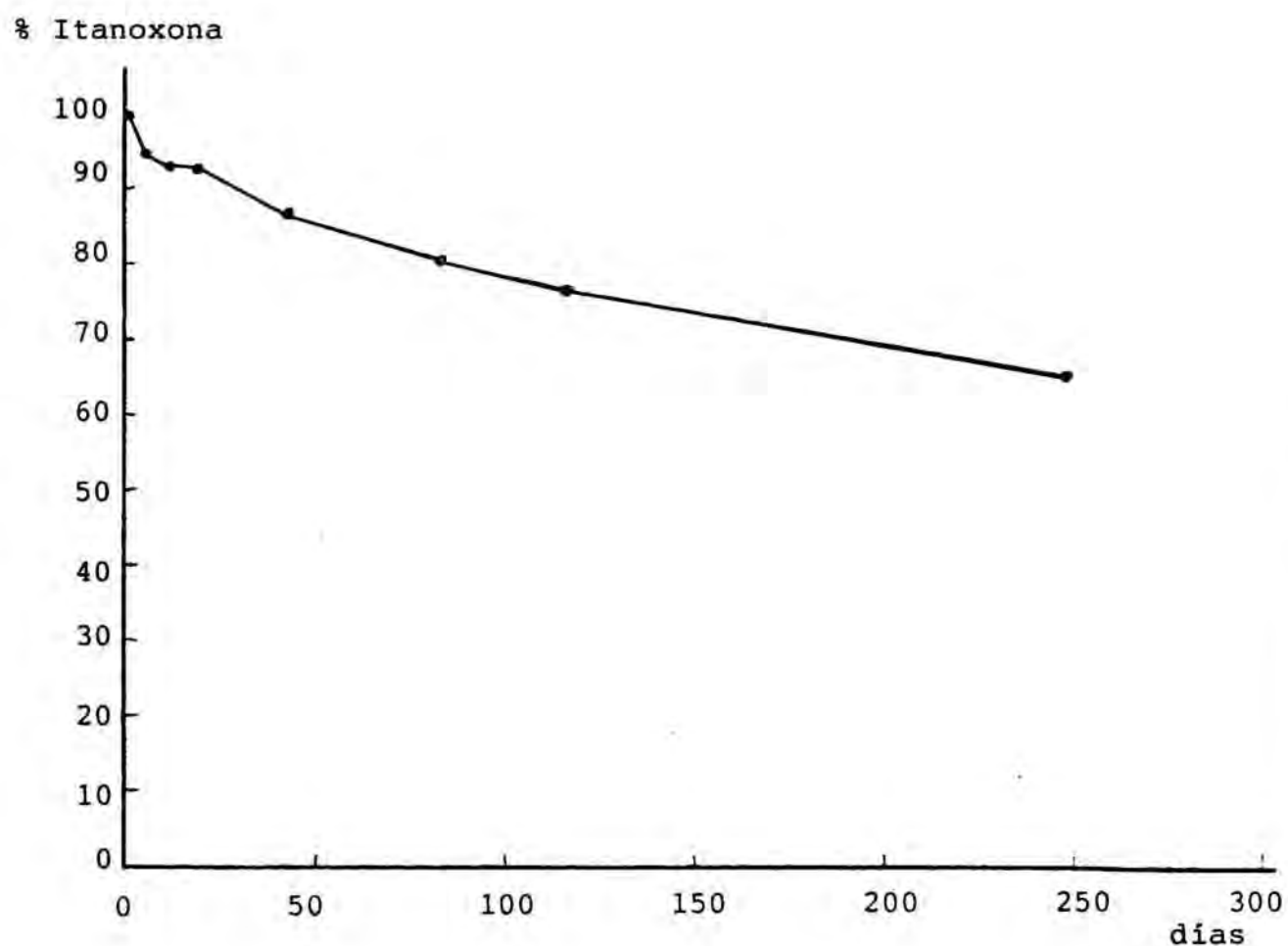


Figura 115: Degradación de Itanoxona adsorbida sobre lactosa a 70°C. En la representación se muestra el % de Itanoxona remanente frente al tiempo.

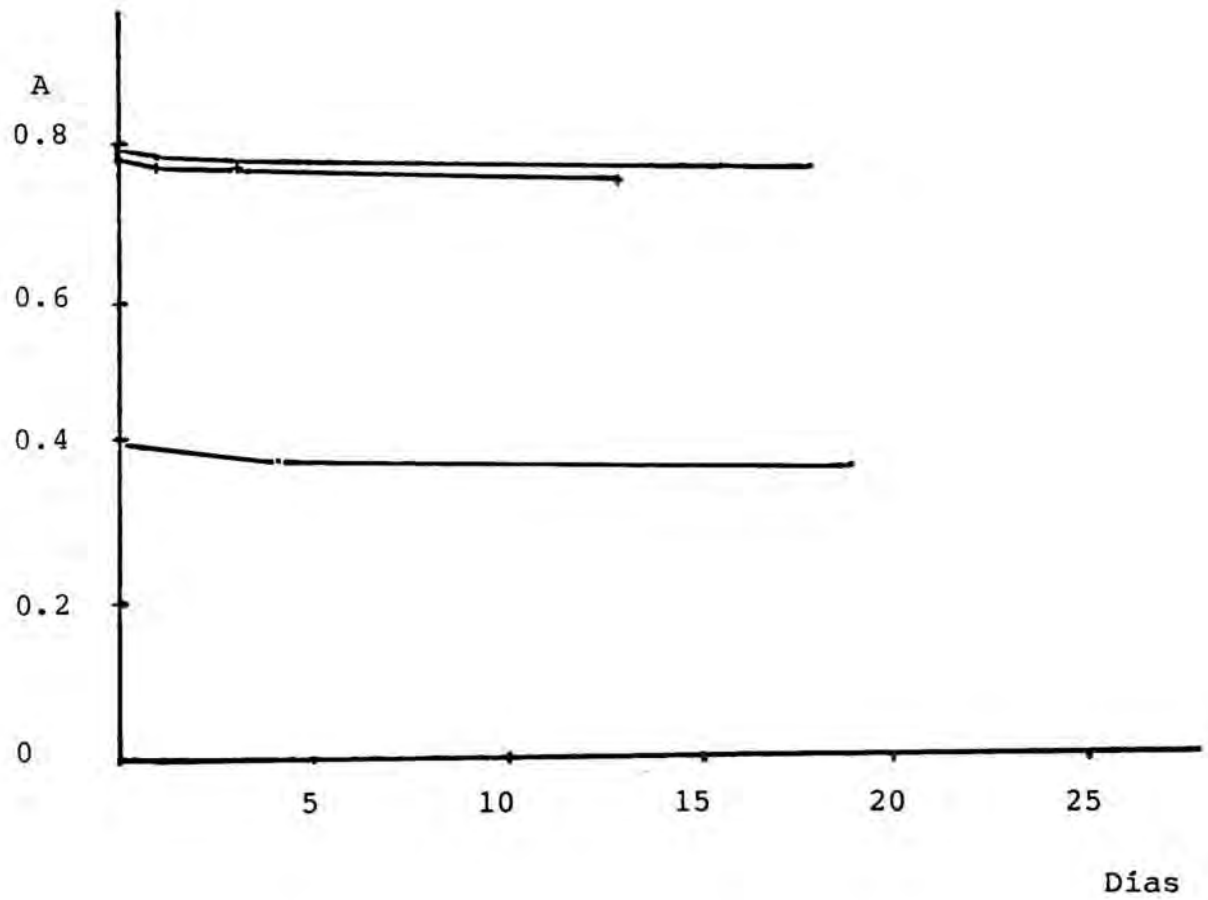


FIGURA 116.

Al objeto de establecer una previsión de estabilidad a 25°C, es prudente prescindir de las primeras fases más rápidas, pero que afectan a una parte muy pequeña de la concentración inicial y considerar el proceso ulterior de la degradación, intentando aplicar la ecuación de Arrhenius para predecir la estabilidad a 25°C, a la parte más significativa de la curva de degradación que es la inmediatamente posterior a la primera fase rápida.

Se ha intentado tratar todo el conjunto de la degradación como si se tratase de una degradación de orden cero o uno, obteniéndose resultados poco satisfactorios. Por razones teóricas consideramos más razonable aplicar los criterios de orden 1, ya que se trata de procesos dependientes de la concentración molecular.

Un tratamiento general de orden 1 revela que la constante de velocidad es progresivamente decreciente (Figura 117).

Se han considerado los intervalos que afectan mayoritariamente la descomposición inicial, despreciando como se ha dicho las primeras fases rápidas, y se ha calculado la K de primer orden deducida de la descomposición en este intervalo.

A partir de las constantes de velocidad aparente obtenidas y por aplicación de la ecuación de Arrhenius se ha obtenido por extrapolación (figura 118) la velocidad inicial que afectaría una descomposición a 25°C.

El tiempo de validez aproximado que corresponde a este valor de K_{25} es de unos 6 años, lo que representa técnicamente que la caducidad es superior al límite máximo permitido de 5 años, y que el excipiente no comporta ninguna limitación a esta caducidad máxima establecida.

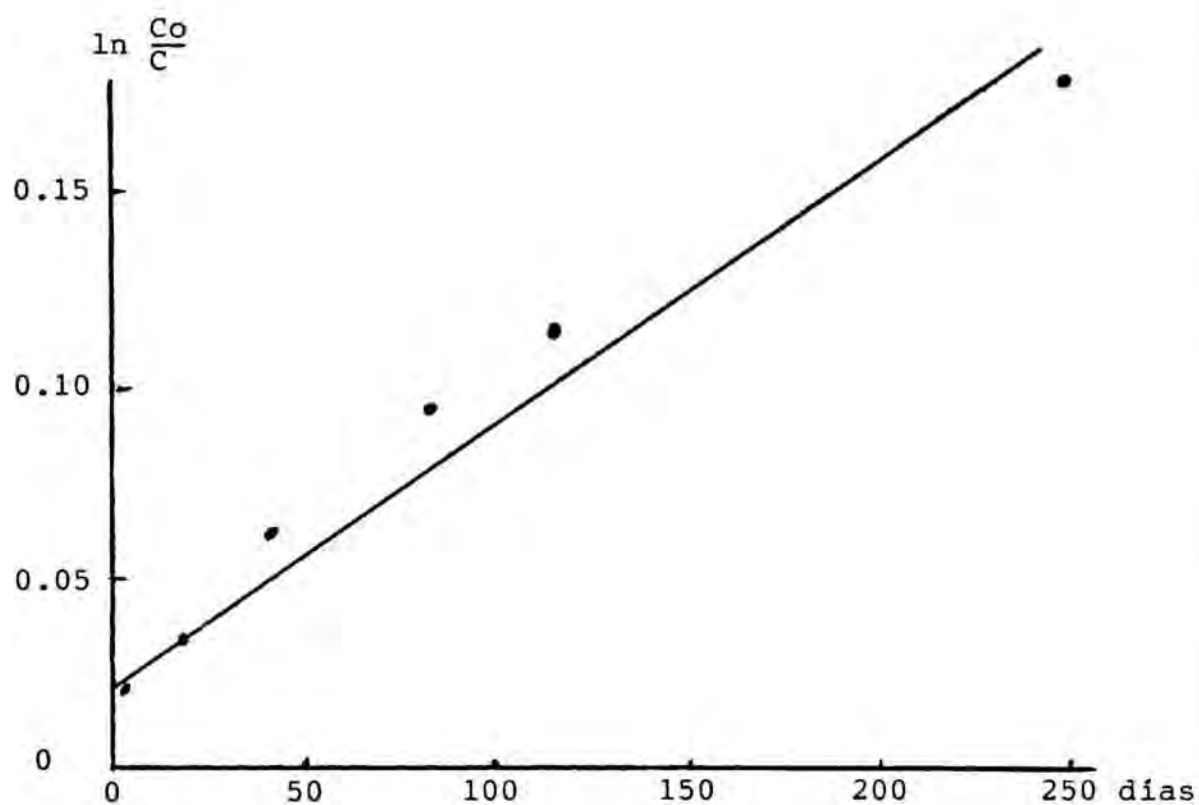
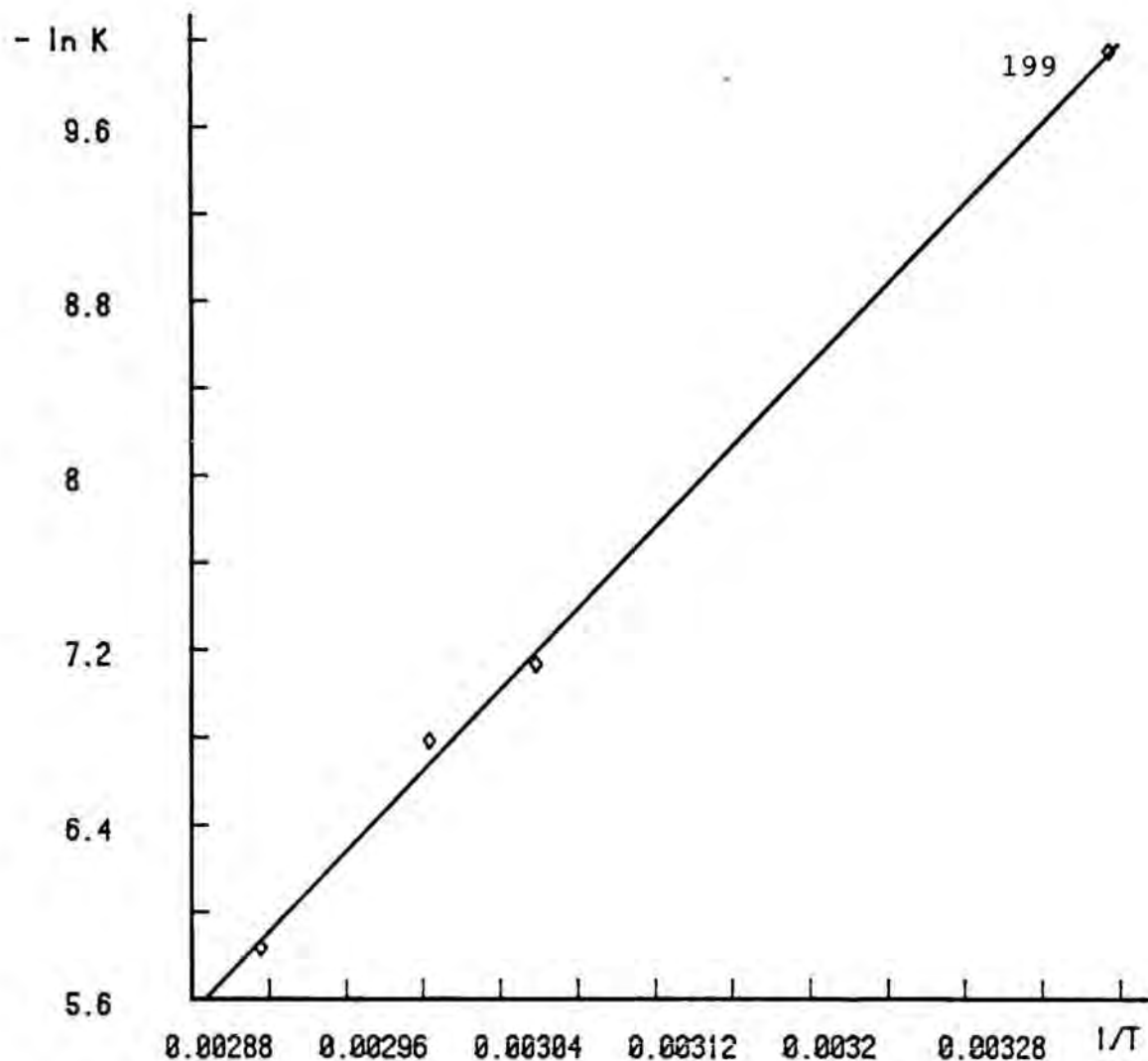


Figura 117: Degradación de Itanoxona en lactosa a 70°C. El tratamiento general de orden 1 revela que la constante de velocidad aparente es progresivamente decreciente.



$$- \ln K = -21.11053 + 9252.24487 * 1/T$$

$$K_{25} = 4.83 \cdot 10^{-5}$$

T (°C)	1/T (°K)	K	- ln K
70	$2.915 \cdot 10^{-3}$	0.00295	5.825
60	$3.003 \cdot 10^{-3}$	0.001145	6.7717
54	$3.058 \cdot 10^{-3}$	0.000806	7.1228

FIGURA 118: Cálculo de la K_{25} para la degradación de Itanoxona sobre lactosa. El tiempo en que se degradaría el 10% a 25°C es de 5.93 años.

5.2.2.2. Estabilidad sobre celulosa microcristalina.

Método.

Se ha seguido la misma técnica descrita para la estabilidad sobre lactosa, sobre una muestra de celulosa microcristalina para uso farmacéutico.

Se han realizado las degradaciones a temperaturas controladas de 54, 60 y 70 °C.

Resultados.

En las tablas 119 a 121, y figuras 122 a 124, se dan los resultados obtenidos, de los que se desprende que también existe un proceso degradatorio inicial rápido que solo afecta a las primeras fases del proceso, y que tiene una incidencia progresivamente menor a medida que se consideran temperaturas más bajas. Es posible en este caso realizar el mismo tratamiento que en las degradaciones sobre placas de silica-gel, dando dos velocidades para cada degradación, una rápida y otra lenta, y el porcentaje de producto inicial afectado por cada una de ellas (figura 125 y tabla 126).

A la vista de estos datos resulta un tanto difícil hacer una previsión de estabilidad a 25°C. La aplicación de la ecuación de Arrhenius a los procesos rápidos y lentos resulta bastante satisfactoria, pero es en cambio difícil predecir la fracción que se descompone a cada una de las velocidades consideradas.

Para obtener una idea de dicha estabilidad se ha realizado una extrapolación de los porcentajes calculados en cada una de las temperaturas ensayadas, a la temperatura de 25°C, aunque la correlación en este caso sea poco satisfactoria. De todas maneras se pone de manifiesto un periodo de validez

tiempo (días)	Absorbancias		
	Itanoxona	Prod. 3	Prod. 1
0	0.450	0.020	0.000
1	0.350	0.020	0.020
4	0.300	0.030	0.060
7	0.275	0.020	0.060
10	0.270	0.030	0.092
14	0.250	0.020	0.065
17	0.230	0.020	0.065
21	0.220	0.020	0.050

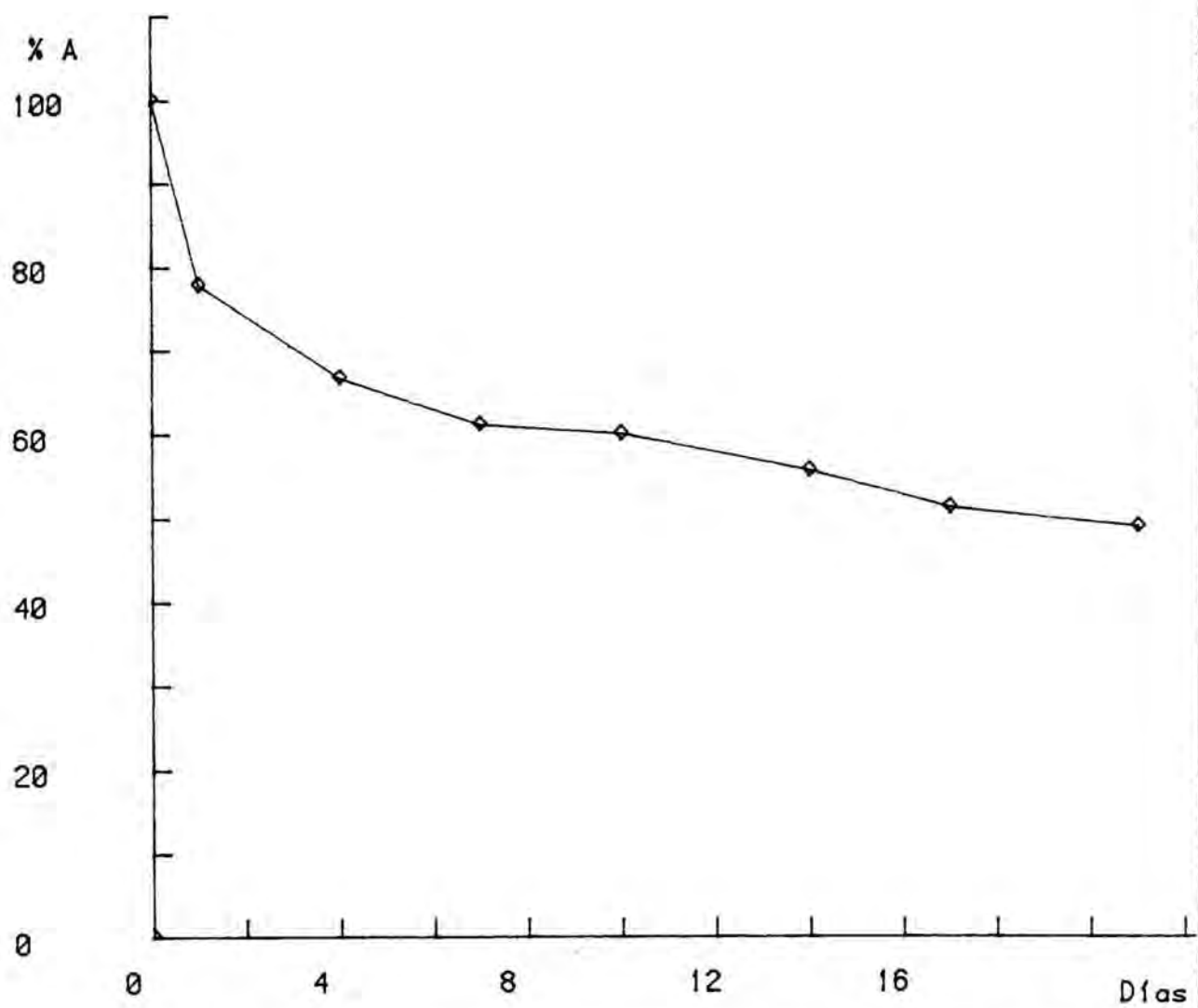
TABLA 119 · Degradación a 70 °C de la Itanoxona sobre soporte de celulosa microcristalina

tiempo (días)	Absorbancias		
	Itanoxona	Prod. 3	Prod. 1
0	0.464	0.040	0.000
1	0.420	0.040	0.020
3	0.384	0.066	0.050
6	0.350	0.066	0.050
9	0.330	0.070	0.020
13	0.320	0.060	0.020
17	0.320	0.060	0.058
22	0.310	0.050	0.030

TABLA 120 Degradación a 60 °C de la Itanoxona sobre soporte de celulosa microcristalina.

tiempo (días)	Absorbancias		
	Itanoxona	Prod. 3	Prod. 1
0	0.430	0.004	0.000
1	0.405	0.004	0.002
4	0.390	0.022	0.070
7	0.370	0.020	0.045
10	0.360	0.030	0.070
14	0.350	0.020	0.040
17	0.340	0.020	0.040
21	0.335	0.020	0.030

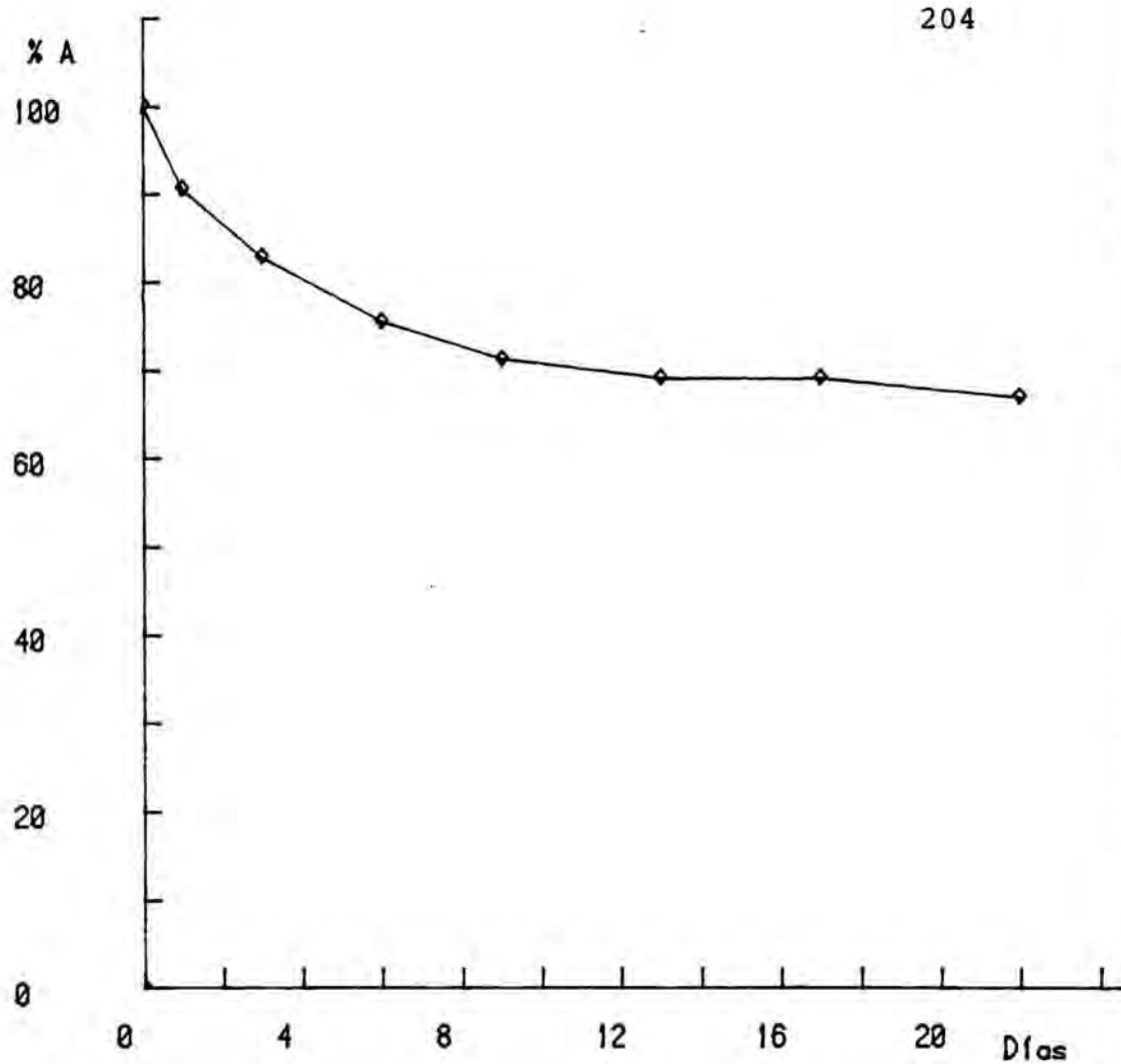
TABLA 121: Degradación a 54 °C de la Itanoxona sobre soporte de celulosa microcristalina.



ESTABILIDAD DE ITANOXONA SOBRE CELULOSA MICROCRISTALINA A 70°C

TIEMPO (días)	% ITANOXONA REMANENTE(%A)
0	100.00
1	77.77
4	66.66
7	61.11
10	60.00
14	55.55
17	51.11
21	48.88

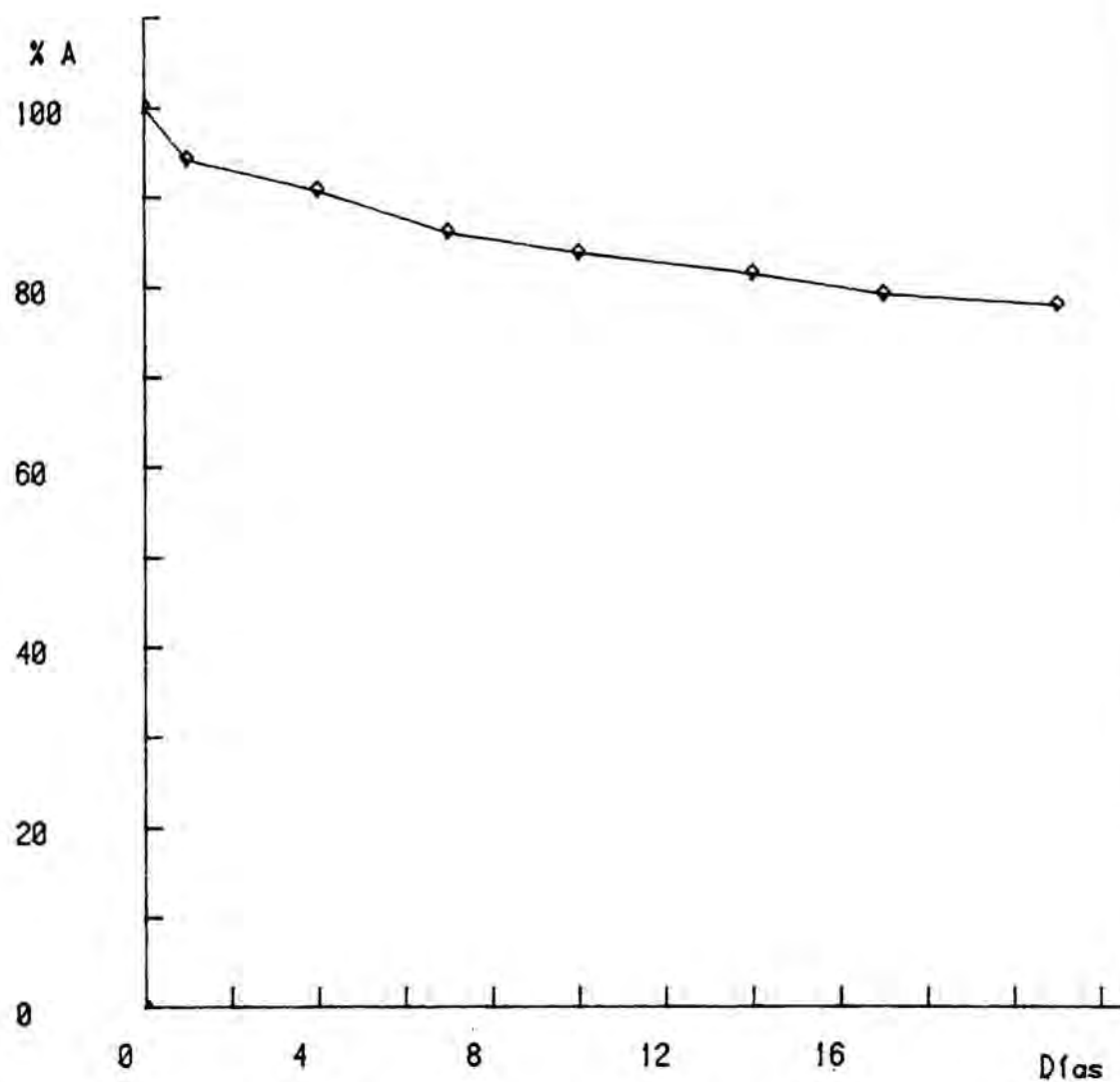
FIGURA 122.



ESTABILIDAD DE ITANOXONA SOBRE CELULOSA MICROCRISTALINA A 60°C.

TIEMPO (días)	% ITANOXONA REMANENTE(%A)
0	100.00
1	90.51
3	82.75
6	75.43
9	71.12
13	68.96
17	68.96
22	66.81

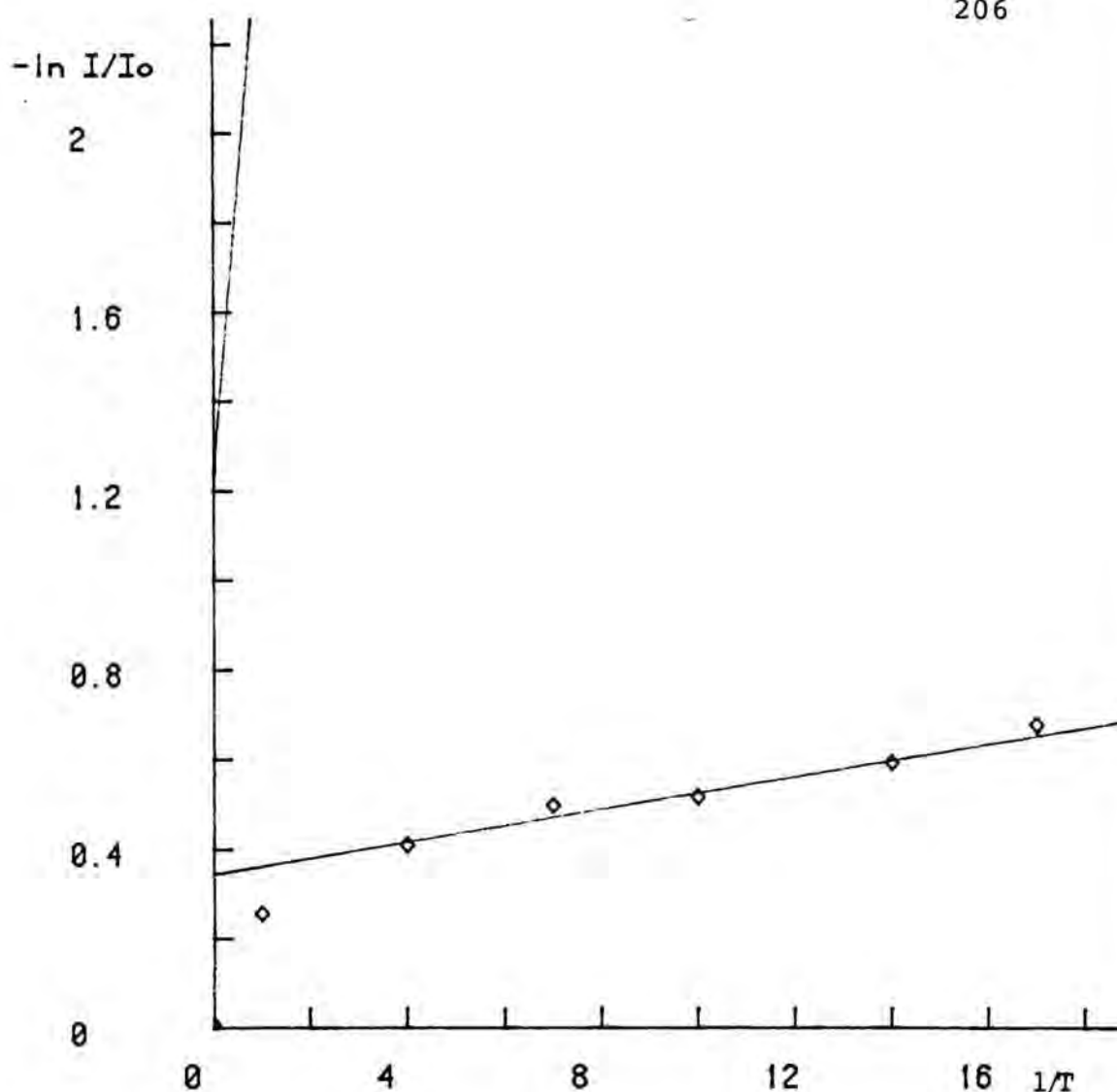
FIGURA 123.



ESTABILIDAD DE ITANOXONA SOBRE CELULOSA MICROCRISTALINA A 54 C.

TIEMPO (días)	% ITANOXONA REMANENTE(%A)
0	100.00
1	94.18
4	90.69
7	86.04
10	83.72
14	81.39
17	79.06
21	77.90

FIGURA 124.



FASE LENTA: $-\ln(I/I_o) = 0.34313 + 0.01814 t$

FASE RAPIDA: $-\ln(I/I_o - f) = 1.23631 + 1.27714 t$

f : componente de la fase lenta I/I_o para t .

$$I/I_o = 0.29045 e^{-1.27714 t} + 0.70954 e^{-0.01814 t}$$

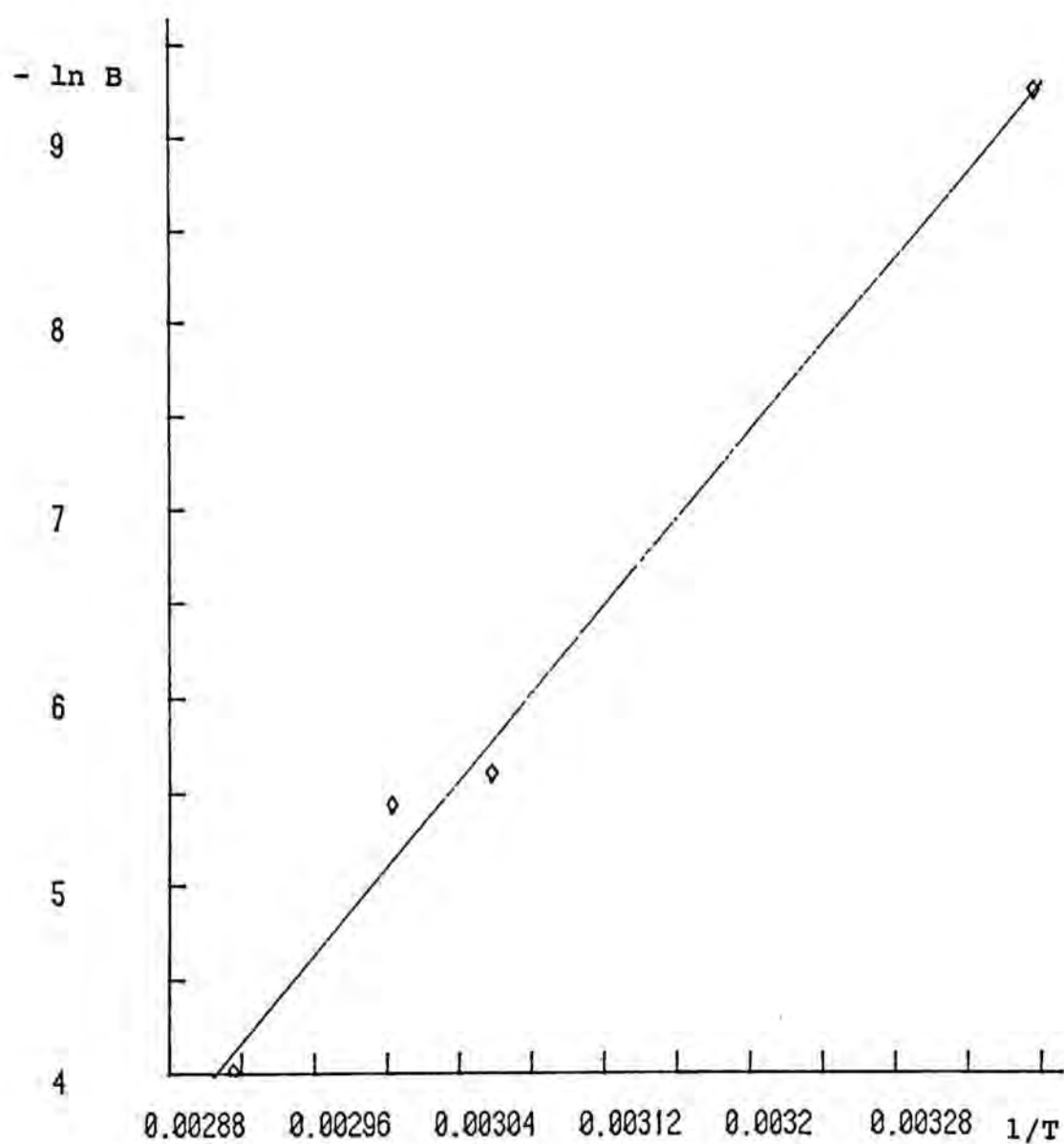
FIGURA 125: Cálculo de la ecuación para la degradación de Itanoxona sobre celulosa microcristalina a 70°C, en dos fases, una lenta y otra rápida.

T °C	FASE LENTA		FASE RAPIDA		t_{90} días	DESVIA. ESTANDAR
	b	m	b	m		
70	0.34313	0.01814	1.23631	1.27714	0.314	0.00733
60	0.30495	0.00438	1.37375	0.32248	1.445	0.00804
54	0.17188	0.00370	1.97143	0.16597	5.32	0.00941
25	-0.13765	$9.77 \cdot 10^{-5}$	3.28127	0.00215	812	-

TABLA 126: Parametros de las ecuaciones de degradación de Itanoxona sobre celulosa microcristalina a las diferentes temperaturas y su extrapolación a 25°C.

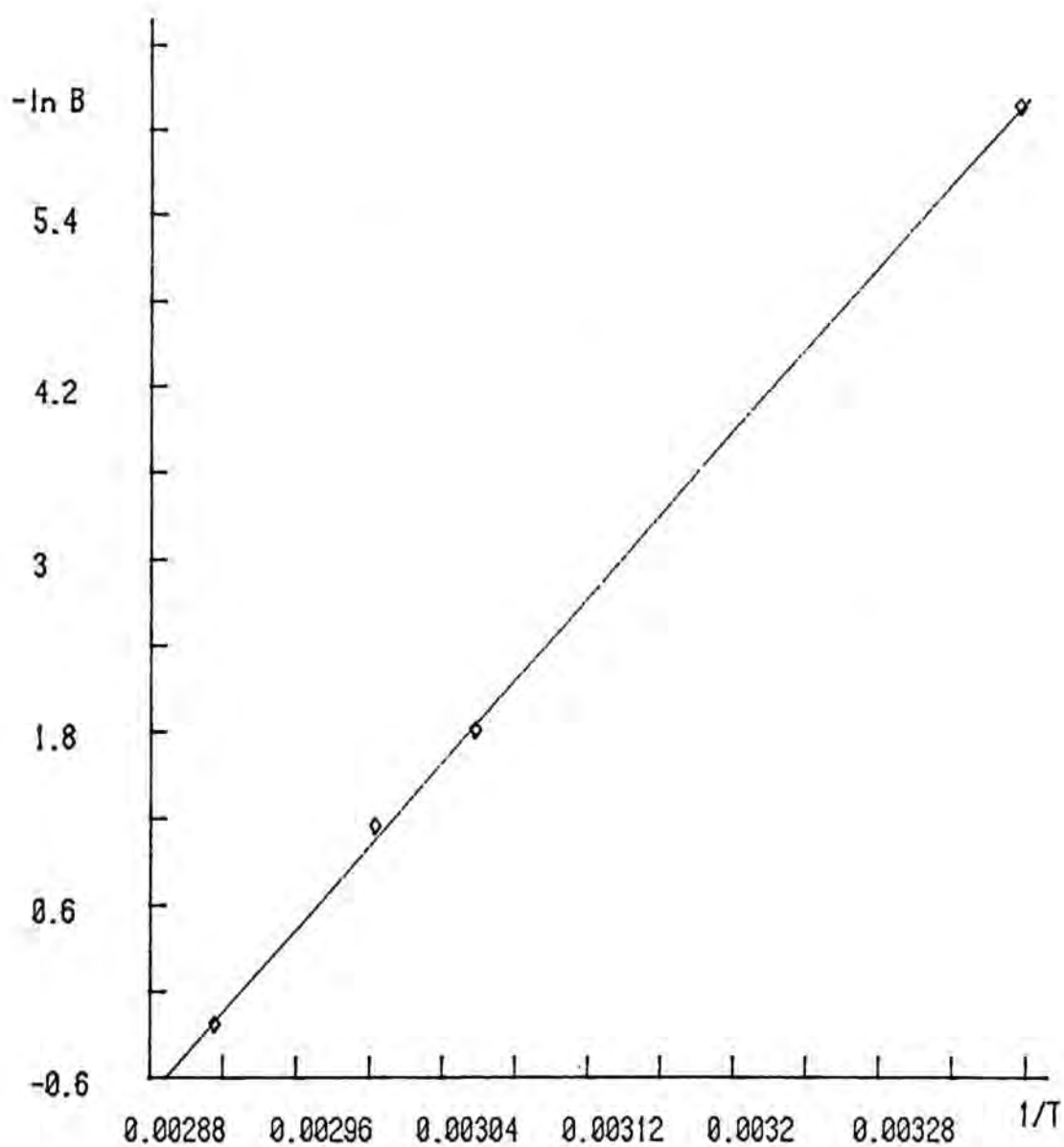
aceptable del orden de 2 años, que probablemente en la realidad sería superior (Figuras 127 y 128).

Los productos de degradación que se han podido detectar son el producto 1 y el producto 3. No habiéndose detectado ningún producto distinto de los ya conocidos.



$$-\ln B = -29.72606 + 11610.01250 * 1/T$$

FIGURA 127: Cálculo de B a 25°C por aplicación de la ecuación de Arrhenius, para la fase lenta.



$$-\ln B = -42.29479 + 14433.97396 * 1/T$$

FIGURA 128: Cálculo de B a 25°C por aplicación de la ecuación de Arrhenius, para la fase rápida.

5.2.2.3. Estabilidad sobre estearato de magnesio.

Método.

Se ha seguido la misma técnica descrita para la estabilidad sobre lactosa, sobre una muestra de estearato de magnesio.

Se han realizado las degradaciones a temperaturas controladas de 54, 60 y 70 °C.

Resultados.

Se dan en las tablas 129 a 131 los resultados obtenidos al analizar la muestra de estearato magnésico que contiene la Itanoxona degradada en función del tiempo (Figuras 132 a 134).

Se observa que la velocidad de degradación sobre este soporte es elevada y que los productos de degradación que se pueden detectar son el producto 3 y el producto 1, pero no el producto a, cuya presencia en soportes de silicagel y lactosa es siempre perceptible.

Se ha intentado tratar estos resultados como si fuera una cinética de primer orden poniéndose de manifiesto una clara falta de linealidad (figura 135). No obstante y con el fin de poder predecir la estabilidad a 25°C. Se han considerado tan solo las velocidades iniciales del proceso de degradación que son las que pueden afectar el primer 10% de alteración.

Representando los logaritmos neperianos de las constantes aparentes de primer orden en las primeras fases del proceso frente a la inversa de la temperatura, se ha construido un diagrama que ha permitido,

TIEMPO días	ABSORBANCIAS		
	Prd. 1	Itanox.	Prd. 3
0	0.012	0.726	0.066
0.84	0.055	0.554	0.023
1.94	0.065	0.485	0.047
2.95	0.108	0.470	0.060
3.94	0.110	0.448	0.050
7.96	0.112	0.378	0.030
11.04	0.135	0.340	0.043

Tabla 129: Estudio de estabilidad de Itanoxona en estearato magnésico a 54°C.

TIEMPO días	ABSORBANCIAS		
	Prd. 1	Itanox.	Prd. 3
0	Trazas	0.725	0.046
0.85	0.131	0.455	0.033
1.80	0.168	0.370	0.035
2.80	0.160	0.325	0.092
3.86	0.192	0.323	0.057
6.85	0.182	0.250	0.056
8.80	0.180	0.222	0.060
13.80	0.188	0.220	0.052

Tabla 130: Estudio de estabilidad de Itanoxona en estearato magnésico a 60°C.

TIEMPO días	ABSORBANCIAS		
	Prd. 1	Itanox.	Prd. 3
0	Trazas	0.415	0.046
0.80	0.125	0.100	0.055
1.90	0.095	0.059	0.050
2.80	0.081	0.050	0.045
6.98	0.037	0.023	0.054
10.90	0.035	0.022	0.174

Tabla 131: Estudio de estabilidad de Itanoxona en estearato magnésico a 70°C.

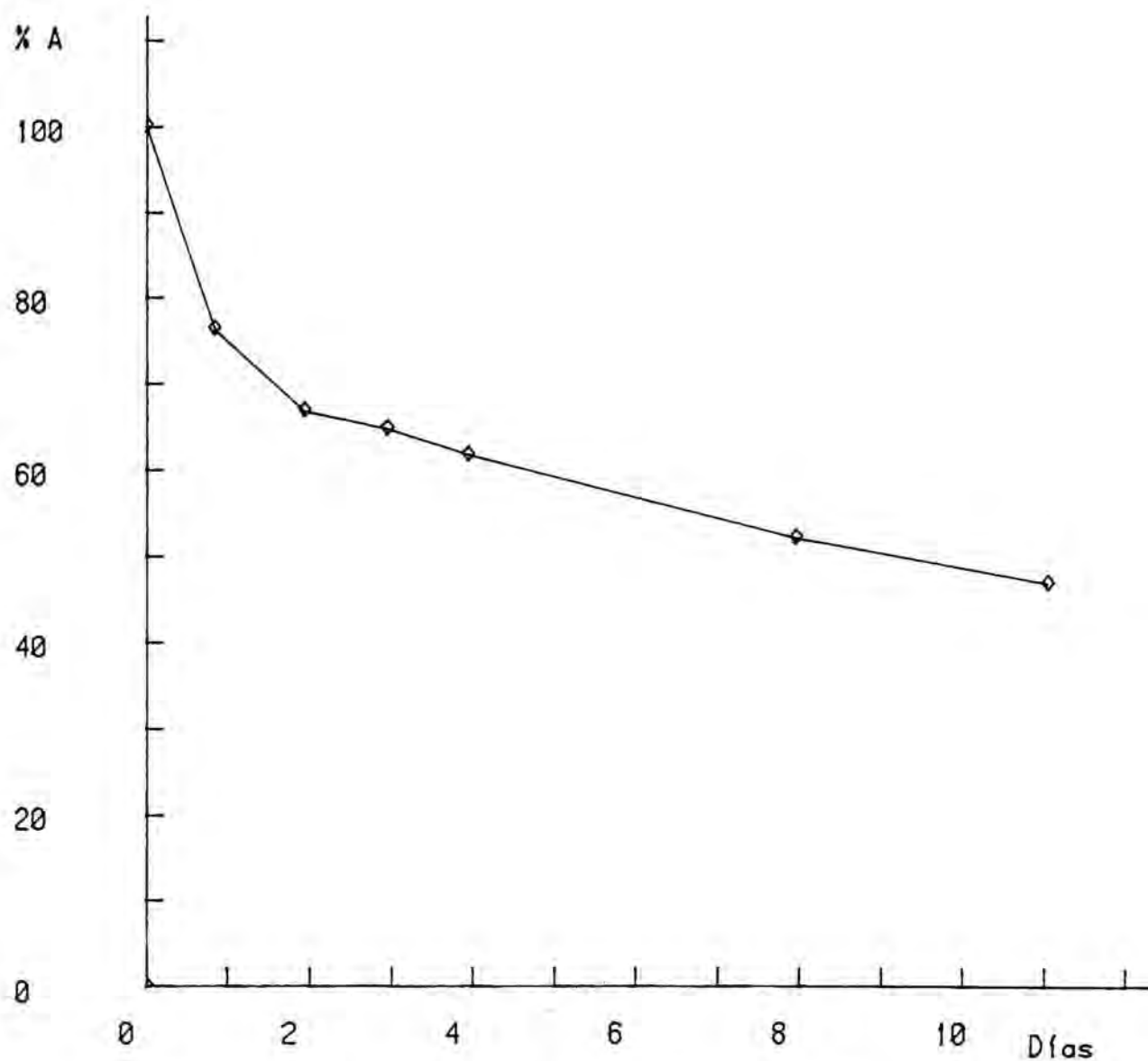
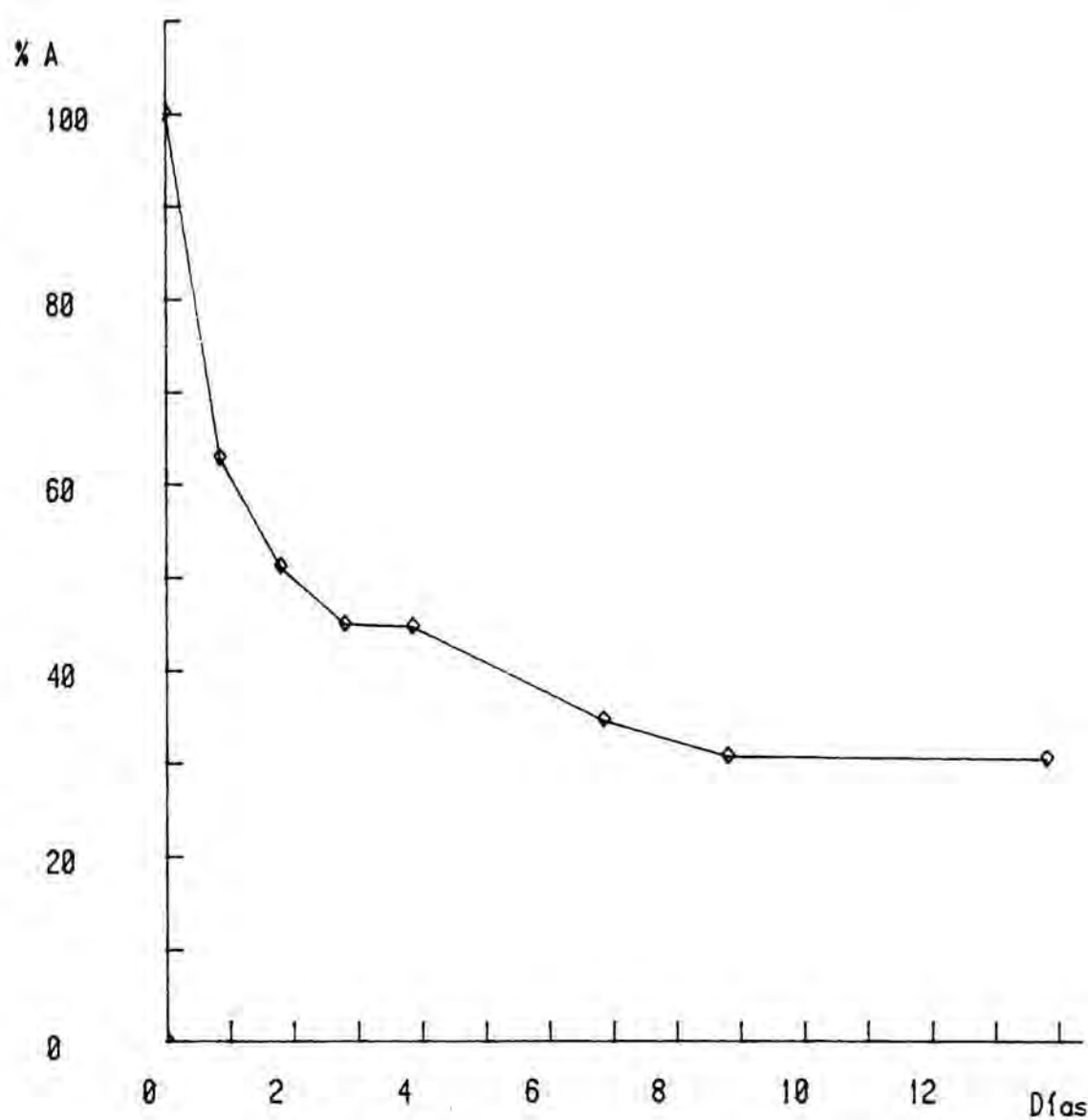


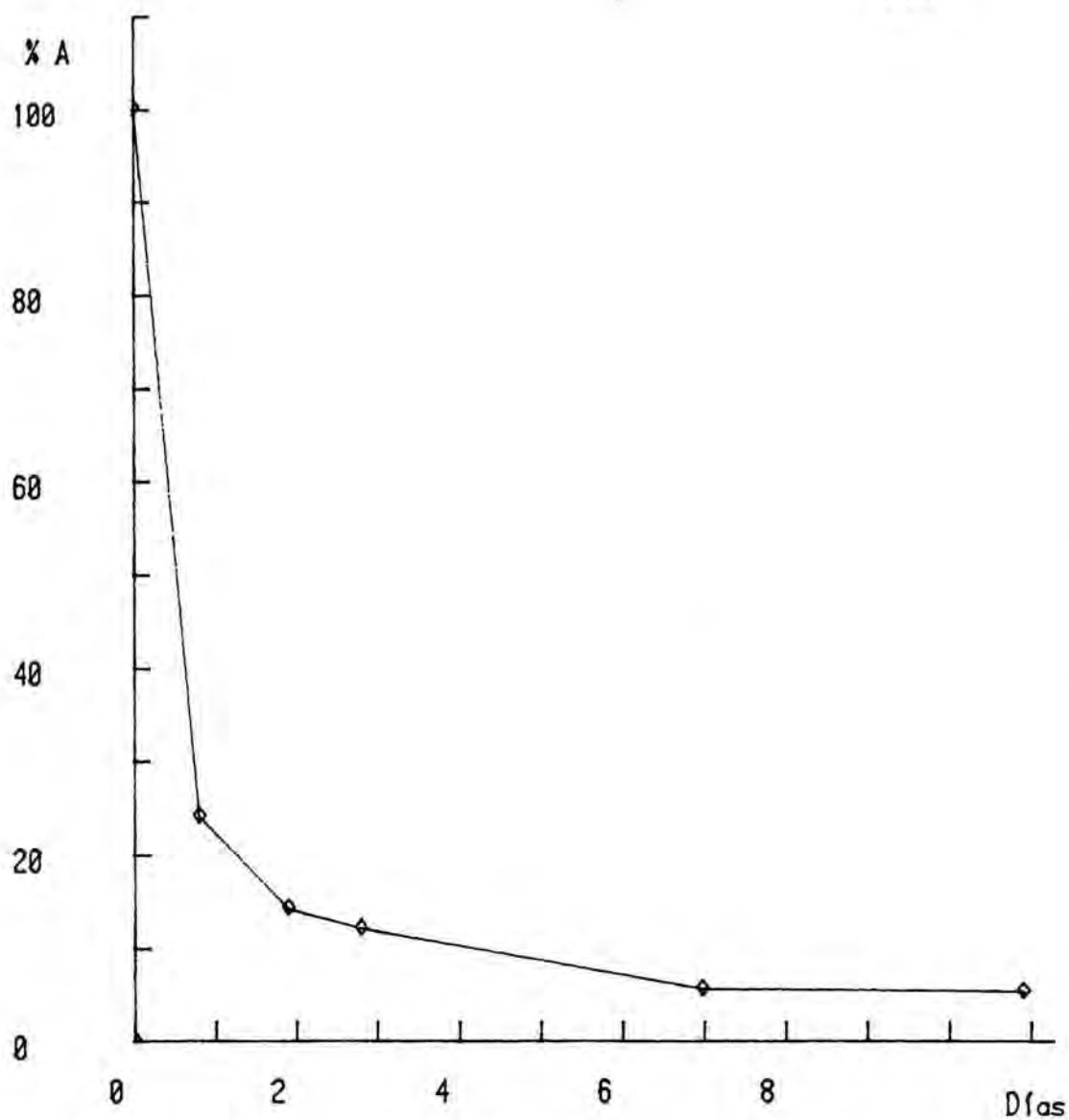
FIGURA 132: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE ESTEARATO DE MAGNESIO A 54°C.

TIEMPO días	% ITANOXONA REMANENTE
0	100
0.84	76.30
1.94	66.80
2.95	64.73
3.94	61.70
7.96	52.06
11.04	46.83



TIEMPO días	% ITANOXONA REMANENTE
0	100
0.85	62.75
1.8	51.03
2.8	44.82
3.86	44.55
6.85	34.48
8.8	30.62
13.8	30.34

FIGURA 133: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE ESTEARATO DE MAGNESIO A 60°C.



<u>TIEMPO</u> <u>días</u>	<u>% ITANOXONA</u> <u>REMANENTE</u>
0	100
0.8	24.0
1.9	14.2
2.8	12.0
6.98	5.54
10.9	5.30

FIGURA 134: DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE ESTEARATO DE MAGNESIO A 70°C.

por extrapolación y suponiendo aplicable la ecuación de Arrhenius al sistema estudiado. Se observa una clara falta de linealidad.

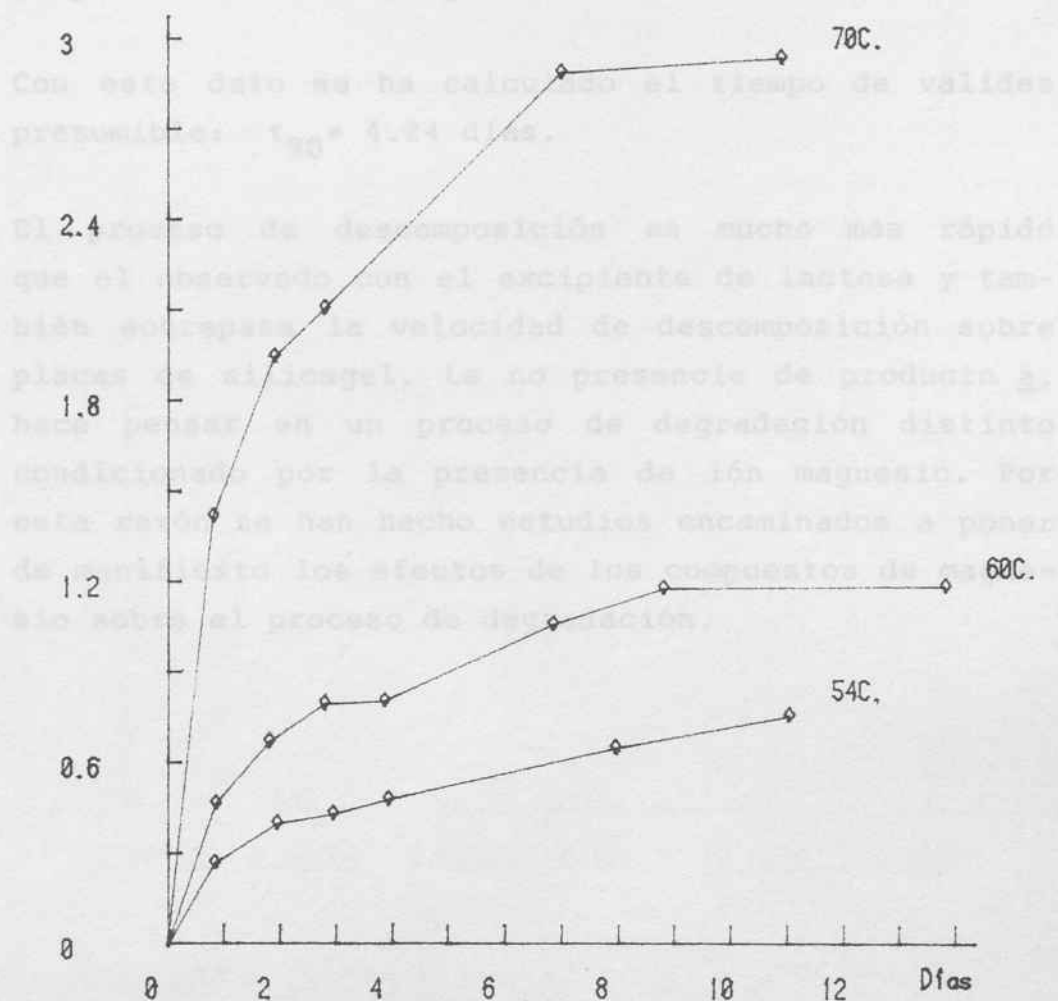
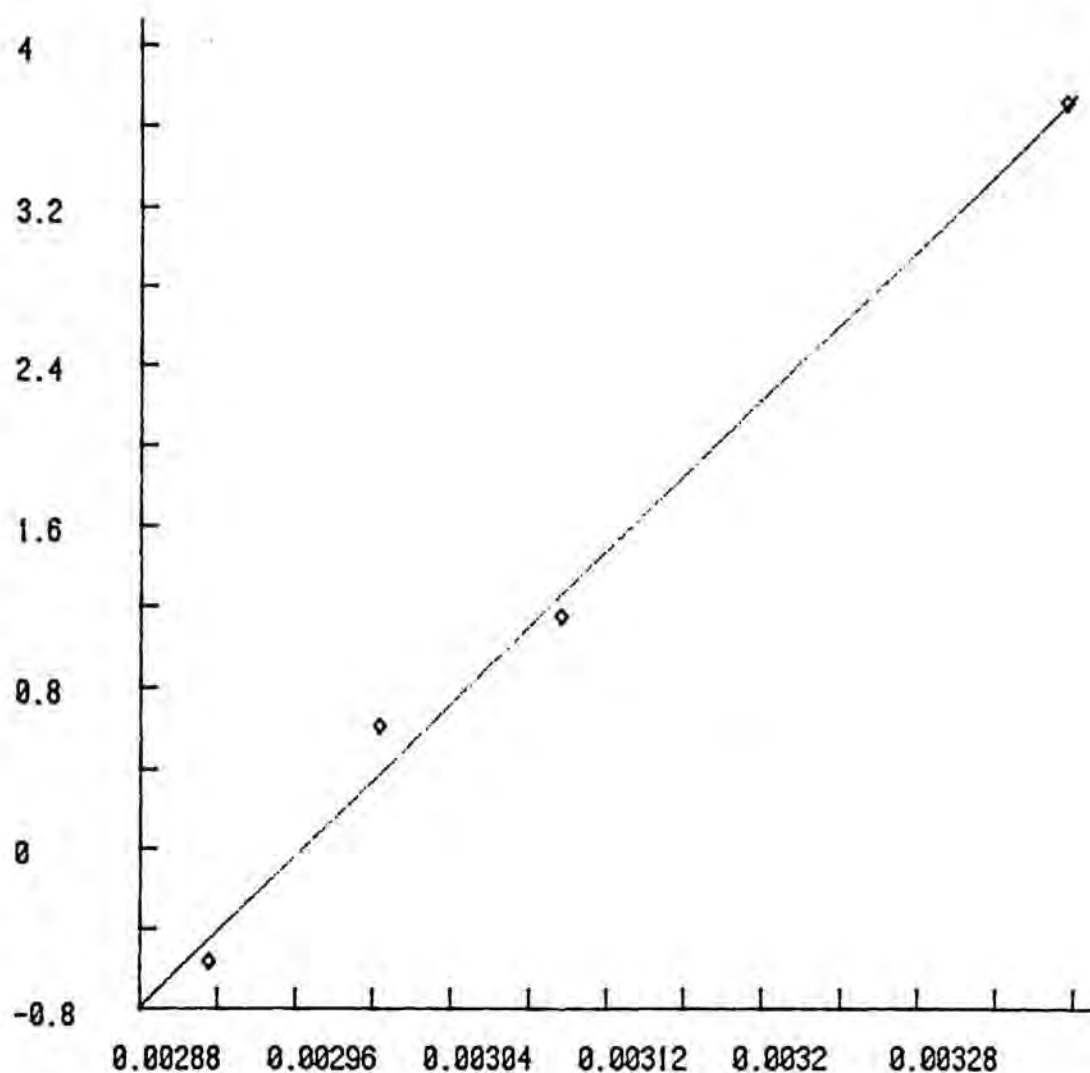


FIGURA 135: Degradaciones de Itanoxona sobre estearato de magnesio a diferentes temperaturas, representando $\ln(C_0/C)$ frente al tiempo en días. Se observa una clara falta de linealidad.

por extrapolación y suponiendo aplicable la ecuación de Arrhenius, predecir la velocidad inicial de descomposición a 25°C (figura 136).

Con este dato se ha calculado el tiempo de validez presumible: $t_{90} = 4.24$ días.

El proceso de descomposición es mucho más rápido que el observado con el excipiente de lactosa y también sobrepasa la velocidad de descomposición sobre placas de silicagel. La no presencia de producto a, hace pensar en un proceso de degradación distinto condicionado por la presencia de ión magnesio. Por esta razón se han hecho estudios encaminados a poner de manifiesto los efectos de los compuestos de magnesio sobre el proceso de degradación.



$$G(Y) = -27.95306 + 9431.33061 * F(X)$$

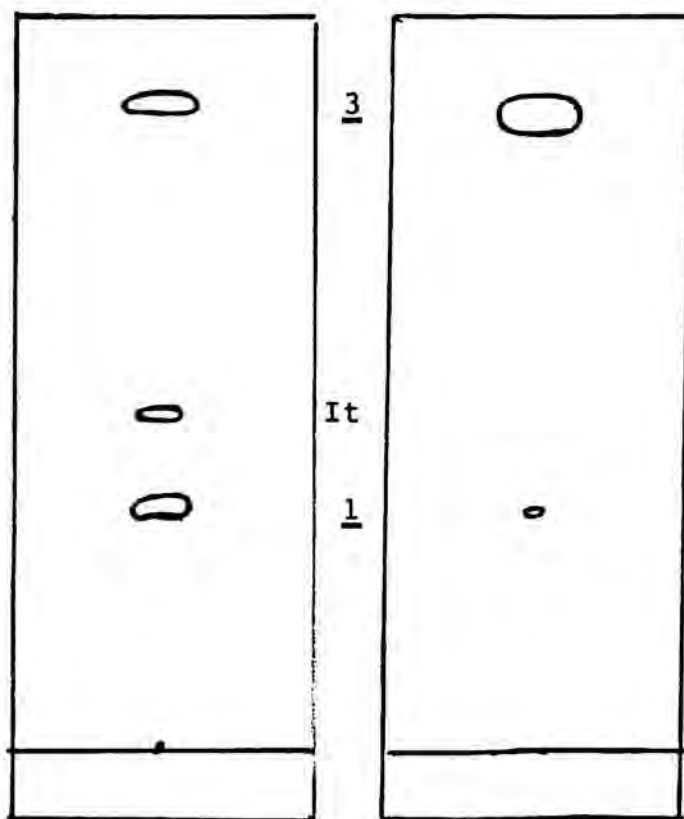
<u>PUNTO N^om.</u>	<u>1/T</u>	<u>-ln K</u>
1	0.00291	-0.57598
2	0.00300	0.60132
3	0.00309	1.13355
4	0.00335	3.69569

FIGURA 136 : DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE ESTEARATO MAGNESICO

$$K = 0.02483$$

5.2.2.4. Estabilidad sobre soportes de Oxido de Magnésio.

Se ha realizado un estudio de estabilidad sobre óxido de magnésio. La velocidad de degradación en este soporte es tan enormemente rápida que resulta difícil su control, ya que las manipulaciones para obtener el polvo seco impregnado de Itanoxona llevan consigo a la práctica desaparición del producto de partida con formación de los productos 1 y 3. No obstante la cantidad de producto 1 es muy pequeña



Cromatograma del
tiempo cero.

Cromatograma a
las 22 h a 70°C

5.2.2.5 Estabilidad de solución etanólica de Itanoxona en presencia de Sulfato Magnésico en suspensión.

Método.

Se ha preparado una disolución etanólica de Itanoxona (0.58 mg/ml) y se distribuye en dos tubos roscados conteniendo cada uno de ellos 15ml de la disolución.

En uno de ellos se ha introducido 30mg de sulfato magnésico que queda en suspensión.

Los dos tubos se introducen en una estufa a 70°C y de ellos se toma muestra a distintos tiempos, siguiendo la metodología de valoración general, se controla la Itanoxona remanente y los productos de degradación formados. Estableciendo un estudio comparativo al objeto de ver el efecto de la pequeña cantidad de sulfato magnésico añadido.

Resultados.

Se dan en las tablas 137 y 138, y en la figura 139 los resultados obtenidos.

Al examinar estos resultados se observa que el máximo de concentración de 1 se da casi al mismo tiempo en las dos descomposiciones, pero su valor es muy distinto siendo netamente inferior en presencia de sulfato de magnesio.

La relación 1 /Itanoxona, cuando se alcanza la concentración máxima, son en ambas disoluciones del mismo orden, siendo ligeramente superior (3,6 frente 3,36) en ausencia de sulfato magnésico.

La degradación en presencia de sulfato magnésico

TIEMPO	ABSORBANCIAS				
Días - Horas	a	1	Itanoxona	3	0
0			0.648		
0.94- 22.50	0.027	0.208	0.450		
1.95- 46.70	0.051	0.310	0.305	0.033	
2.93- 70.45	0.070	0.363	0.240	0.043	
4.02- 96.45	0.054	0.383	0.183	0.058	
6.90-165.65	0.075	0.403	0.120	0.040	0.015
9.90-237.75	0.080	0.322	0.088	0.079	0.015
34.90-837.75	0.000	0.000	0.000	0.230	0.200

Fig.: 137.

Degradación de Itanoxona en solución etanólica en presencia de sulfato de magnesio a 70°C. (nº I).

TIEMPO	ABSORBANCIAS			
Días - Horas	a	1	Itanoxona	3
0			0.648	
0.94- 22.50		0.268	0.448	
1.95- 46.70		0.425	0.315	
2.93- 70.45		0.525	0.259	
4.02- 96.45		0.580	0.213	
6.90-165.65	0.033	0.652	0.180	
9.90-237.75	0.045	0.630	0.185	0.010

Fig.: 138.

Degradación de Itanoxona en solución etanólica a 70°C. Realizada paralelamente con otra (nº I) cuya única diferencia consiste en la presencia en suspensión de sulfato magnésico.

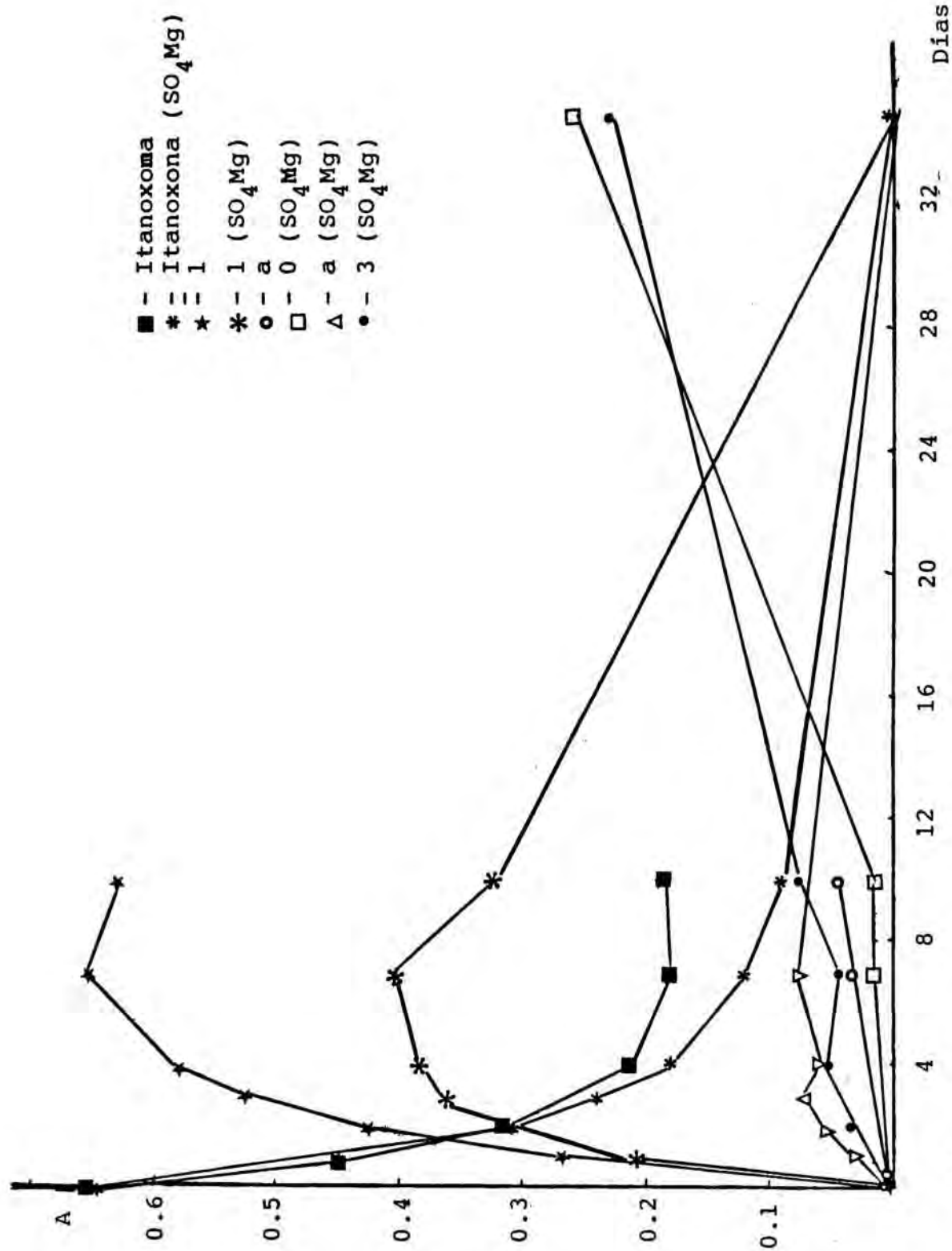


Fig.: 139

Estudio comparativo de las degradaciones de Itanoxona en etanol a 70°C en presencia y ausencia de sulfato magnésico.

es más rápida y completa como se pone de manifiesto en los cromatogramas a los 34,9 horas (Figl40).

En las primeras fases se observa un gran paralelismo en las dos degradaciones que contrasta con la marcada diferencia en las fases más avanzadas. De ello se puede sacar la consecuencia de que el magnesio influye más sobre la degradación del producto 1 que sobre la descomposición de la Itanoxona ya que su influjo no se manifiesta hasta que la cantidad de producto 1 es apreciable.

Los productos de degradación formados son muy parecidos en los dos casos quedando como productos finales 3, 0 pero el producto intermedio a cuya presencia al final es inapreciable pero que alcanza valores del orden de 0.08 de absorbancia en los primeros días, no queda totalmente bien identificado ya que si bien su Rf en el cromatograma es el que le corresponde presenta un espectro UV con un máximo a 249nm que no corresponde al que normalmente se ha constatado como producto a (270nm) aunque las absorbancias son pequeñas y las gráficas espectrales no son muy precisas, esta diferencia hace pensar que se trata de un producto distinto. En los productos 0 y 3 estas diferencias no se dan.

Para asegurar que el efecto del sulfato magnésico se debe realmente al ión magnesio y no al anión sulfato o a la presencia de sales insolubles. Se ha repetido la experiencia anterior sustituyendo el sulfato magnésico por sulfato cálcico. Los resultados obtenidos se dan en la tabla 141 y figura 142 demuestran que el sulfato cálcico no influye en la descomposición quedando con ello de manifiesto que la alteración observada en presencia de sulfato magnésico es debido al ión magnesio.

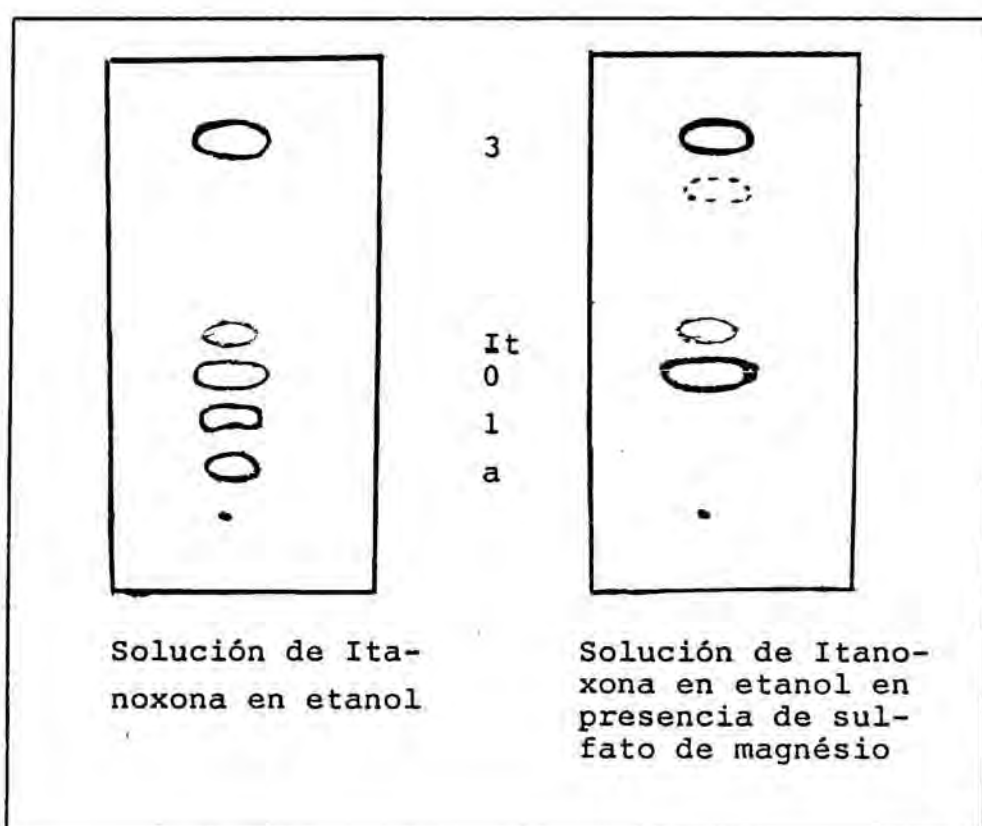


Figura 140:

En la figura se muestran los cromatogramas de dos degradaciones realizadas paralelamente con la única diferencia de la presencia en suspensión de sulfato magnésico en una de ellas. Los cromatogramas han sido realizados a las 34,9 horas.

TIEMPO		ABSORBANCIAS		
Días-Horas	Degradación de Itanoxona en etanol		Degradación de Itanoxona en etanol en presencia de sulfato de calcio.	
	0	1	Itanoxona 3	0 1 Itanoxona 3
0			0.650	0.650
0.9 - 21.3		0.245	0.425 0.043	0.247 0.410
1.9 - 44.9		0.390	0.313 0.043	0.380 0.310
2.9 - 68.9		0.450	0.230 0.060	0.445 0.240
3.9 - 92.9		0.481	0.193 0.049	0.468 0.198
6.9 - 165.9		0.520	0.171 0.062	0.541 0.172 0.025
8.9 - 213.0		0.500	0.150 0.048	0.515 0.156 0.015
10.9 - 261.0		0.478	0.147 0.050	0.490 0.153 0.015
20.0 - 480.0		0.017 0.370	0.098 0.069	0.010 0.407 0.120 0.023

TABLA 141:

Degradación comparativa de Itanoxona disuelta en etanol sola y en presencia de sulfato de calcio.
Degradación realizada a 70°C.

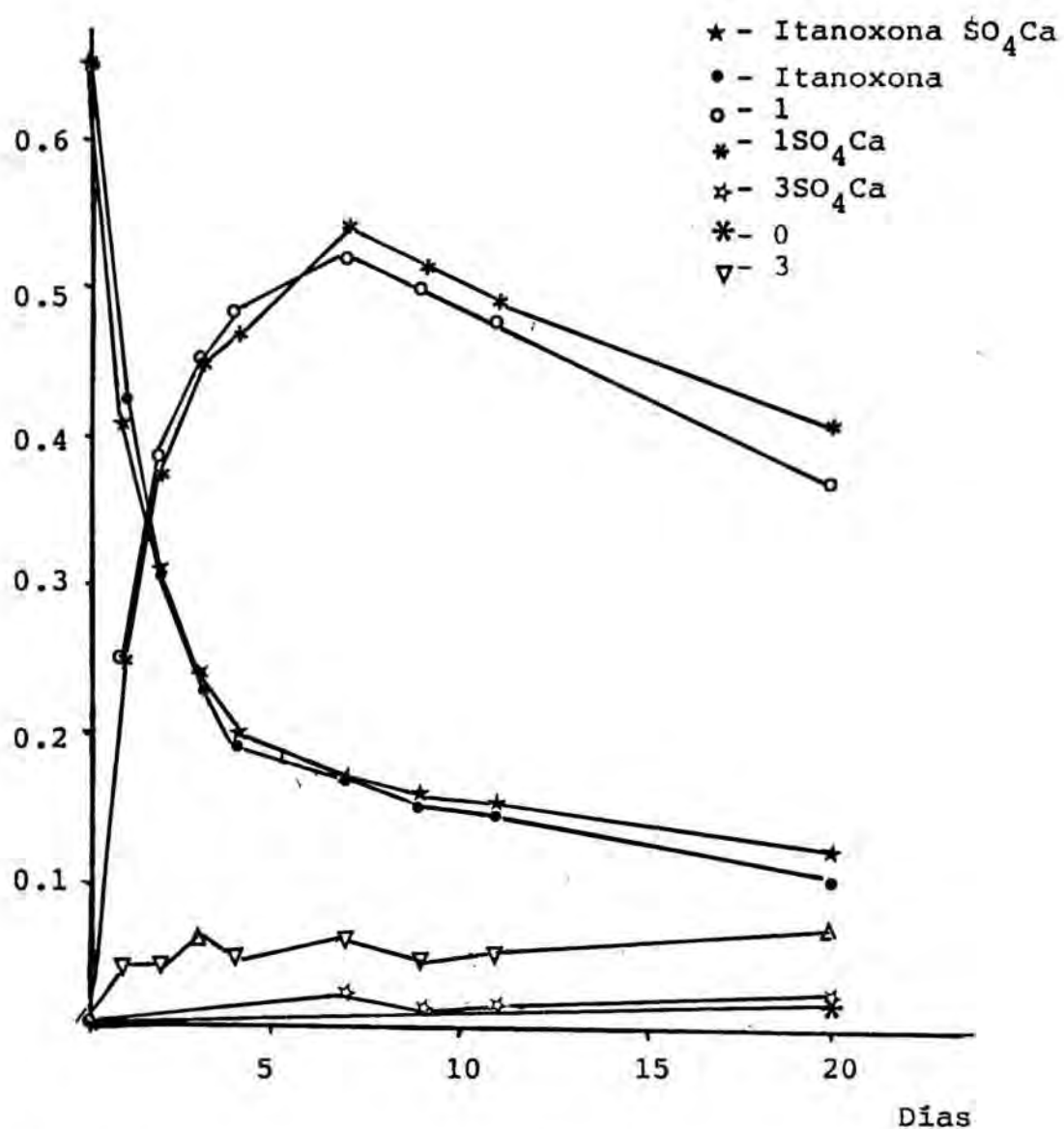


Fig.: 142

En la figura se muestra un estudio comparativo entre dos degradaciones de Itanoxona en etanol a 70°C , realizadas en paralelo, cuya diferencia consiste en la presencia o ausencia de sulfato cálcico en el medio.

5.2.2.6. Estabilidad sobre talco.

El efecto degradante del magnesio nos ha inducido a estudiar un excipiente de gran aplicación en tecnología farmacéutica y que es también un derivado magnésico, el talco ($(\text{Si}_2\text{O}_3)_4\text{OH}_4\text{Mg}$).

Método.

Se ha repetido la misma técnica que en el caso del estearato magnésico, utilizando como soporte sólido, una muestra de talco de calidad farmacéutica.

Resultados.

Los resultados obtenidos se muestran en las tablas 143, 144 y 145, y en las figuras 146 a 148.

Estos resultados ponen de manifiesto que el proceso de degradación es bastante rápido, presentándose también el característico fenómeno de una mayor velocidad inicial.

Es relativamente fácil caracterizar las velocidades rápidas y lentas de primer orden y los porcentajes afectados por una y otra a distintas temperaturas, pero los resultados no permiten limitar la previsión de estabilidad a la parte rápida únicamente, debiéndose efectuar un tratamiento parecido al que se ha efectuado en la celulosa microcristalina, calculando las velocidades rápida y lenta a 25°C por aplicación de la ecuación de Arrhenius (figuras 150 y 151) y el porcentaje afectado por una y otra a 25°C, siguiendo un criterio de extrapolación, por regresión lineal, que resulta ser poco satisfactorio pero que es el único aplicable (Tabla 149).

TIEMPO Días	ABSORBANCIAS		
	Itanoxona	Producto 3	Producto 1
0	0.424	0.02	-
1	0.302	0.02	0.064
3	0.190	0.02	0.060
7	0.172	0.02	0.062
11	0.150	0.04	0.072
15	0.125	0.02	0.070
18	0.115	0.02	0.070
21	0.110	0.02	0.070

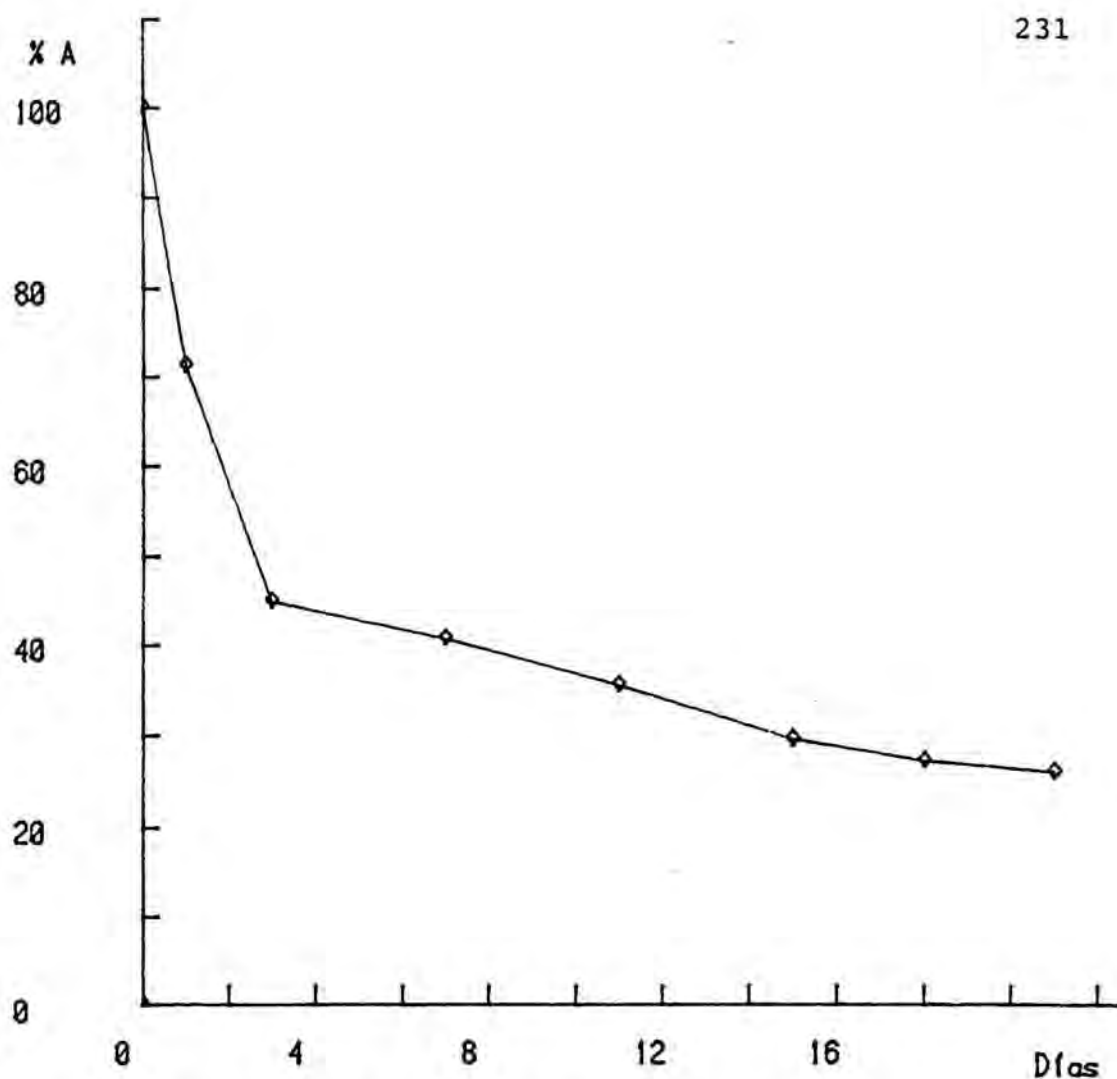
Tabla 143: Degradación de Itanoxona sobre talco (silicato de magnesio) a 70°C.

TIEMPO Días	ABSORBANCIAS		
	Itanoxona	Producto 3	Producto 1
0	0.462	0.060	-
1	0.350	0.070	0.040
3	0.290	0.060	0.044
6	0.256	0.080	0.040
9	0.220	0.080	0.050
13	0.195	0.080	0.052
17	0.170	0.082	0.082
22	0.150	0.080	0.075

Tabla 144: Degradación de Itanoxona sobre talco a 60°C

tiempo (días)	Absorbancias		
	Itanoxona	Prod. 3	Prod. 1
0	0.424	0.004	0.000
1	0.340	0.004	0.020
3	0.302	0.020	0.020
7	0.275	0.025	0.025
11	0.240	0.060	0.070
15	0.210	0.050	0.062
18	0.200	0.020	0.030
21	0.198	0.030	0.072

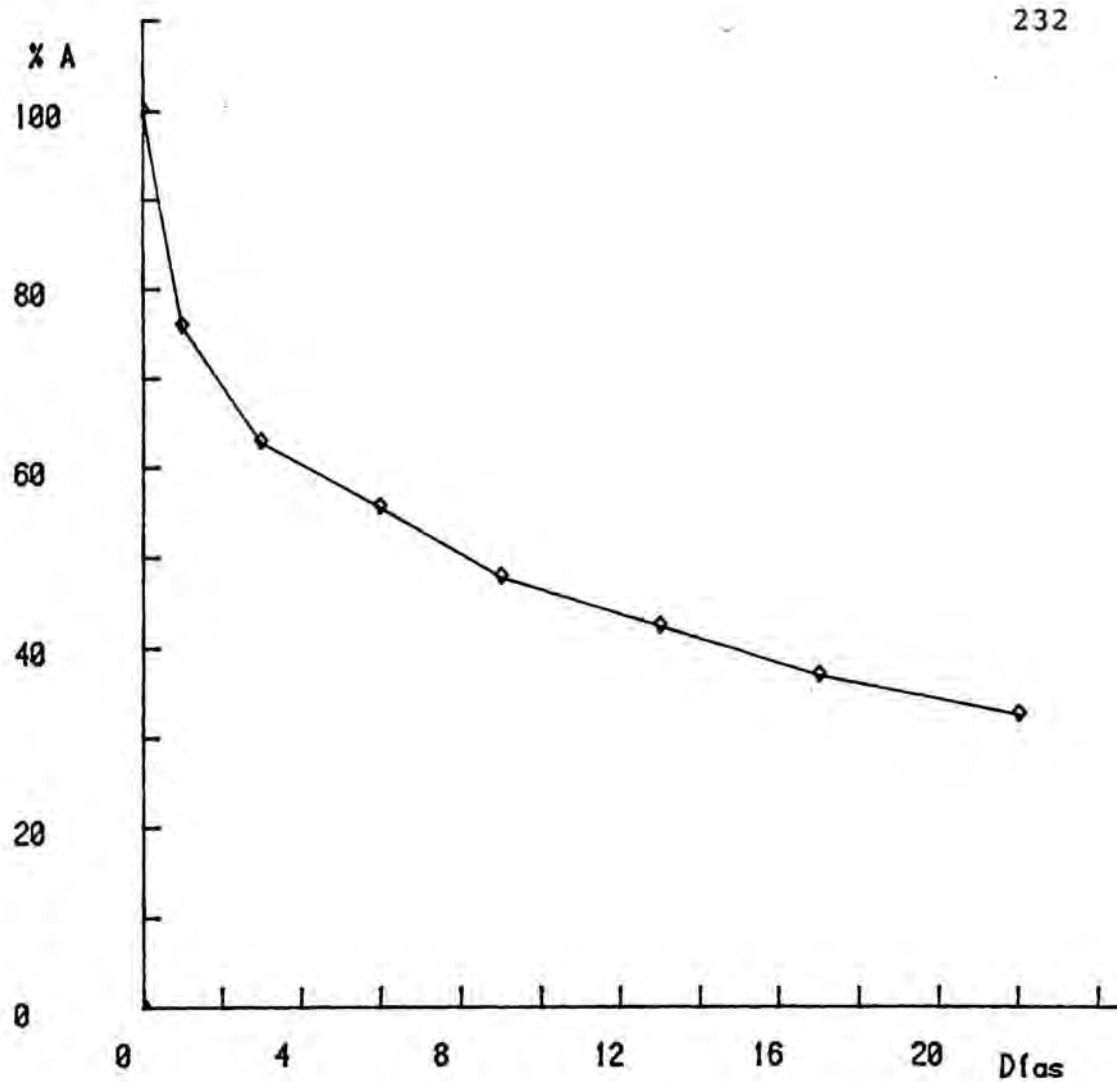
TABLA 145 Degradación a **54**°C de la Itanoxona sobre soporte de talco



ESTABILIDAD DE ITANOXONA SOBRE TALCO A 70°C.

TIEMPO días	% ABSORBANCIA REMANENTE
0	100
1	71.22
3	44.81
7	40.56
11	35.37
15	29.48
18	27.12
21	25.94

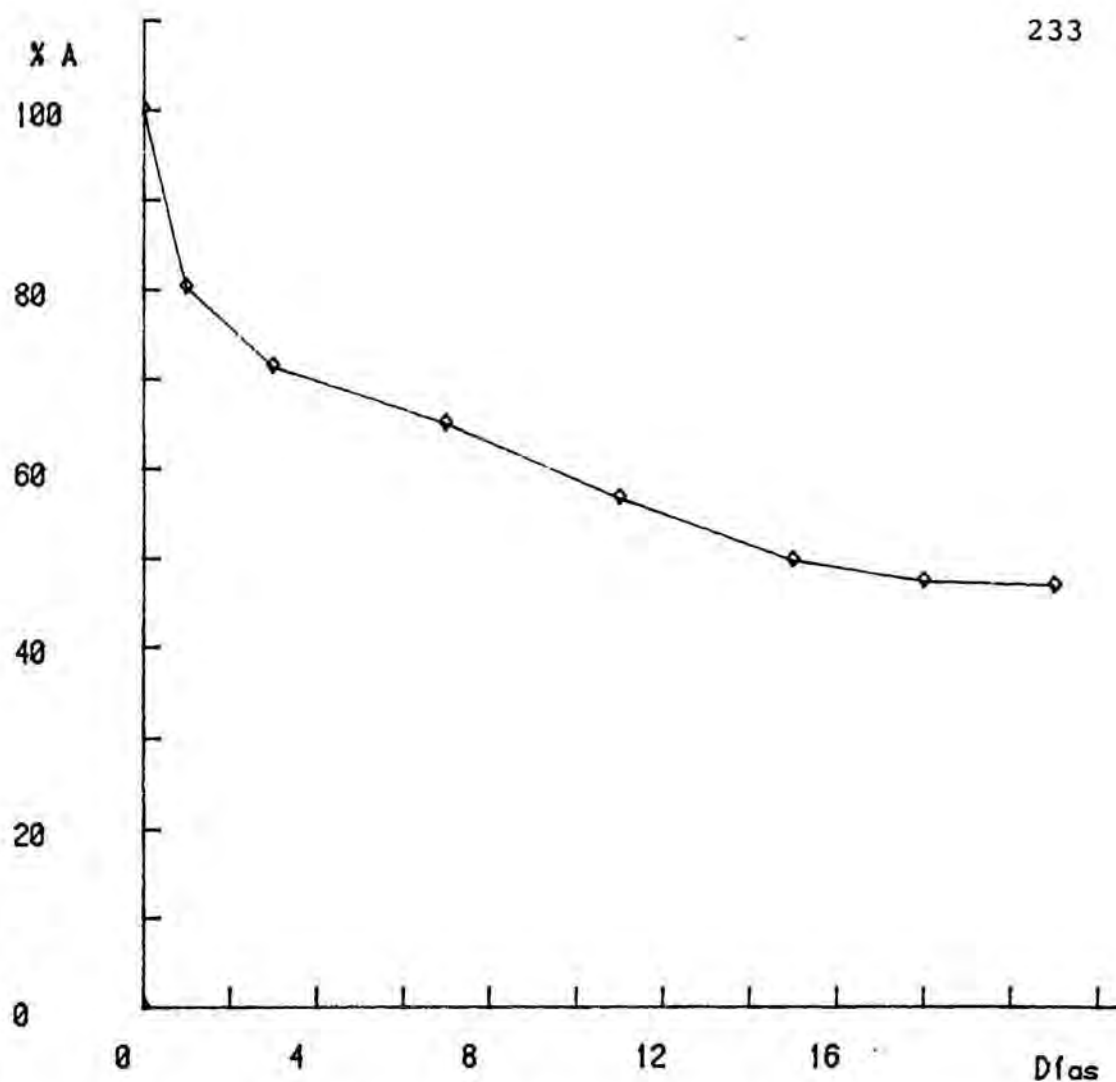
FIGURA 146.



ESTABILIDAD DE ITANOXONA SOBRE TALCO A 60°C.

TIEMPO días	% ABSORBANCIA REMANENTE
0	100
1	75.75
3	62.77
6	55.41
9	47.61
13	42.20
17	36.79
22	32.46

FIGURA 147.



ESTABILIDAD DE ITANOXONA SOBRE TALCO A 50°C.

TIEMPO días	% ABSORBANCIA REMANENTE
0	100
1	80.18
3	71.22
7	64.85
11	56.60
15	49.52
18	47.16
21	46.69

FIGURA 148.

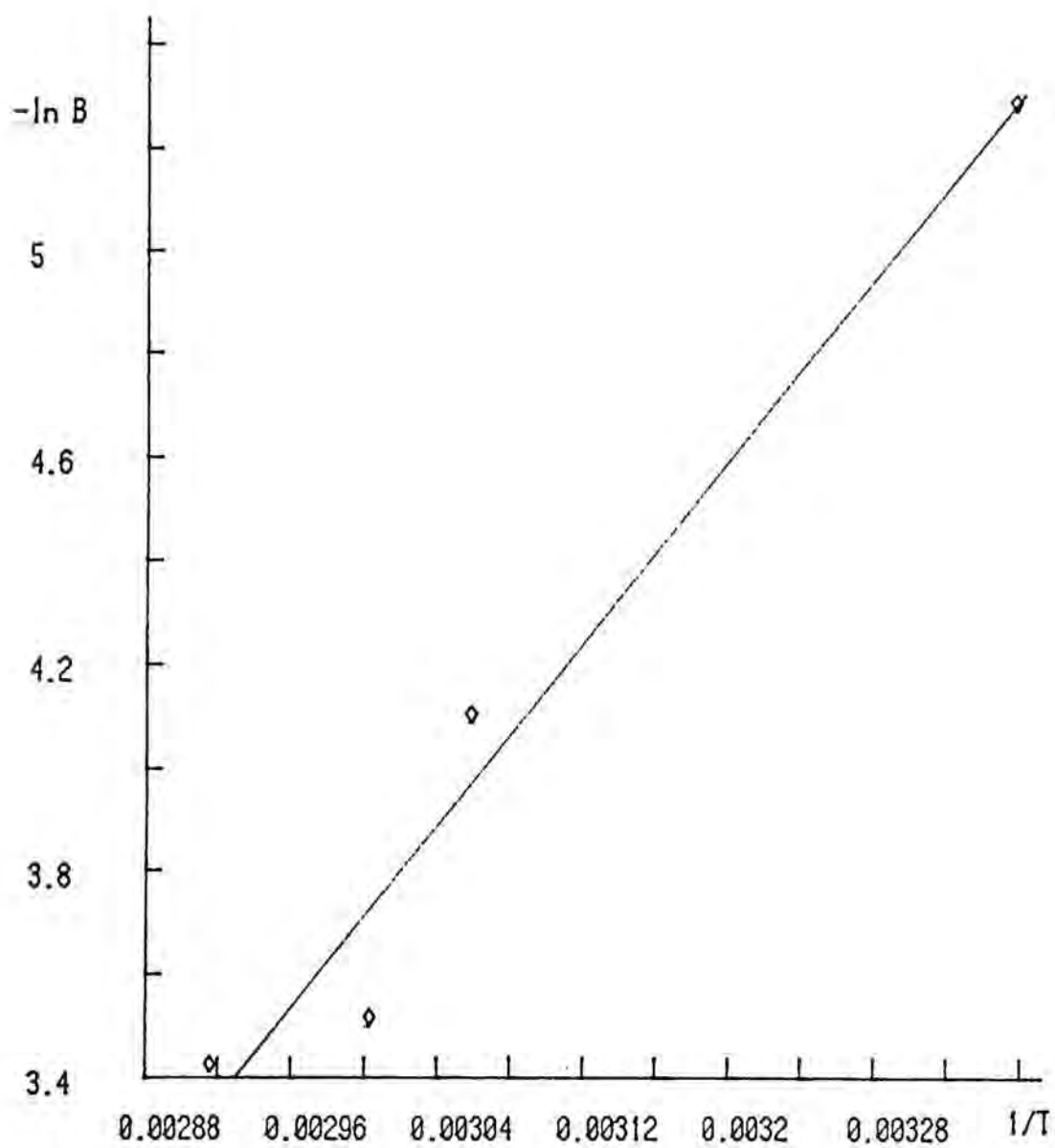
DEGRADACION DE ITANOXONA SOBRE TALCO.

TEMPERATURA °C	FASE LENTA		FASE RAPIDA		DESVIACION ESTANDARD n=8
	C2	R2	C1	R1	
70	0.69548	0.03262	0.69082	0.78129	0.0194
60	0.47768	0.02981	1.30528	0.37511	0.0413
54	0.45470	0.01656	1.36940	0.17715	0.0446
	Extrapolación a 25°C:				
25	-0.09756	0.00508	2.92627	0.00704	-

TEMPERATURA °C	70	60	54	25
t ₉₀ (días)	0.27	0.85	1.82	20

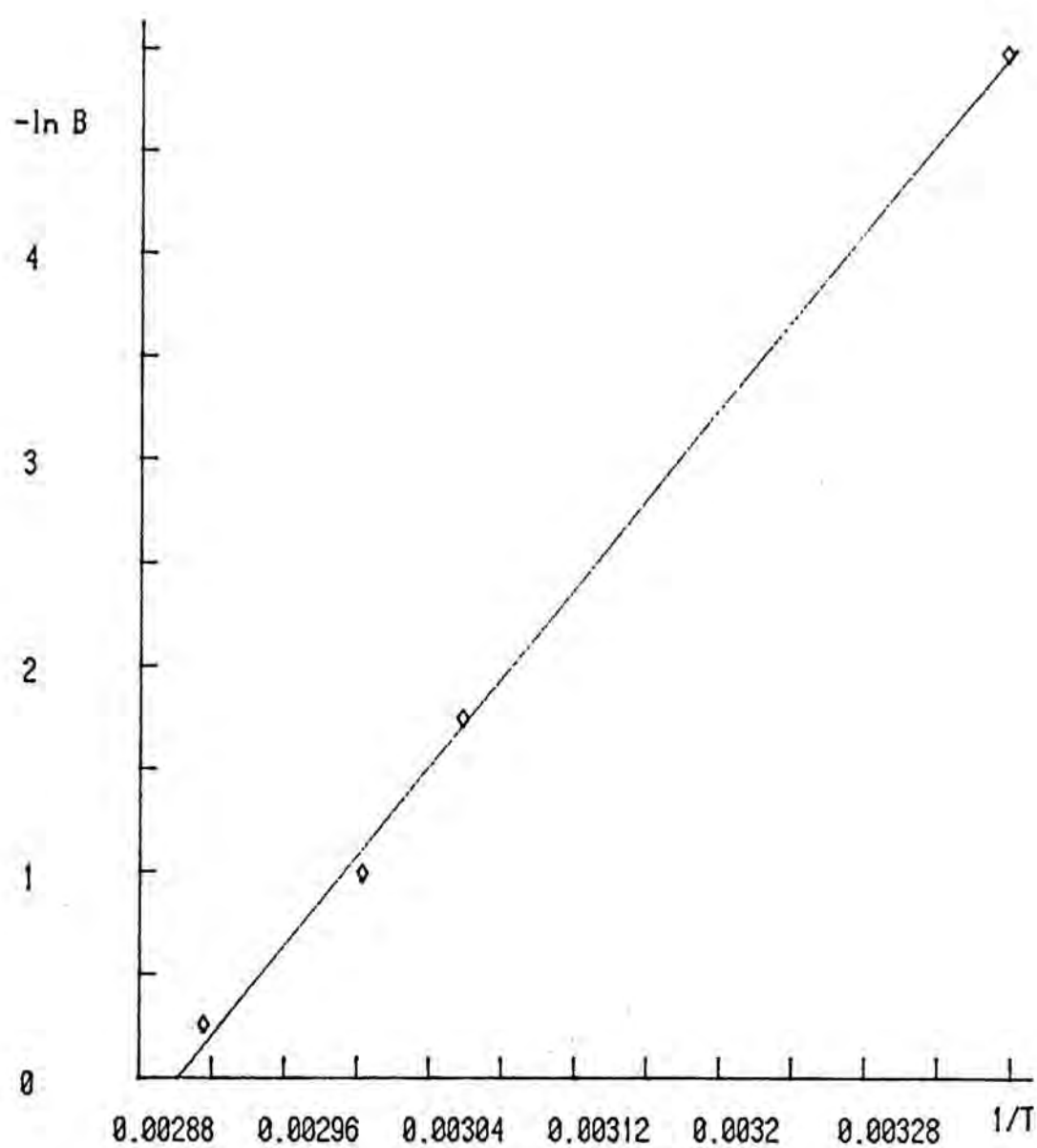
TABLA 149: Parámetros correspondientes a la fase lenta y fase rápida de la ecuación de las cinéticas de degradación de la Itanoxona a diferentes temperaturas y su extrapolación a 25°C. A partir de estos datos se calculan los respectivos t₉₀. La ecuación a la que corresponden los parámetros es:

$$I/I_0 = e^{-C2-R2t} + e^{-C1-R1t}$$



$$-\ln B = -9.52086 + 4411.38605 * 1/T$$

FIGURA 150.



$$-\ln B = -31.48224 + 10853.03583 * 1/T$$

FIGURA 151.

Con este tratamiento se obtiene una previsión de estabilidad a 25°C del orden de 20 días, siempre en el supuesto que el talco sea el único excipiente utilizado, lo cual pone de manifiesto que al igual que con el estearato de magnesio, dicho excipiente debe ser utilizado con mucha precaución y en las mínimas proporciones posibles.

Los productos de degradación que se han podido detectar son los productos 3 y 1, no habiéndose detectado ningún producto nuevo.

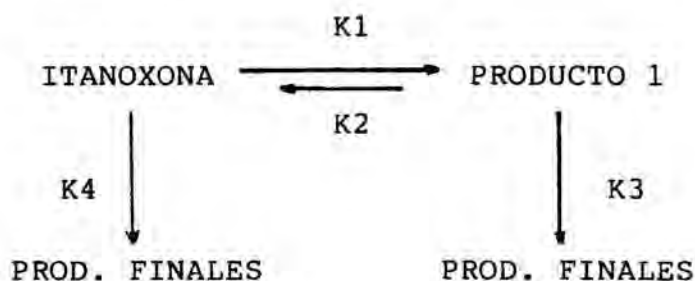
6.- INTERPRETACION DE LOS PRO-
CESOS CINETICOS DE DEGRA-
DACION.

6. INTERPRETACION DE LOS PROCESOS CINETICOS DE DEGRADACION.

Se ha centrado nuestro estudio en las disoluciones etanólicas de Itanoxona, sobre las que hemos efectuado gran parte de nuestro trabajo experimental.

Los estudios realizados han puesto de manifiesto la existencia de un proceso reversible de isomerización, con formación del producto 1. Como este proceso tiene también lugar en medio sólido, estando la Itanoxona adsorbida sobre silicagel, se supone que es un caso sencillo de reacción reversible de primer orden.

Superpuesto a este equilibrio se dan diversos procesos de degradación que deben afectar a la Itanoxona o al Producto 1, pudiendo simplificar el conjunto de procesos cinéticos por el esquema:



Se supone que las cuatro constantes, que intervienen en el modelo propuesto, son propias de procesos de primer orden.

Las concentraciones de Itanoxona $[I]$ o de Producto $[1]$ deben cumplir las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$\frac{d[I]}{dt} = -K1[I] + K2[1] - K4[I] = K2[1] - (K1 + K4)[I] \quad (I)$$

$$\frac{d[1]}{dt} = K1[I] - K2[1] - K3[1] = (K2 + K3)[1] + K1[I] \quad (II)$$

definiendo un sistema de ecuaciones que pueden ser

ser tratadas matemáticamente para obtener la solución que nos de la $|I|$ en función del tiempo.

Para la resolución matemática del sistema consideramos el operador d/dt con el símbolo D y se opera con él como un factor que multiplica a las variables, pudiendo abreviar el sistema en la forma:

$$\begin{aligned} -(D+K_1+K_4)[I] + K_2[1] &= 0 \\ (D+K_2+K_3)[1] - K_1[I] &= 0 \end{aligned}$$

multiplicando la primera ecuación por $(D+K_2+K_3)$ y la segunda por K_2 se puede eliminar $|1|$ y definir una única ecuación diferencial:

$$D^2[I] + D(K_2+K_3+K_1+K_4) + (K_1K_3+K_4K_2+K_4K_3)[I] = 0$$

que puede escribirse en la forma:

$$\frac{d^2[I]}{dt^2} + \frac{d[I]}{dt} \sum K_i + (K_1K_3+K_4K_2+K_4K_3)[I] = 0 \quad (\text{III})$$

Ecuación diferencial de tipo lineal homogénea y de segundo orden, cuya solución es de la forma:

$$|I| = C_1 e^{R_1 t} + C_2 e^{R_2 t} \quad (\text{IV})$$

que al aplicarle el tiempo cero nos da: $|I_0| = C_1 + C_2$ (V)
Observamos que esta función corresponde formalmente a la ecuación que se había obtenido a través de los estudios experimentales de degradación.

Los valores de R_1 y R_2 deben ser las soluciones de la ecuación de segundo grado:

$$\begin{aligned} X^2 + \sum K_i X + (K_1K_3+K_4K_2+K_4K_3) &= 0 \\ R = \frac{-\sum K_i \pm \sqrt{(\sum K_i)^2 - 4(K_1K_3+K_2K_4+K_3K_4)}}{2} \end{aligned}$$

debiéndose cumplir las relaciones:

$$R1 + R2 = - \sum K_i \quad (VI)$$

$$R1 - R2 = \text{discriminante} \quad (VII)$$

Al sustituir el valor hallado de $[I]$ en la ecuación (IV), en la ecuación (I) se obtiene:

$$C1 (R1+K1+K4) e^{R1t} + C2 (R2+K1+K4) e^{R2t} = K2[1]$$

de donde se puede deducir el valor de $[1]$ en función del tiempo:

$$|1| = C1 \frac{R1+K1+K4}{K2} e^{R1t} + C2 \frac{R2+K1+K4}{K2} e^{R2t} \quad (VIII)$$

La aplicación de esta ecuación a tiempo cero nos permite escribir:

$$C1 \frac{R1+K1+K4}{K2} + C2 \frac{R2+K1+K4}{K2} = 0 \quad (IX)$$

Las ecuaciones (V) y (IX) permiten deducir las siguientes relaciones entre $C1$ y $C2$ y las constantes del proceso:

$$C1 = I_0 \frac{R2+K1+K4}{R2-R1}$$

$$C2 = -I_0 \frac{R1+K1+K4}{R2-R1}$$

siendo por consiguiente:

$$\frac{C1}{C2} = - \frac{R2+K1+K4}{R1+K1+K4} \quad (X)$$

Aplicando un sistema de optimización basado en el método de los mínimos cuadrados, a partir de los resultados de una serie de cinéticas desarrolladas a cada temperatura, podremos calcular los parámetros C1, C2, R1 y R2. Dichos valores, en principio, serán distintos para cada temperatura (tabla 152).

Para deducir de estos valores experimentales, los valores de las constantes de velocidad K1, K2, K3 y K4, disponemos de las ecuaciones VI, VII y X, por lo que necesitamos una cuarta ecuación para poder resolver el sistema. Esta ecuación en principio la puede proporcionar el gráfico de concentración de producto 1 frente al tiempo. Recordemos nuestra observación de que a cada temperatura el máximo de esta curva se da para una relación de concentración constante del producto 1 y la Itanoxona a un tiempo determinado. Este hecho se explica dentro de nuestro esquema, igualando a cero la ecuación (II), de lo que se deduce:

$$K1|I| - (K2+K3)|1| = 0 \quad (XI)$$

de donde:

$$|I|/|1| = (K2+K3)/K1 \quad (XII)$$

Esta ecuación solo puede ser utilizada si se conocen las absorbilidades relativas del producto 1 y de la Itanoxona, ya que los datos experimentales de que disponemos son de absorbancia. Para que en la ecuación (XII) se puedan poner directamente dichas absorbancias debe figurar en ella el factor "f" que corresponde a las absorbilidades relativas:

$$\frac{|I|}{|1|} = \frac{1}{f} \frac{A_I}{A_1} \quad (XIII)$$

$$f = E_I/E_1 \quad (XIV)$$

T °C	C1	C2	R1	R2	DESVIACION ESTANDAR
50	0.69505	0.28725	-0.17311	-0.00346	0.03225
60	0.67977	0.24738	-0.36913	-0.00302	0.04522
70	0.69625	0.25413	-0.49103	-0.01049	0.03459

TABLA 152: Relación de parámetros C1, C2, R1 y R2, correspondientes a la ecuación IV, calculados por un sistema de optimización basado en el método de los mínimos cuadrados, en el que se tiene en cuenta en primer lugar los puntos experimentales de las fases finales de la degradación.

T °C	MAXIMO DEL PRODUCTO <u>1</u>	
	tm (días)	A_I/A_1
50	22.74	0.279
60	12.61	0.282
70	7.66	0.294

TABLA 153: Relación de absorbancias entre Itanoxona y producto 1 en el punto en que se da el máximo para la curva del producto 1. También se da el tiempo (tm) para ese máximo.

de donde obtenemos:

$$\frac{A_I}{A_1} = f \frac{K_2 + K_3}{K_1} \quad (XV)$$

Por otra parte también se había observado experimentalmente, que este máximo en el producto 1 se daba siempre para el mismo valor de tiempo, lo cual también concuerda con nuestro planteamiento, ya que si derivamos la ecuación (VIII) e igualamos a cero, para el valor del tiempo máximo, se obtiene:

$$R_1 \cdot C_1 \frac{R_1 + K_1 + K_4}{K_2} e^{R_1 t_m} + R_2 \cdot C_2 \frac{R_2 + K_1 + K_4}{K_2} e^{R_2 t_m} = 0$$

de donde, teniendo en cuenta (X) obtenemos:

$$\ln(R_1/R_2) = (R_2 - R_1)t_m$$

o sea:

$$t_m = (1/(R_2 - R_1)) \ln(R_1/R_2)$$

El cálculo aproximado del valor de "f" se puede obtener atendiendo a las primeras fases del proceso de degradación y representando los valores de Itanoxona frente a los correspondientes valores del producto 1, expresados por sus absorbancias, normalizadas respecto a la absorbancia inicial de Itanoxona I_0 , trazando la tangente a la curva en el punto correspondiente al instante en que $[I] = 0$.

Teóricamente dicha tangente debe corresponder al cociente entre las ecuaciones (I) y (II), multiplicando las absorbancias de 1 por el valor de "f".

$$\frac{d|I|}{d|1|f} = \frac{K2|1| - (K1+K4)|I|}{-(K2+K3)|1| + K1|I|} \quad (\text{XVI})$$

que para $|1|=0$

$$\frac{d|I|}{d|1|} = \frac{-(K1+K4)}{K1} f \quad (\text{XVII})$$

dato que la pendiente de la tangente (M) es $d|I|/d|1|$ obtenemos:

$$M = -f - (K4/K1)f \quad (\text{XVIII})$$

La pendiente corresponde al valor de "f" y un término adicional de muy poca entidad, ya que el valor de K4 es una constante de velocidad pequeña en relación a K1.

En la figura 154 representamos los diferentes valores de Itanoxona y producto 1, expresados por sus absorbancias normalizadas dividiéndolas por el valor de la absorbancia inicial de la Itanoxona (I_0). De ella se deduce que el valor de M oscila alrededor de 1.4. No siendo posible determinar con exactitud suficiente el valor de esta pendiente, se ha ensayado un margen de valores alrededor de 1.4 para deducir los valores de las diversas constantes mediante la aplicación del sistema de ecuaciones propuesto (Tablas 155, 156 y 157). Aunque el método teórico es correcto, tiene el inconveniente de que la inseguridad en el valor de "f" se refleja muy significativamente en los valores de las K3 y K4.

Por esta razón se ha utilizado otro método de cálculo en el que prescindimos de dar un valor previamente estimado a los parámetros de la ecuación (IV), considerando solamente los datos experimentales de

DEGRADACION DE ITANOXONA EN SOL. ETANOLICA

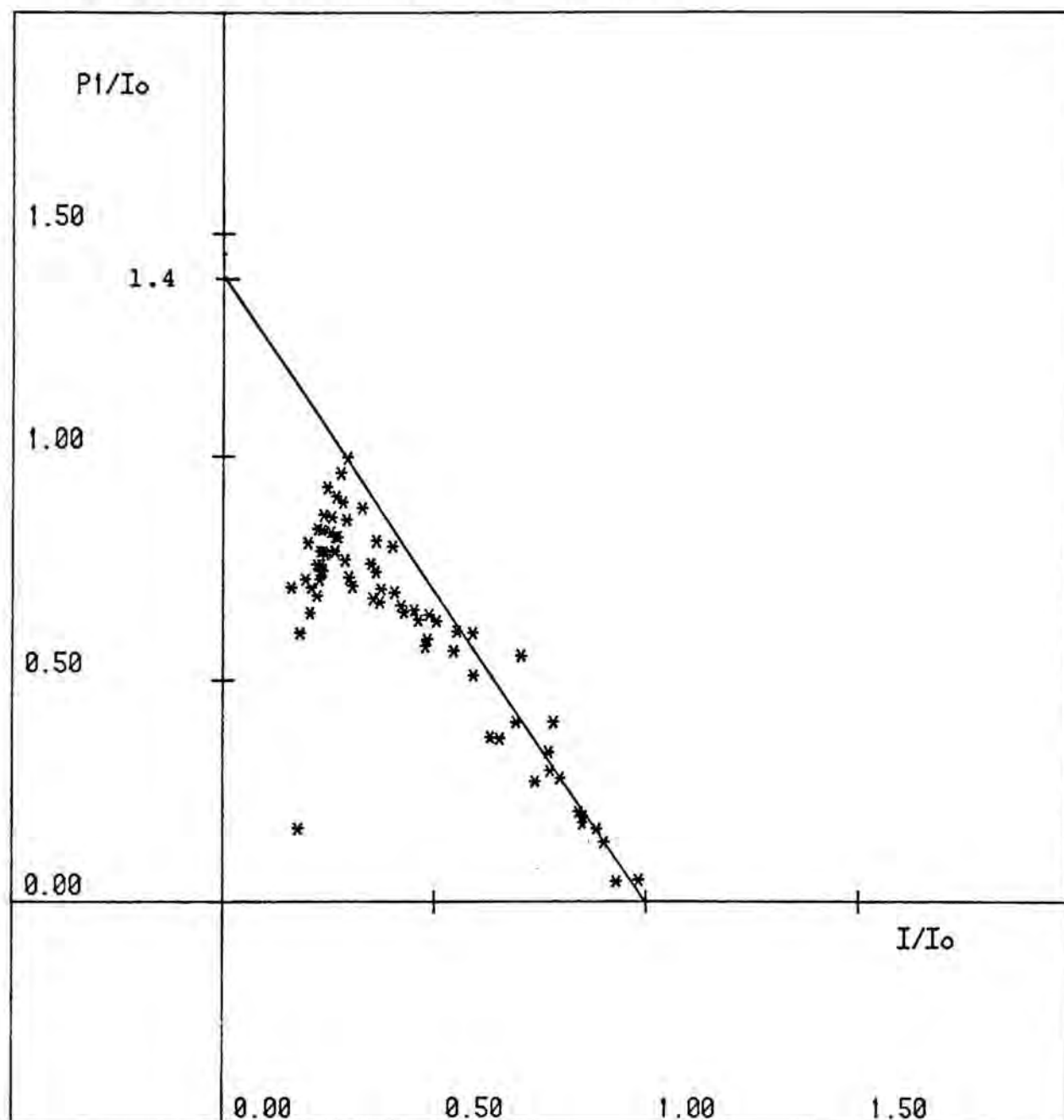


FIGURA 154: Representación de las absorbancias del producto 1 y de la Itanoxona, ambas normalizadas dividiendo por la absorbancia inicial de la Itanoxona (I_0). Se observa que el valor de la pendiente de la tangente, debe ser de alrededor de 1.4.

DEGRADACION EN SOL. ETANOLICA A 70 C.

K1	K2	K3	K4	F	M
0.394760	0.116443	0.022541	-0.032225	1.197777	1.100000
0.391220	0.117123	0.021862	-0.028684	1.208617	1.120000
0.387773	0.117833	0.021151	-0.025238	1.219360	1.140000
0.384415	0.118575	0.020410	-0.021880	1.230010	1.160000
0.381144	0.119348	0.019637	-0.018608	1.240568	1.180000
0.377954	0.120149	0.018836	-0.015419	1.251037	1.200000
0.374843	0.120980	0.018005	-0.012308	1.261419	1.220000
0.371808	0.121838	0.017147	-0.009273	1.271717	1.240000
0.368845	0.122724	0.016261	-0.006310	1.281931	1.260000
0.365952	0.123636	0.015349	-0.003417	1.292065	1.280000
0.363126	0.124574	0.014410	-0.000591	1.302121	1.300000
0.360365	0.125538	0.013447	0.002170	1.312099	1.320000
0.357666	0.126527	0.012458	0.004869	1.322001	1.340000
0.355026	0.127540	0.011445	0.007509	1.331830	1.360000
0.352444	0.128577	0.010408	0.010091	1.341588	1.380000
0.349918	0.129638	0.009347	0.012618	1.351274	1.400000
0.347445	0.130721	0.008264	0.015091	1.360892	1.420000
0.345023	0.131826	0.007159	0.017512	1.370442	1.440000
0.342652	0.132953	0.006032	0.019883	1.379926	1.460000
0.340329	0.134102	0.004883	0.022206	1.389346	1.480000
0.338052	0.135272	0.003713	0.024483	1.398702	1.500000
0.335821	0.136462	0.002523	0.026714	1.407996	1.520000
0.333633	0.137672	0.001313	0.028902	1.417228	1.540000
0.331488	0.138902	0.000083	0.031048	1.426401	1.560000
0.329383	0.140152	-0.001167	0.033152	1.435516	1.580000
0.327318	0.141420	-0.002435	0.035217	1.444573	1.600000

TABLA 155.

DEGRADACION EN SOL. ETANOLICA A 60 C.

K1	K2	K3	K4	F	M
0.296989	0.089779	0.010925	-0.025543	1.203508	1.100000
0.294325	0.090305	0.010399	-0.022879	1.214400	1.120000
0.291732	0.090854	0.009850	-0.020286	1.225195	1.140000
0.289206	0.091425	0.009279	-0.017760	1.235895	1.160000
0.286745	0.092017	0.008687	-0.015298	1.246504	1.180000
0.284345	0.092629	0.008074	-0.012899	1.257023	1.200000
0.282005	0.093263	0.007441	-0.010559	1.267455	1.220000
0.279721	0.093916	0.006788	-0.008275	1.277802	1.240000
0.277493	0.094588	0.006116	-0.006046	1.288065	1.260000
0.275316	0.095279	0.005425	-0.003870	1.298248	1.280000
0.273190	0.095989	0.004715	-0.001744	1.308351	1.300000
0.271112	0.096716	0.003988	0.000334	1.318377	1.320000
0.269082	0.097461	0.003242	0.002365	1.328327	1.340000
0.267096	0.098224	0.002480	0.004350	1.338203	1.360000
0.265153	0.099003	0.001701	0.006293	1.348007	1.380000
0.263252	0.099799	0.000905	0.008194	1.357740	1.400000
0.261392	0.100610	0.000093	0.010054	1.367404	1.420000
0.259570	0.101438	-0.000734	0.011876	1.377000	1.440000
0.257786	0.102281	-0.001577	0.013660	1.386529	1.460000
0.256039	0.103139	-0.002435	0.015408	1.395994	1.480000
0.254326	0.104012	-0.003308	0.017120	1.405395	1.500000
0.252647	0.104900	-0.004196	0.018799	1.414733	1.520000
0.251001	0.105801	-0.005098	0.020445	1.424010	1.540000
0.249387	0.106717	-0.006013	0.022059	1.433227	1.560000
0.247804	0.107646	-0.006943	0.023642	1.442385	1.580000
0.246250	0.108589	-0.007885	0.025196	1.451485	1.600000

TABLA 156.

DEGRADACION EN SOL. ETANOLICA A 50 C.

K1	K2	K3	K4	F	M
0.146134	0.043295	0.009779	-0.022630	1.301559	1.100000
0.144823	0.043419	0.009655	-0.021320	1.313338	1.120000
0.143547	0.043554	0.009521	-0.020044	1.325012	1.140000
0.142305	0.043699	0.009375	-0.018801	1.336585	1.160000
0.141093	0.043855	0.009219	-0.017590	1.348058	1.180000
0.139913	0.044022	0.009052	-0.016409	1.359434	1.200000
0.138761	0.044198	0.008876	-0.015257	1.370716	1.220000
0.137638	0.044385	0.008690	-0.014134	1.381905	1.240000
0.136541	0.044581	0.008494	-0.013037	1.393005	1.260000
0.135470	0.044786	0.008288	-0.011966	1.404017	1.280000
0.134424	0.045000	0.008074	-0.010920	1.414944	1.300000
0.133402	0.045223	0.007851	-0.009898	1.425766	1.320000
0.132402	0.045455	0.007619	-0.008898	1.436547	1.340000
0.131425	0.045696	0.007378	-0.007921	1.447228	1.360000
0.130469	0.045945	0.007129	-0.006965	1.457830	1.380000
0.129534	0.046202	0.006872	-0.006030	1.468356	1.400000
0.128619	0.046467	0.006607	-0.005115	1.478808	1.420000
0.127722	0.046740	0.006334	-0.004218	1.489185	1.440000
0.126844	0.047020	0.006054	-0.003341	1.499491	1.460000
0.125984	0.047308	0.005766	-0.002481	1.509727	1.480000
0.125142	0.047604	0.005470	-0.001638	1.519893	1.500000
0.124316	0.047906	0.005168	-0.000812	1.529992	1.520000
0.123506	0.048216	0.004858	-0.000002	1.540025	1.540000
0.122712	0.048532	0.004542	0.000792	1.549993	1.560000
0.121932	0.048856	0.004219	0.001571	1.559897	1.580000
0.121168	0.049185	0.003889	0.002336	1.569739	1.600000

TABLA 157.

las determinaciones y utilizando el método de Marquardt () para optimizar el valor de cada una de las cuatro constantes (K_1 , K_2 , K_3 y K_4) para dicha ecuación IV, de la descomposición de la Itano-xona. Cabe resaltar, en cuanto a las constantes K_1 y K_2 , que resultan ser del mismo orden que en el caso anterior, pero se tiene la ventaja de no precisar el valor de f para estimar el valor de las constantes. En la tabla 158 se dan dichas constantes, junto con los valores de f y M , que se deducen a partir de la ecuación VIII, normalizada dividiendo por I_0 , y la ecuación XVIII.

A partir de los datos de dicha tabla se han podido determinar las constantes correspondientes a 250C, aplicando la ecuación de Arrhenius (figuras 159 a 162).

También se ha calculado para cada una de dichas constantes el $\Delta S^\ddagger$ de activación, en el marco de la teoría del complejo activado, aplicando la ecuación (45):

$$K = e \cdot \frac{RT}{N_A h} \cdot e^{\Delta S^\ddagger / R} \cdot e^{-E_a / RT} \quad (\text{XIX})$$

que es una ~~interpretación~~ de la ecuación de Arrhenius:

$$K = A \cdot e^{-E_a / RT} \quad (\text{XX})$$

que en su forma logarítmica:

$$-\ln K = -\ln A + E_a / RT \quad (\text{XXI})$$

y corresponde a la ecuación de una recta del tipo $y=mx+b$, donde $y=-\ln K$, $x=1/T$, $b=-\ln A$ y $m=E_a/R$, de donde:

$$E_a = R \cdot m \quad (\text{XXII})$$

T °C	K1	K2	K3	K4	f	M	DES. ESTD.
70	0.420049	0.175100	0.01203	0.025027	1.29	-1.3668	0.03073
60	0.301279	0.123100	0.00126	0.013143	1.22	-1.2732	0.02693
50	0.114992	0.039934	0.00047	0.006164	1.33	-1.4013	0.02596
Extrapolación a 25°C por aplicación de la ecuación de Arrhenius.							
25	0.019455	0.000530	$3.63 \cdot 10^{-6}$	0.000829	-	-	-

TABLA 158: - Constantes cinéticas de degradación de la Itanoxona, calculadas a partir de la ecuación IV, por aplicación del método de Marquardt, dividiendo por I_0 , con lo que nos queda:

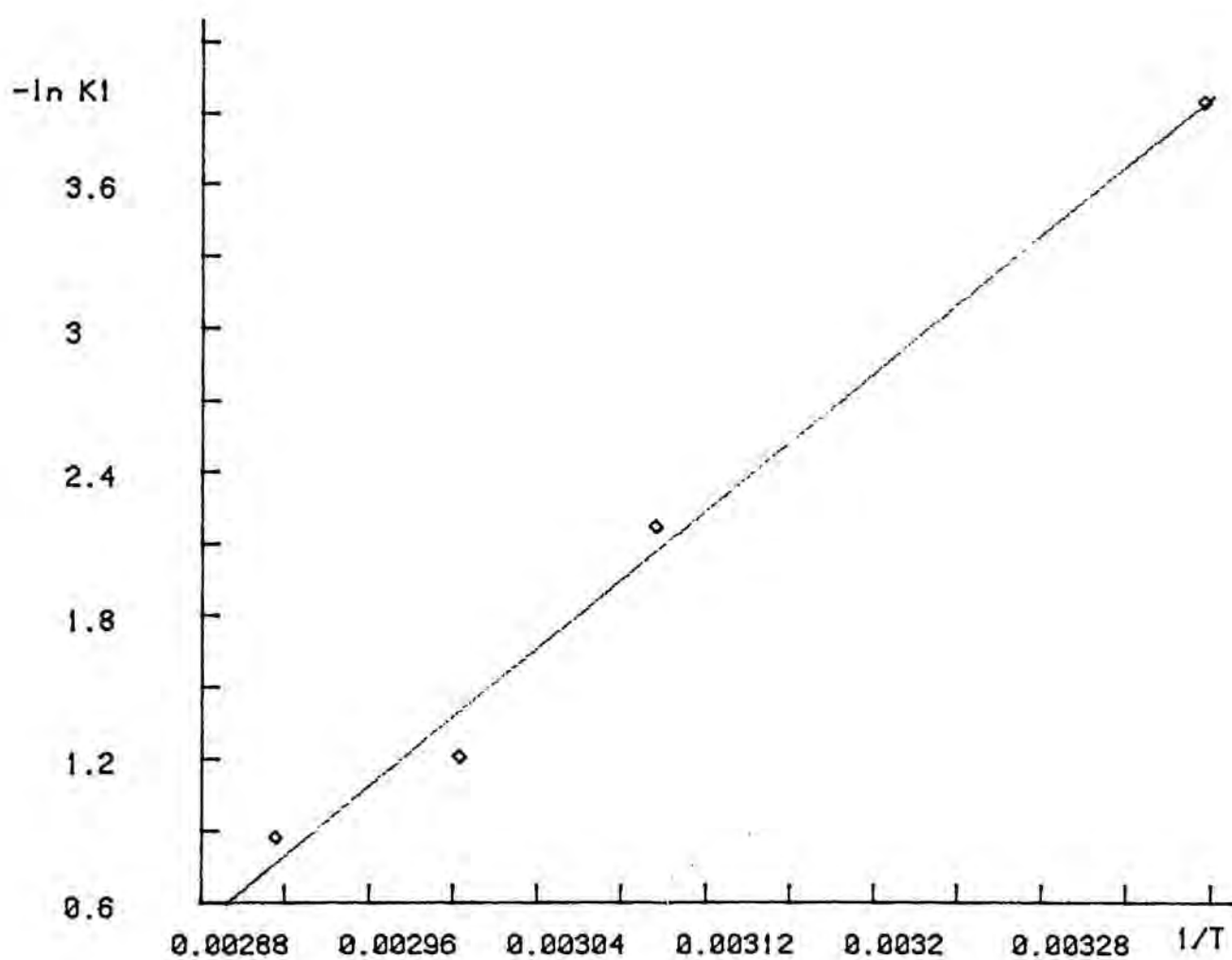
$$I/I_0 = C1' e^{R1t} + C2' e^{R2t}$$

siendo $C1' = C1/I_0$ y $C2' = C2/I_0$.

- Valores de f calculados a partir de la ecuación VIII y los datos de absorbancia experimentales del producto 1, divididos por la absorbancia inicial de la Itanoxona I_0 , con lo que la ecuación queda:

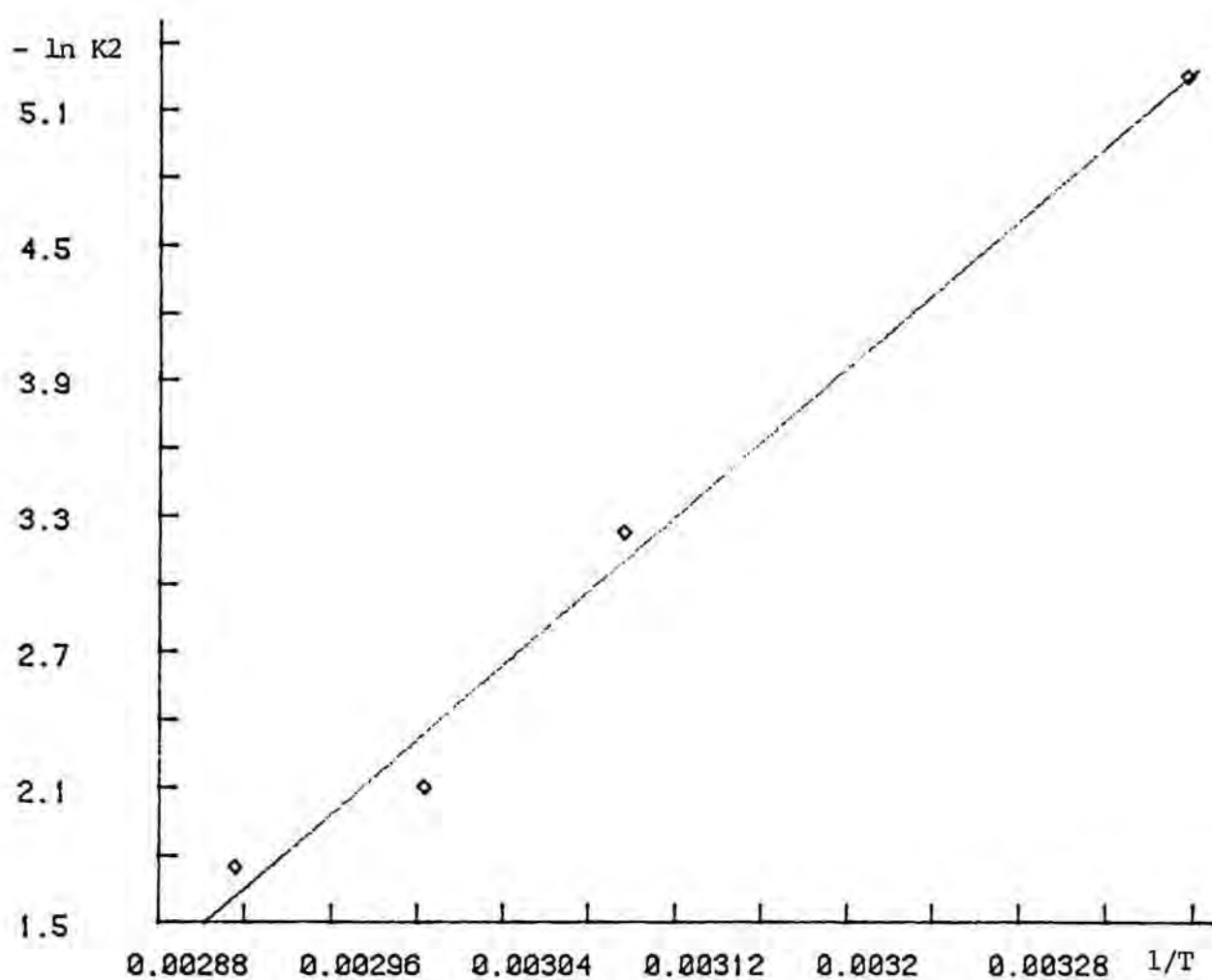
$$P1/I_0 = f \left(C1' \frac{R1+K1+K4}{K2} e^{R1t} + C2' \frac{R2+K1+K4}{K2} e^{R2t} \right)$$

- Valores de M , calculados a partir de la ecuación XVIII.



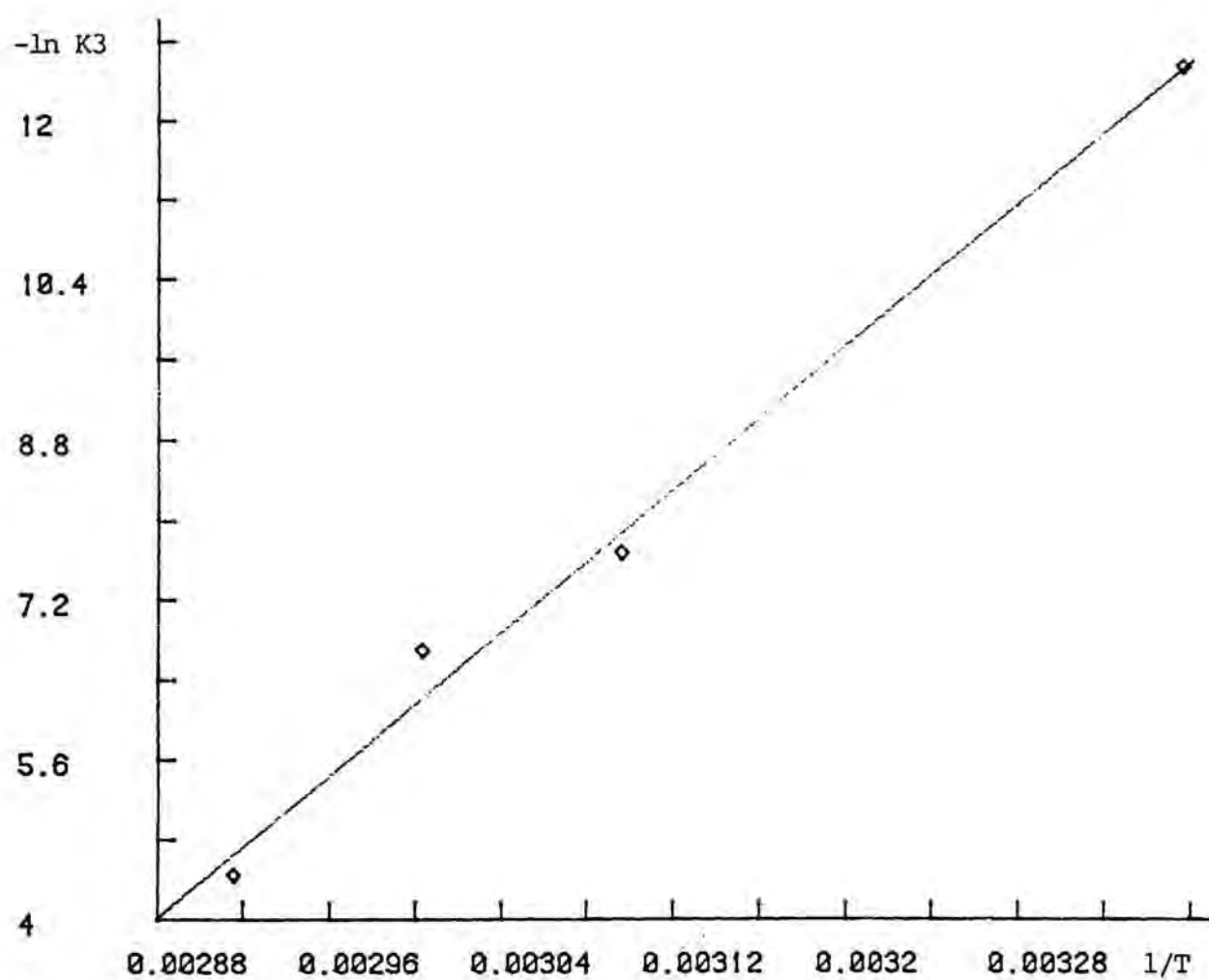
$$G(Y) = -20.25223 + 7209.18329 * F(X)$$

FIGURA 159: Aplicación de la ecuación de Arrhenius para $K1$.



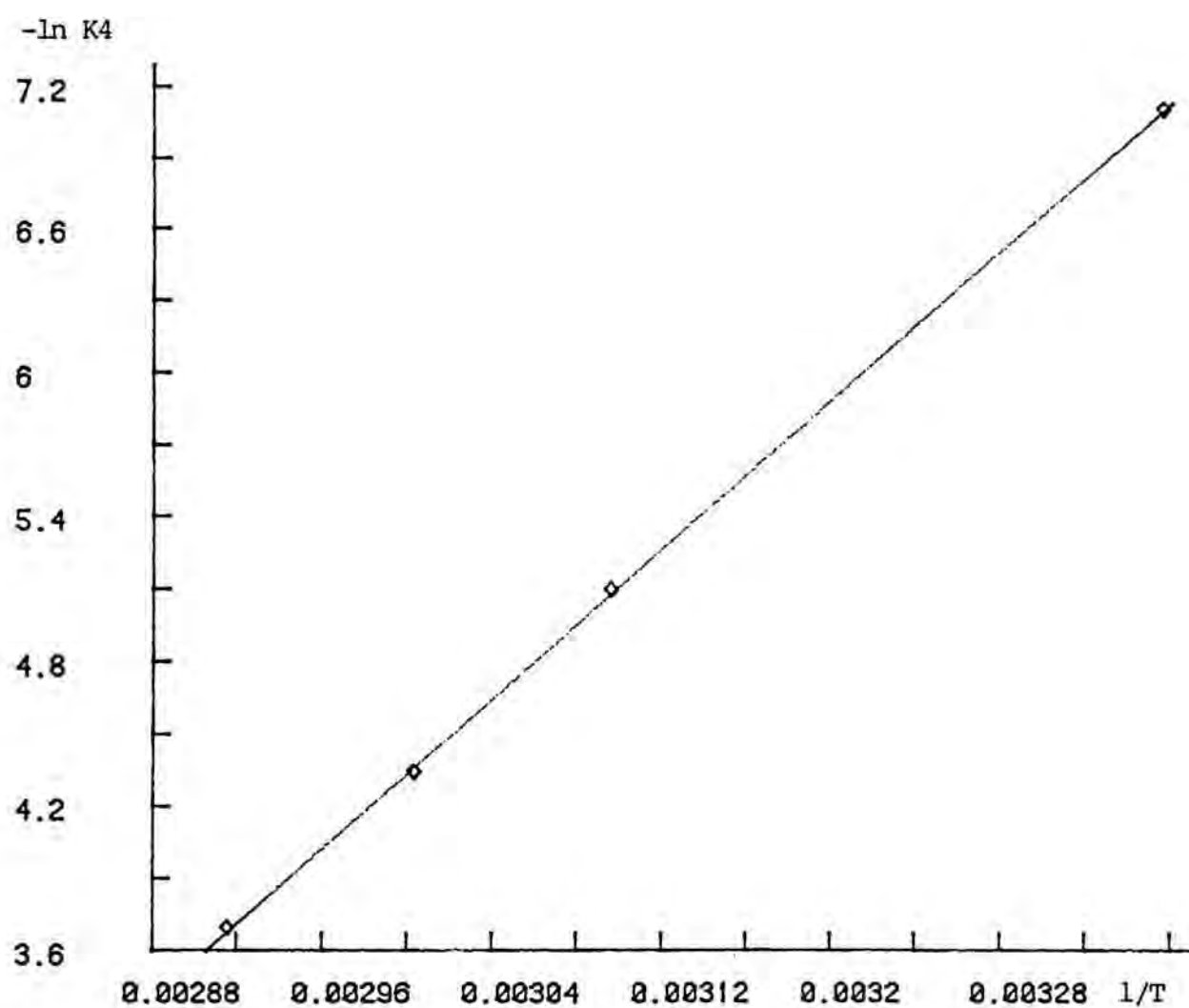
$$G(Y) = -22.37200 + 8228.32536 * F(X)$$

FIGURA 160: Aplicación de la ecuación de Arrhenius para K_2 .



$$G(Y) = -47.48316 + 17882.60379 * F(X)$$

FIGURA 161: Aplicación de la ecuación de Arrhenius para K3.



$$G(Y) = -18.96408 + 7765.41924 * F(X)$$

FIGURA 162: Aplicación de la ecuación de Arrhenius para K4.

y también:

$$\ln A = \ln(RT/N_A h) + \Delta S/R + 1 \quad (\text{XXIII})$$

de donde podemos deducir:

$$\Delta S^\ddagger = R \cdot \ln(AN_A h/RT) - R \quad (\text{XXIV})$$

En la tabla 163 se dan los resultados de la aplicación de dicho cálculo para las distintas constantes. El incremento de la entropía de activación se ha calculado para una temperatura de 25°C.

El proceso cinético relacionado con la constante K3, es el único que presenta un incremento de entropía de activación positivo.

CONSTANTE	$\ln A$ (días ⁻¹)	$\ln A$ (s ⁻¹)	E_a/R	S (cal/mol)	E_a (Kcal/mol)
K1	20.25223	8.88549	7209.18	-37.176	14.325
K2	22.37200	11.0052	8228.32	-32.964	16.350
K3	47.48316	36.1164	17882.60	+16.932	35.533
K4	18.96408	7.5973	7765.42	-39.7351	15.430

TABLA 163: Energía de activación (E_a) e incremento de entropía de activación (S) para cada una de las constantes cinéticas de degradación, calculadas a partir de las ecuaciones XXII y XXIV, respectivamente.

7.- CARACTERIZACION DE LOS PRO-
DUCTOS DE DEGRADACION.

7. CARACTERIZACION DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACION.

Por medio de la cromatografía en capa fina (C.C.F.) preparativa, se ha conseguido aislar pequeñas cantidades de los productos de degradación: 1, 0, 3, 3₁ y a, habiéndose comprobado, por técnica cromatográfica y espectroscópica, la práctica pureza de los productos aislados.

Con estos productos se han llevado a cabo una serie de estudios, que han permitido profundizar en su caracterización orientada a dilucidar su estructura.

7.1. PRODUCTO 1.

Aspecto.

Cristales de color amarillo en forma de aguja.

Punto de fusión.

Se ha determinado mediante platina de Köfler, obteniéndose un valor de 196-198°C.

Solubilidad.

A pH=9, las disoluciones de Itanoxona dan precipitado de producto 1 al producirse la degradación, de lo que se deduce que su solubilidad es menor que la de la Itanoxona.

La solubilidad en etanol absoluto, acetona y acetato de etilo, resulta suficiente para su extracción de los depósitos separados por C.C.F.

Cromatografía en Capa Fina.

Utilizando el líquido de desarrollo cloroformo/metanol (15:85), presenta un R_f de 0.26, valor inferior al de la Itanoxona, lo que demuestra que presenta una mayor polaridad. Su caracterización en el cromatograma se basa en su espectro UV característico (figuras 36 y 39).

Relación con los otros productos estudiados.

Es el primer producto de degradación que se obtiene, tanto en disolución como en capa fina.

No se ha constatado su formación a partir de producto cristalizado y seco, sometido a temperaturas elevadas.

A lo largo de las degradaciones se comporta como un producto intermedio, cuya concentración aumenta en una primera fase, pasa por un máximo y disminuye posteriormente.

Las técnicas de cromatografía bidimensional ponen de manifiesto su inestabilidad sobre silicagel, produciéndose a 60°C (figura 101) la misma serie de productos de degradación que se producen a partir de la Itanoxona, lo cual da a entender que la Itanoxona y el producto 1 son productos isómeros capaces de interconvertirse. Todos los estudios de degradación realizados demuestran que este equilibrio está desplazado hacia el producto 1.

Dos disoluciones de Itanoxona mantenidas en la nevera a 5°C durante 2 y 4 años, presentan la misma relación de Itanoxona a producto 1. Esta proporción se establece por el cociente de absorbabilidades (3.31).

La proporción molecular debe ser inferior, ya que los estudios de degradación en las primeras fases del proceso, han permitido establecer el valor de la absorbancia relativa respecto a la Itanoxona de alrededor de 1.4.

Espectro UV.

Su espectro UV, en etanol absoluto, se muestra en la figura 164, observándose un máximo a 282 nm, lo que conlleva un corrimiento hacia longitudes de onda elevadas si se compara con el espectro de la Itanoxona. Este corrimiento puede interpretarse como el resultado de una mayor conjugación. Esto también concuerda con su mayor absorbilidad.

Espectro IR.

En la figura 165 se muestra el espectro IR del producto 1 en solución clorofórmica. En él se pueden destacar las siguientes bandas (46,47) :

BANDA (cm^{-1})	GRUPO-FUNCION
3000 - 3600	-OH carboxílico
1670	C=O grupo carbonílico de una cetona conjugada.
1715	C=O grupo carboxílico
1615	C=C aromáticos
980 - 975	doble enlace en isomería TRANS.
	$ \begin{array}{c} \text{R}_2 \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \text{R}_1 \end{array} $

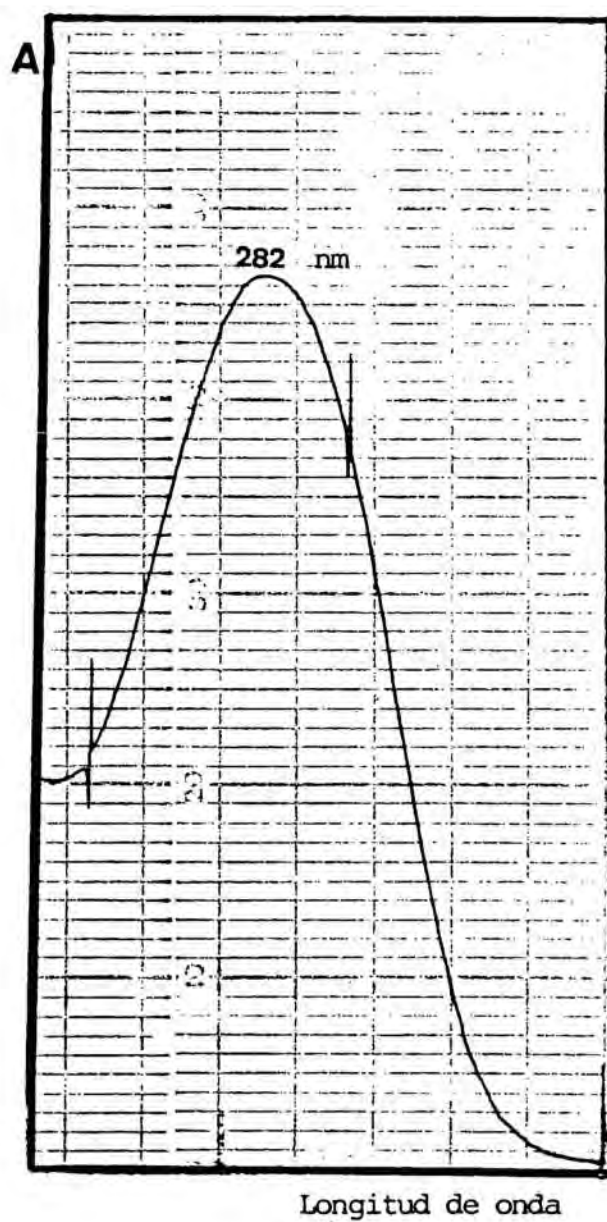


Figura 164 : Espectro UV del producto 1
en etanol absoluto.

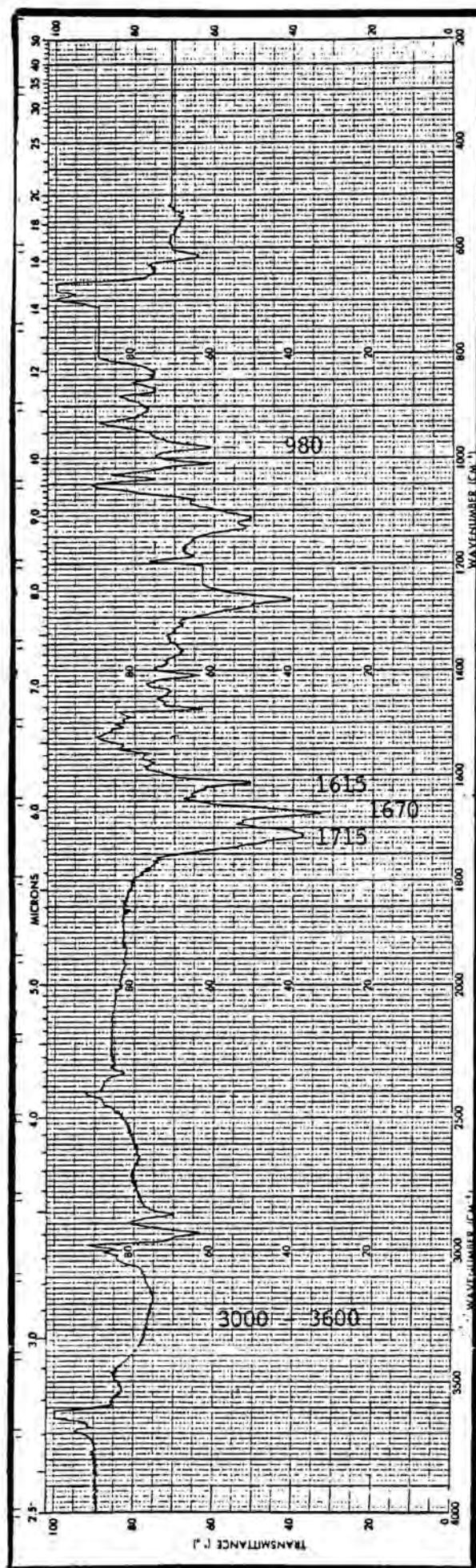
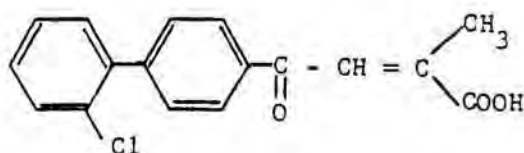


Figura 16: Espectro IR del producto 1 en cloroforno.

Estas bandas se diferencian de las propias de la Itanoxona por la desaparición de la banda a 1630 cm^{-1} propia del doble enlace etilénico y la aparición de un doble enlace en configuración trans, y un corrimiento de la banda del grupo carbonilo cetónico hacia frecuencias bajas, indicando una conjugación adicional, producida por el doble enlace. Todas estas características se interpretan por la fórmula:



Espectro de resonancia magnética nuclear de protón.

Se ha realizado un espectro RMN-H en DMSO de la mezcla de isomerización obtenida en las primeras fases del proceso de degradación para observar las señales propias del producto 1 sobre el fondo del espectro de la Itanoxona.

Se ha procedido de esta forma para destacar la diferencia entre ambos espectros, habiéndose obtenido también por separado el espectro del producto 1.

En la figura 166 se reproduce el espectro de la mezcla de isomerización con la atribución de las principales señales. Destacando como decisiva para justificar la atribución estructural dada para el producto 1, la que corresponde a $\delta = 2.06\text{ ppm}$, debido a los protones del grupo metilo ($=\text{C}-\text{CH}_3$) (48,49). En este espectro se puede establecer la proporción de los dos isómeros por integración de las señales correspondientes a uno de los protones etilénicos propio de la Itanoxona y los tres protones del grupo metilo ($=\text{C}-\text{CH}_3$) del producto 1. La altura del protón olefínico propio de la Itanoxona a $\delta = 5.85\text{ ppm}$ es

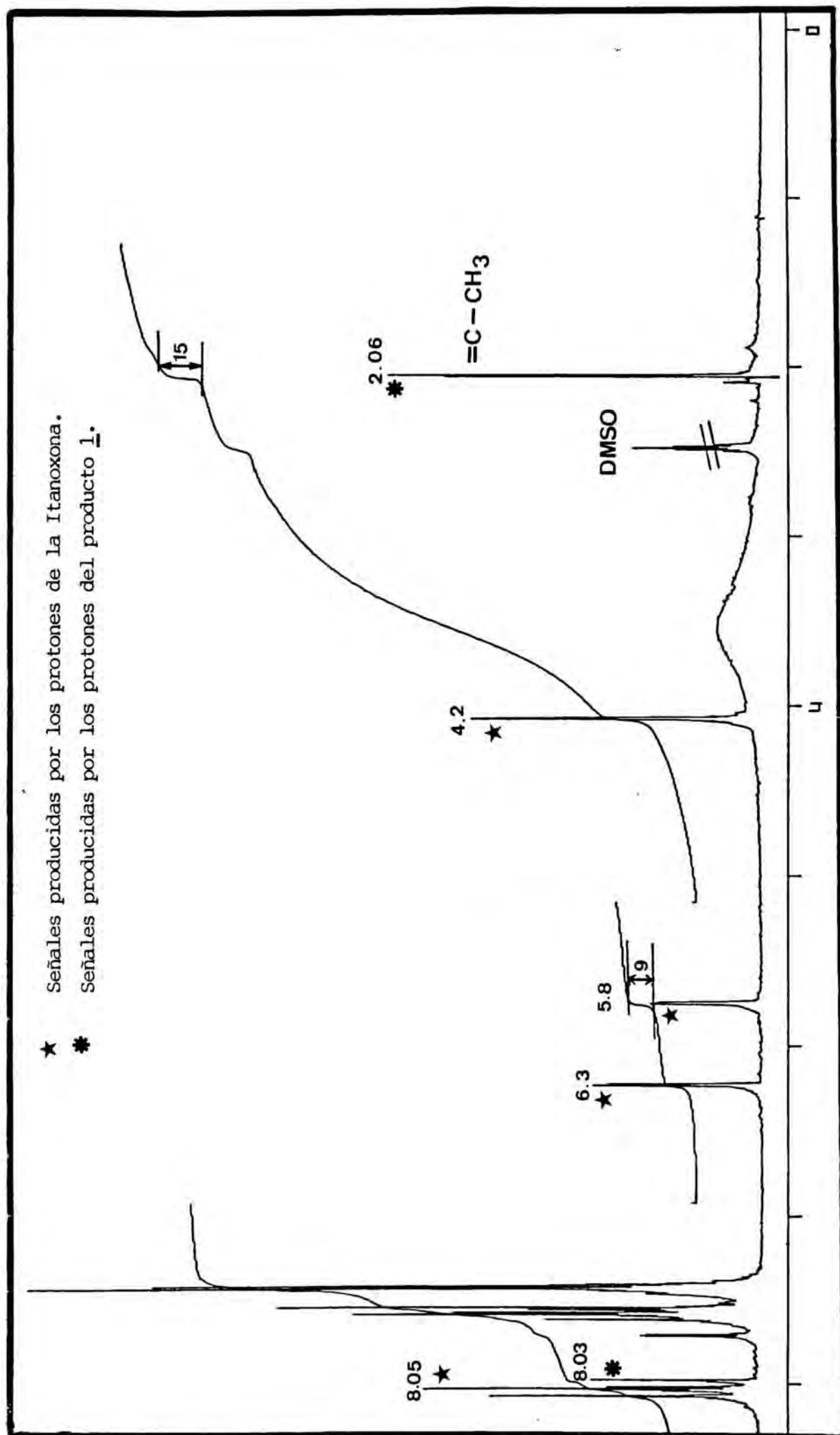
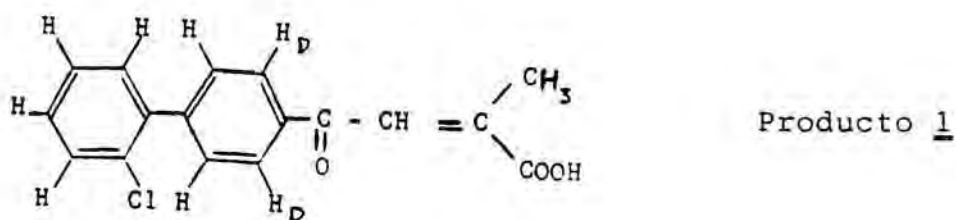
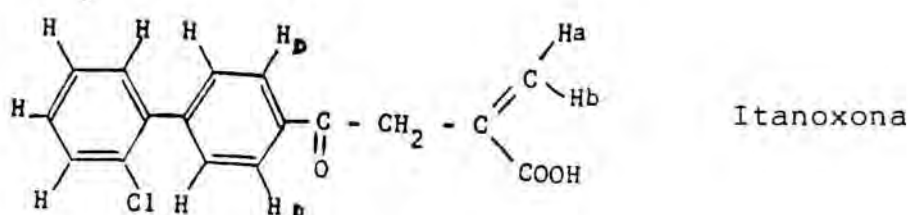


Figura 166: Espectro ¹H-RMN de la mezcla de isomerización (Itanoxona y producto 1) en DMSO.

de 9 mm, mientras que la altura de los protones del grupo metílico-vinílico del compuesto 1 a $\delta=2.06$ ppm es de 15 mm, lo que equivale a cada protón 5 mm. Por lo tanto la relación entre los dos compuestos es de 9/5, lo que significa una proporción aproximada de dos a uno entre la Itanoxona y el producto 1.

En la tabla 167 se representan los datos del espectro de ^1H -RMN de la mezcla de ambos compuestos.



δ (ppm)	ASIGNACION
2.06	=C-CH ₃ (<u>1</u>)
4.20	COCH ₂ (It)
5.85	=CHa (It)
6.30	=CHb (It)
8.03	H _D (<u>1</u>)
8.05	H _D (It)

(It) Señales correspondientes a la Itanoxona.

(1) Señales correspondientes al producto 1.

TABLA 167: Datos del espectro de ^1H -RMN de la mezcla de Itanoxona y producto 1.

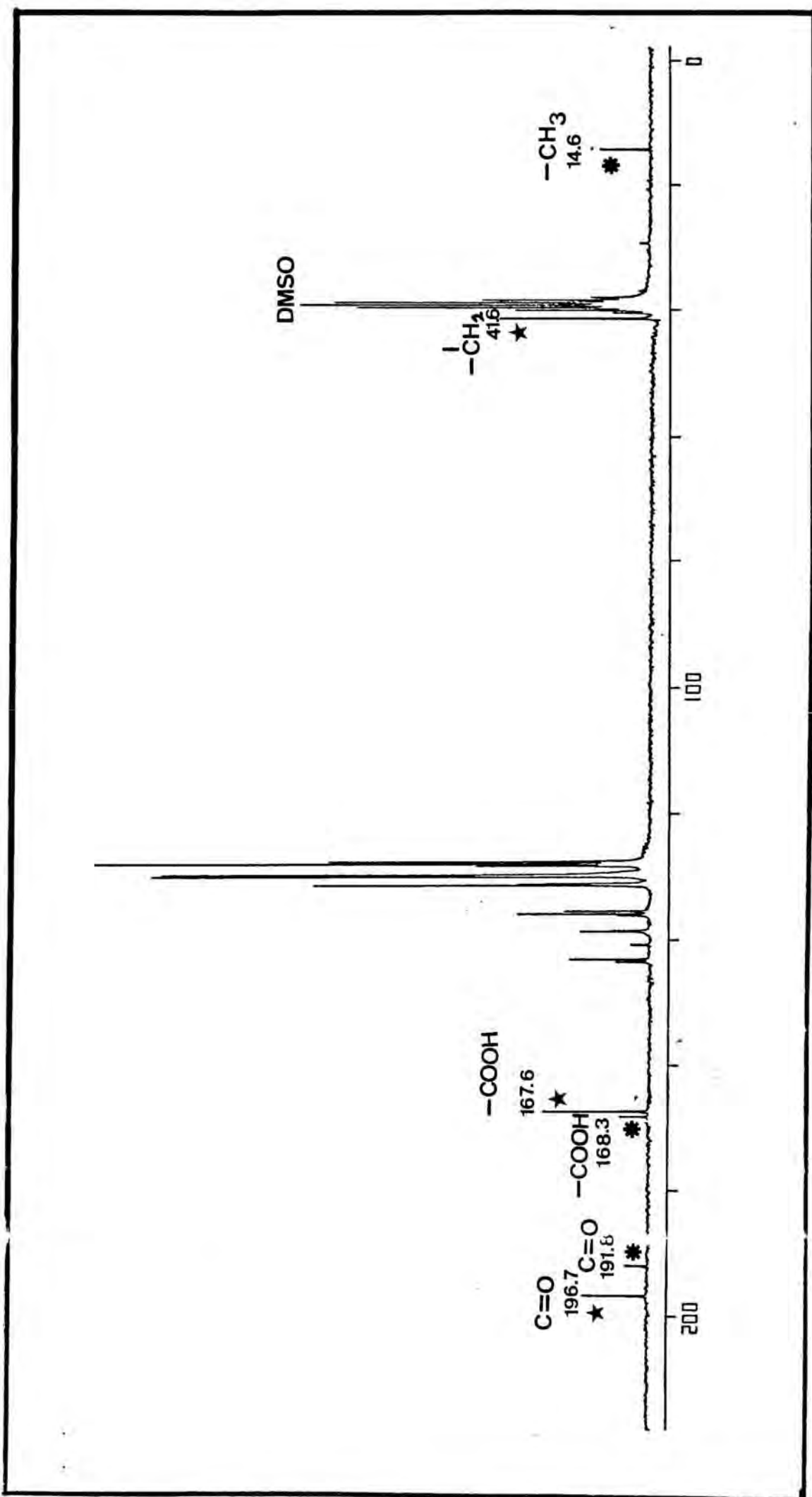
Espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C .

Se ha realizado el espectro de ^{13}C -RMN en DMSO de la mezcla de isomerización (figura 168), apareciendo una señal a $\delta = 14.6$ ppm asignable a carbono metilénico del compuesto 1 (49). Se observa además duplicación de señales en las zonas de campos bajos, lo que está de acuerdo con la presencia de los productos de isomerización. Así, la señal que corresponde al grupo carbonilo de la función cetónica a $\delta = 196.7$ ppm, se acompaña de otra más apantallada a $\delta = 191.8$ ppm, correspondiente al producto 1, debiéndose este apantallamiento, a la presencia de un doble enlace conjugado con dicho grupo carbonilo.

Un efecto parecido, pero de signo contrario, se observa en la señal correspondiente al grupo carboxílico, que en la Itanoxona aparece a 167.5 ppm y en el producto 1 aparece a $\delta = 168.38$ ppm (48).

Espectro de masas.

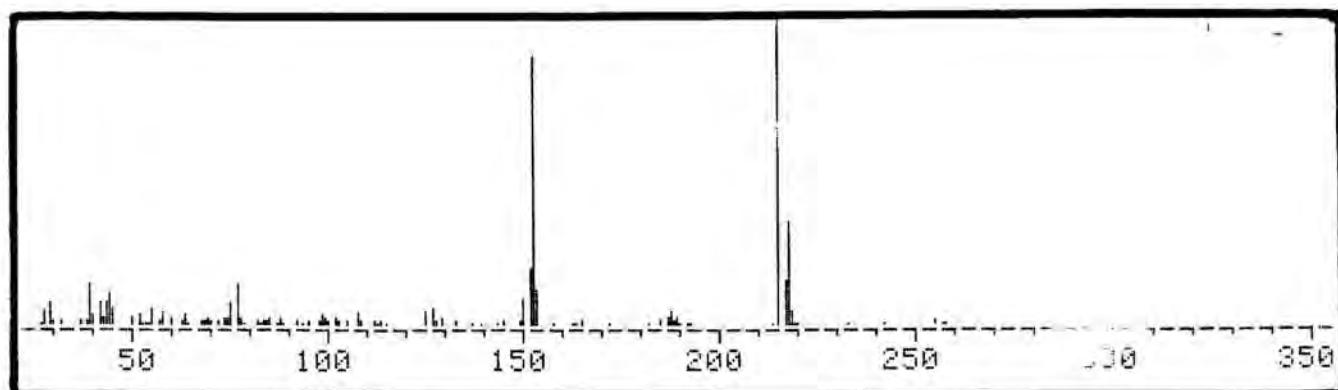
El espectro de masas del producto 1 (figura 169) presenta los picos característicos de la fragmentación de la Itanoxona con una mayor abundancia de los fragmentos de masa más pequeña, $m/e=43.10$, que quizás expliquen la abundancia imperceptible del pico molecular a 300.



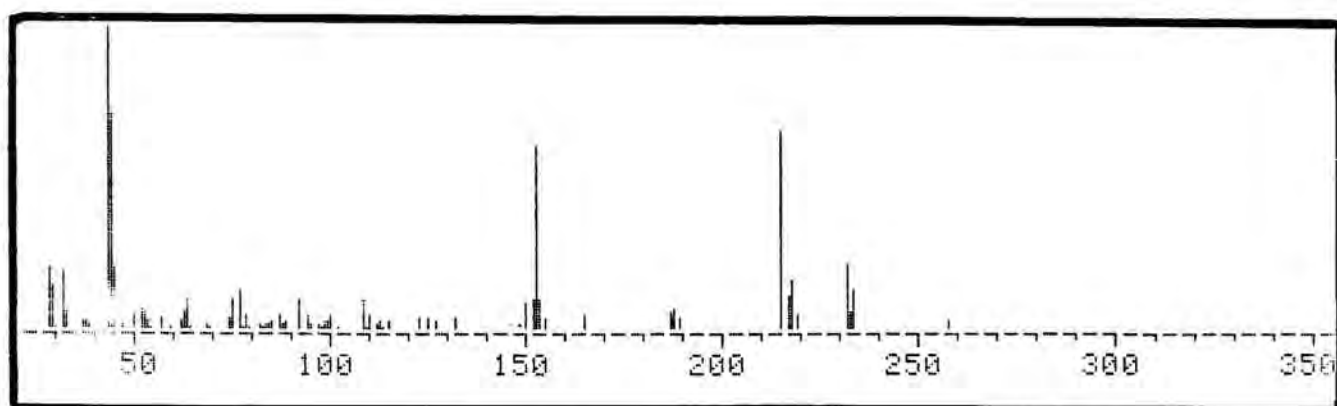
★ Señales debidas a los carbonos de la Itanoxona.
 * Señales producidas por los carbonos del producto 1.

Figura 168: Espectro de ^{13}C -RMN de la mezcla de isomerización (Itanoxona y producto 1) en DMSO.

FIGURA 169.



Espectro de masas de la Itanoxona.



m/e	abundancia relativa (%)
257.0	3.4
230.7	20.9
217.6	15.9
215.6	64.2
189.6	4.4
187.5	7.4
152.5	58.8
126.3	3.0
125.4	4.1
108.0	10.1
99.4	2.7
85.3	2.7
76.0	12.5
43.1	100.0

Espectro de masas del producto 1.

7.2. PRODUCTO 0.

Aspecto.

Cristales arborescentes e incoloros.

Punto de fusión.

Se ha determinado mediante platina de Köfler, obteniéndose un valor de 160-165°C.

Solubilidad.

Los cristales aislados han demostrado ser solubles en acetato de etilo, acetona y etanol absoluto.

Cromatografía en capa fina.

Utilizando como líquido de desarrollo metanol/cloroforno 15/85, su $R_f=0.28$, quedando localizado en el cromatograma entre la Itanoxona y su isómero el producto 1 (figuras 36 y 39).

Relación con los otros productos estudiados.

En los ensayos de cromatografía en capa fina bidimensional, ha demostrado ser un producto estable sobre las placas de silicagel a temperatura elevada de 60°C (figura 101).

En las degradaciones de Itanoxona sobre silicagel no se aprecia su formación, debiendo ser realizados los ensayos anteriores, a partir de disoluciones degradadas en medio etanólico. En dichas disoluciones

nes es uno de los productos finales de la degradación, junto con el producto 3.

Espectro UV.

Su espectro característico en etanol absoluto presenta un solo máximo de absorción a 252 nm (figura 170), que sirve de criterio de reconocimiento, dada su reproductibilidad.

Espectro IR.

El espectro IR realizado en pastilla de KBr, muestra la presencia de un grupo hidroxilo ($3100-3500\text{ cm}^{-1}$), de un solo grupo carbonilo a 1650 cm^{-1} y se insinúa una banda a 1730 cm^{-1} propia de un grupo lactona (figura 171) (46) (50).

Espectro de resonancia magnética nuclear de protón.

Se ha realizado el espectro de ^1H -RMN en metanol del producto 0, que se muestra en la figura 172.

Las señales características de este espectro distintas del producto de partida son (49):

δ ppm	GRUPO
2.13	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{=C} \\ \diagdown \\ \text{C=O} \end{array}$
7.49	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \\ \text{=C} \\ \diagdown \\ \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{OH} \\ \diagdown \text{Ar} \end{array} \end{array}$

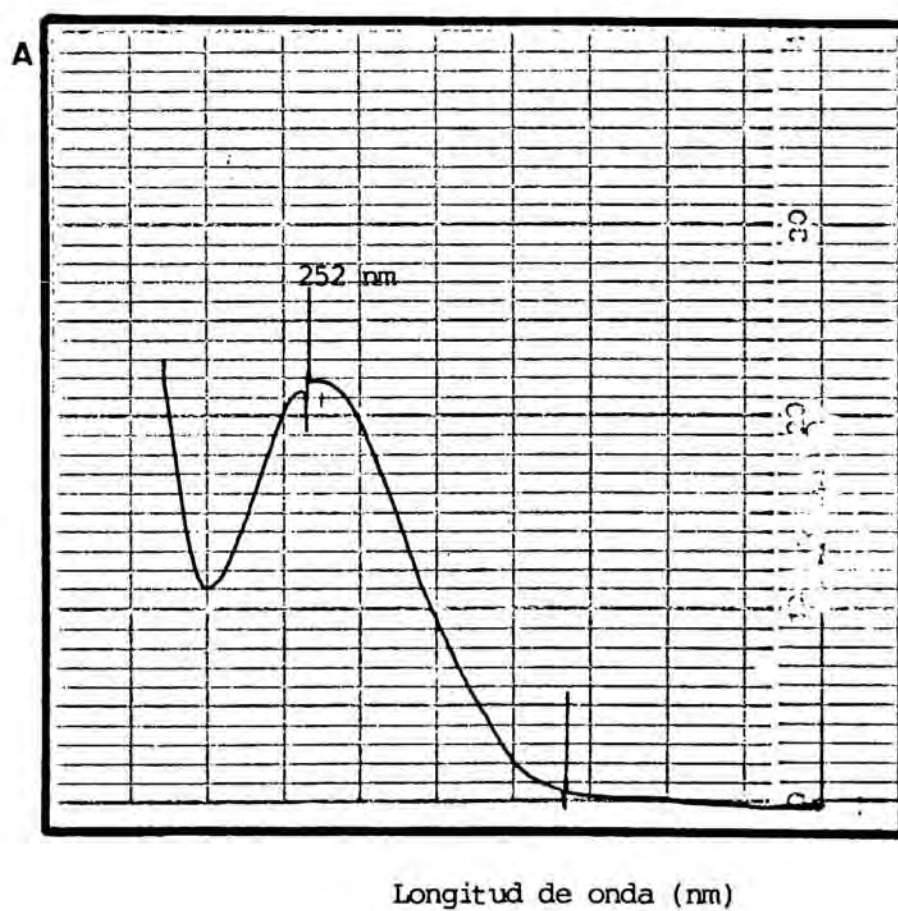


Figura 170 : Espectro UV del producto 0 en etanol absoluto.

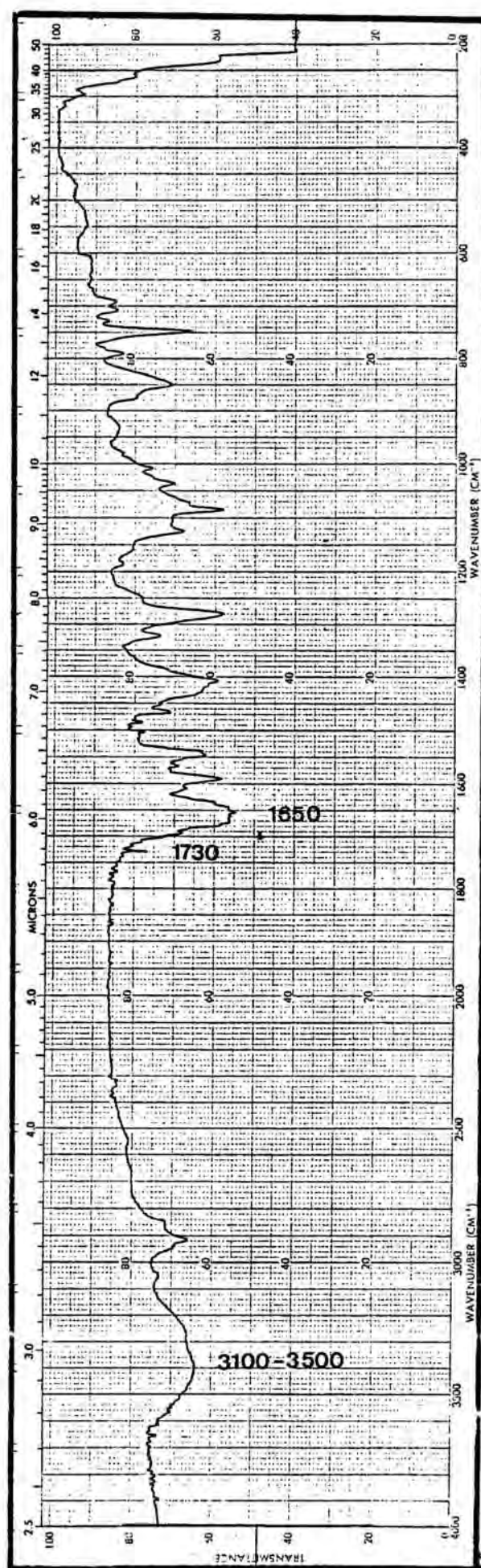


Figura 171: Espectro IR del producto 0 en KBr.

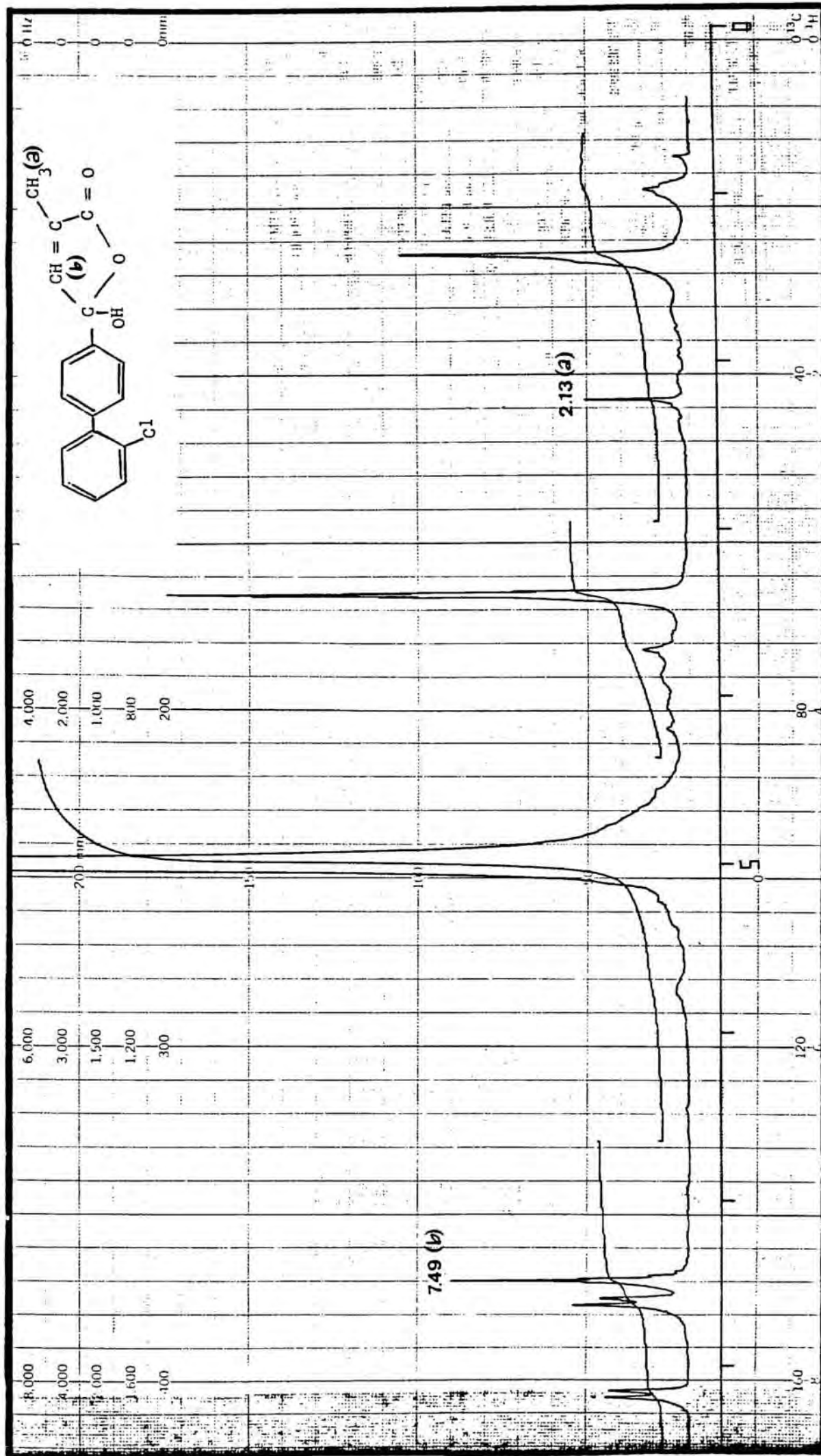
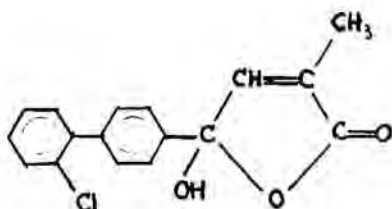


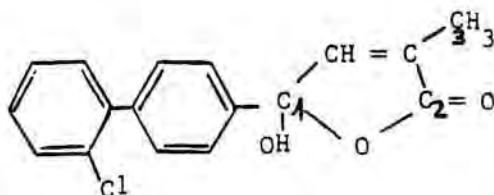
Figura 172: Espectro de resonancia magnética nuclear de protón del producto 0.

Este espectro junto con el de IR puede interpretarse por la siguiente estructura:



Espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C .

El espectro de ^{13}C -RMN del producto 0 en DMSO obtenido a partir de una pequeña cantidad de producto aislado, ha permitido detectar las siguientes señales que confirman la estructura propuesta:



A $\delta = 108.3$ ppm que corresponde al carbono hemiacetalico (C_1), y otra a $\delta = 167.4$ ppm, que es debida al C_2 . También aparece una señal a $\delta = 24.3$ ppm, que puede interpretarse como indicador del grupo metilo (C_3). La ausencia de señal a $\delta = 196.7$ ppm, debida al grupo cetónico de la Itanoxona, y la señal $\delta = 41.6$ ppm propia del carbono del grupo metilénico ($=\text{CH}_2$), confirman también la misma estructura.

Espectro de masas.

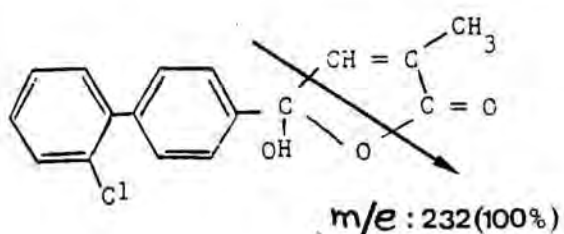
Los picos más importantes obtenidos por espectrometría de masas, con su abundancia relativa, se mues-

tran en la tabla 173 y figura 174.

m/e	ABUNDANCIA RELATIVA
234	35.8
233	16.6
232	100.0
230	14.8
217	29.0
216	12.6
215	85.8
187	7.4
186	4.1
152	78.2
151	21.3
150	12.6
149	18.2
125	7.45
107	7.0
44	23.3

TABLA 173: Picos más importantes obtenidos por espectrometría de masas del producto 0.

Destaca por su importancia el pico mayoritario a $m/e = 232$ (100%), que solo se da como fragmentación mayoritaria en este compuesto, no observándose ni en la Itanoxona ni en los demás productos de degradación en fragmentos con abundancias relativas superiores al 10%. Su interpretación está de acuerdo con la fragmentación:



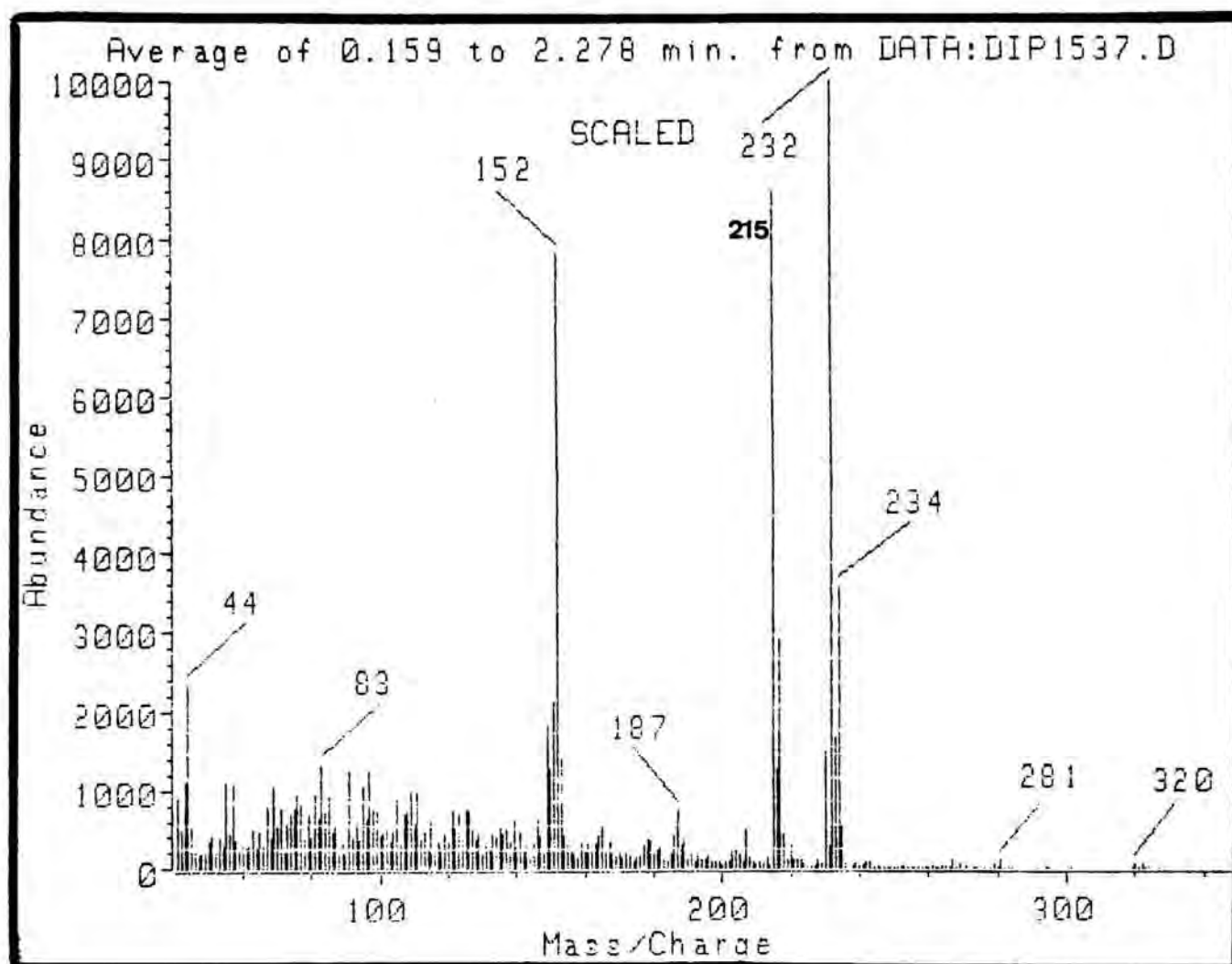


Figura 174: Espectro de masas del producto 0.

que concuerda con la estructura propuesta.(51)

Los demás picos coinciden con los valores hallados en la fragmentación de la Itanoxona (figura 12b).

7.3. PRODUCTOS 3 Y 3₁.

En los estudios de degradación efectuados no se distingue entre estos dos productos, que se localizan casi superpuestos en el cromatograma. La variación en el máximo del espectro UV del producto extraído puso en evidencia de que no se trataba de un producto puro. Aumentado la polaridad del líquido de desarrollo (cloroformo/metanol 80/20) o bien aumentando la longitud del desarrollo con el eluyente empleado normalmente (cloroformo/metano 85/15) se ha logrado separar dos productos que denominamos 3 y 3₁, siendo el producto 3 el que aparece en primer lugar en las degradaciones sobre silicagel o en disolución etanólica y el de mayor R_f.

Aspecto.

Extraídos por C.C.F. preparativa ambos productos presentan un aspecto oleoso y de color pardo amarillento.

Solubilidad.

Dichos líquidos oleosos se disuelven fácilmente en etanol, metanol y acetato de etilo.

Su solubilidad en agua es muy baja, como se demuestra en las degradaciones de Itanoxona en medio acuoso a pH=9, ya que a partir de una disolución de Itanoxona, precipita a lo largo de la degradación un producto amarillento constituido por una mezcla de productos 1 y 3, como se demuestra por C.C.F.

Cromatografía en capa fina.

La localización de ambos productos en el cromatograma y sus R_f respectivos, así como los espectros UV obtenidos a partir de las extracciones, se consignan en las figuras 36 y 39.

Relación con los otros productos.

Se forman tanto a partir de la Itanoxona como del producto 1, tanto en degradaciones en solución etanólica, como en silicagel.

En productos envejecidos es uno de los estadios finales estables de la degradación, junto con el producto 0 en solución etanólica y con el producto a sobre silicagel, siendo en este último caso más largos los tiempos controlados.

En las degradaciones realizados a bajas temperaturas (nevera y 35°C) no se aprecia su formación, lo que indica que su formación tiene lugar a través de una reacción muy afectada por la temperatura.

Sobre silicagel a temperaturas altas (60-70°C) demuestra cierta inestabilidad ya que aparecen indicios a R_f distinto en cantidades no cuantificables.

En los estudios de cromatograma bidimensional se han puesto de manifiesto y de forma reiterada que su formación resulta de la degradación directa de la Itanoxona, más que de la degradación indirecta a través del producto 1 (figura 101, tabla 102).

Espectro UV.

Los espectros en etanol absoluto se reproducen en las figuras 175 y 176, observándose claramente que se trata de productos distintos con espectros UV perfectamente reproducibles.

El producto 3 presenta un máximo poco pronunciado a 271 nm en etanol absoluto, en tanto que el producto 3₁, en el mismo disolvente, presenta un máximo a 245 nm.

Espectro IR.

El espectro IR de los productos 3 y 3₁, realizados en cloroformo, se muestran en las figuras 177 y 178.

Sus espectros son muy semejantes en esencia, destacando la ausencia del grupo OH carboxílico, característico de la Itanoxona y muchos de sus derivados, y la presencia de un grupo carbonilo a 1710 cm^{-1} (46) (47).

Espectros de resonancia magnética nuclear de protón.

Se han realizado los espectros de resonancia magnética nuclear de protón de los productos 3 y 3₁, en metanol.

Aunque se ha procurado trabajar sobre muestras separadas de los productos 3 y 3₁, los espectros de ^1H -RMN ponen claramente en evidencia que se trata de mezclas de los dos productos, con predominio de uno de ellos.

Aparecen dos señales características, a $\delta = 2.74\text{ ppm}$ en el espectro del producto 3 y a $\delta = 2.25\text{ ppm}$ en el

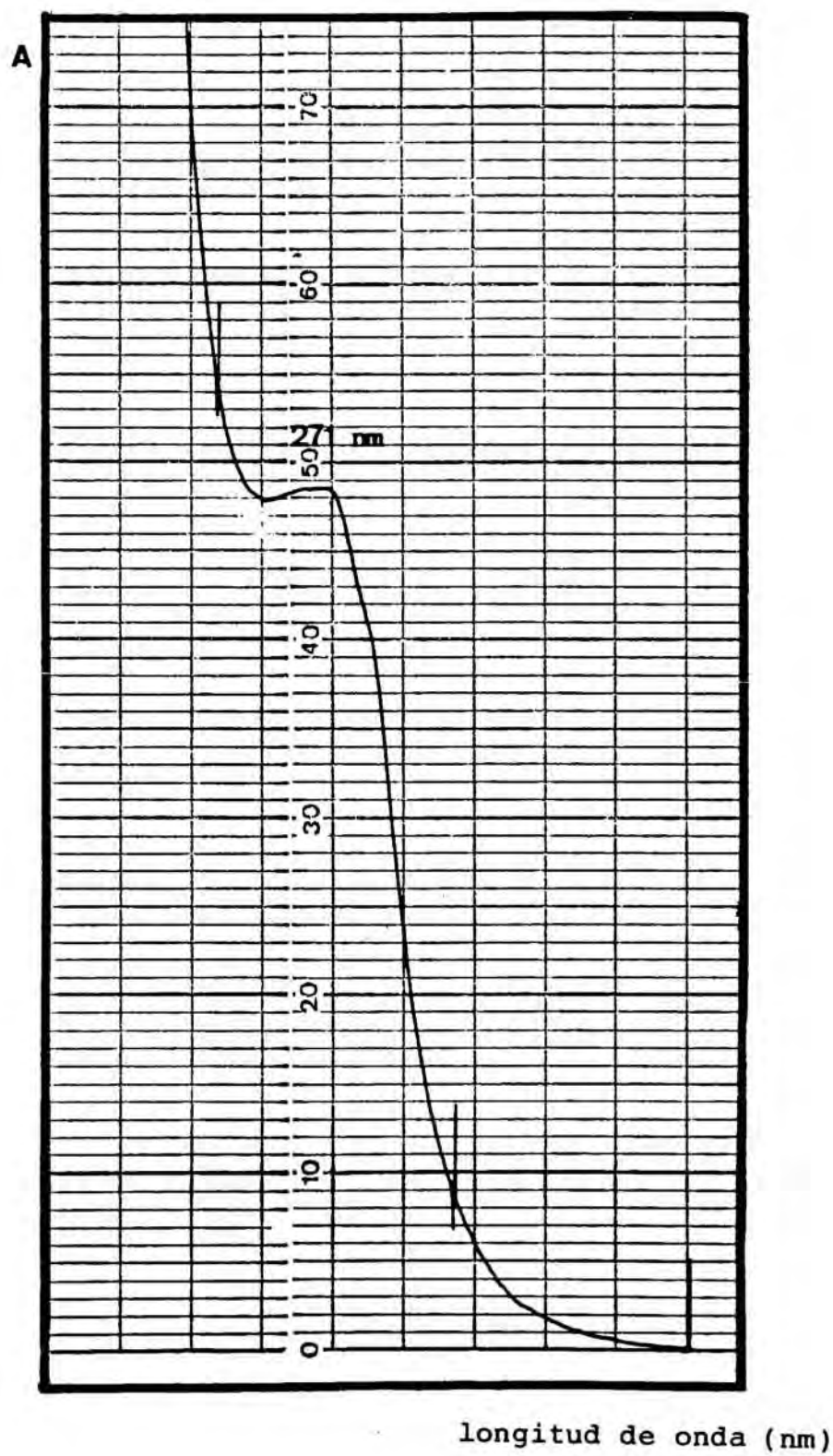


FIGURA 175: Espectro UV del producto 3 en etanol absoluto.

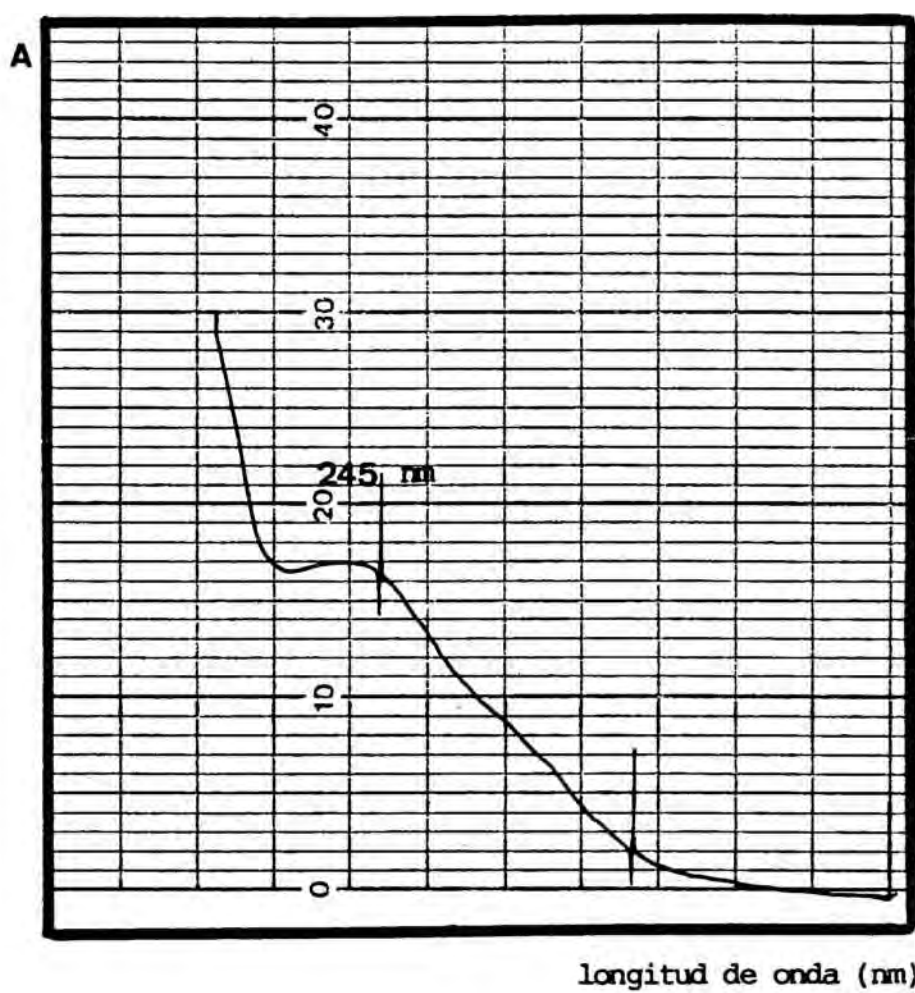
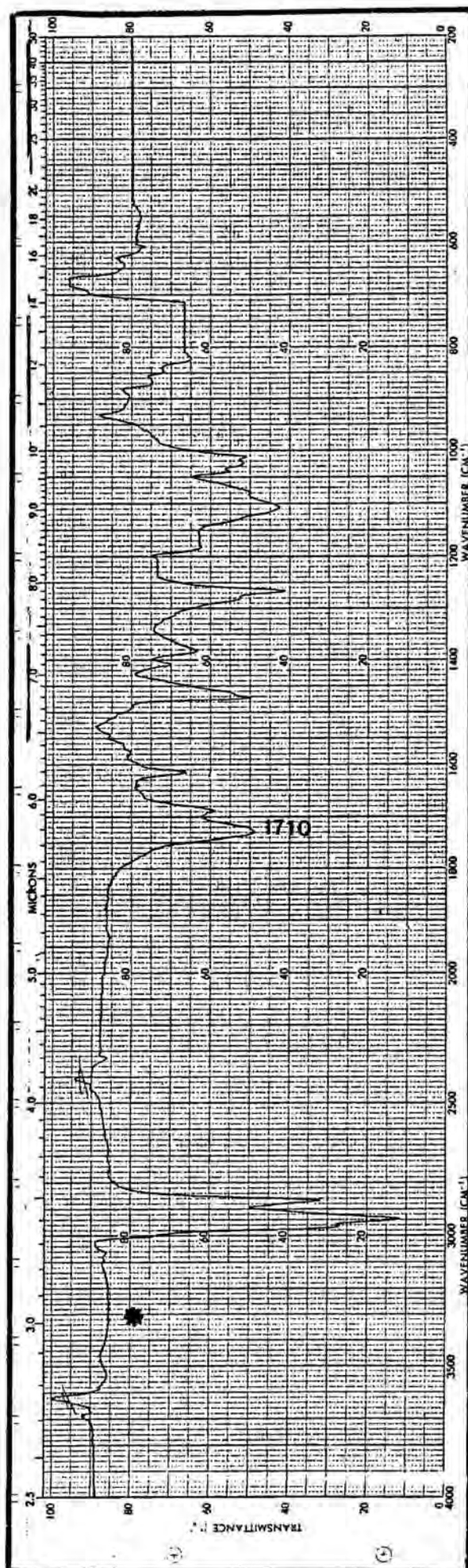
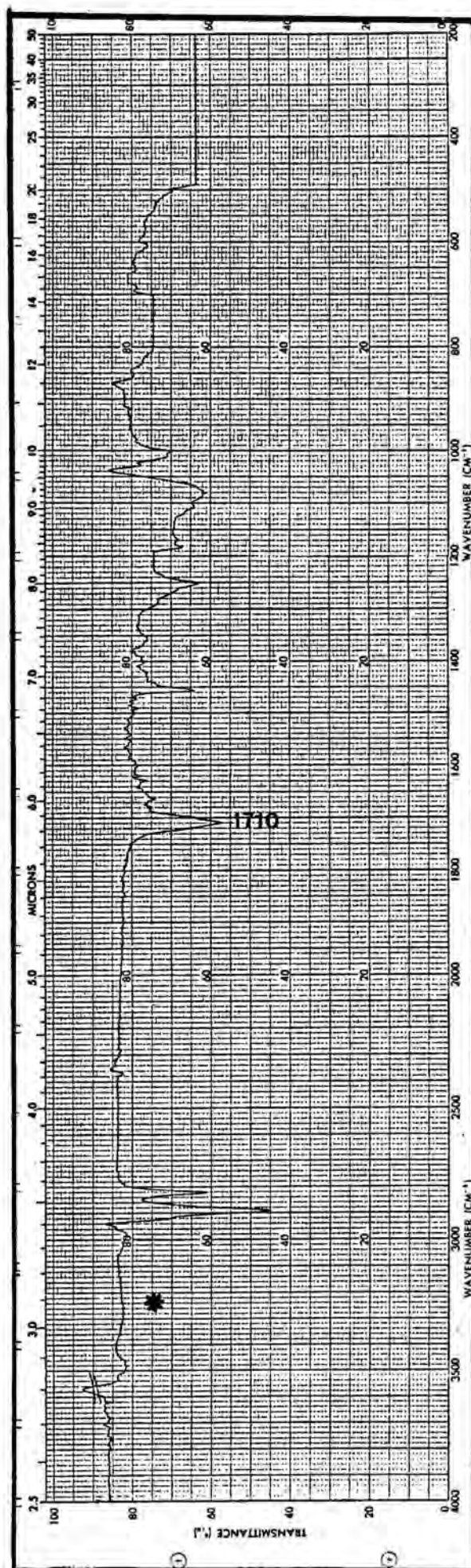


FIGURA 176: Espectro UV del producto $\underline{3}_1$ en etanol absoluto.



* Ausencia del grupo OH.

FIGURA 177: Espectro IR del producto 3 en solución clorofórmica.

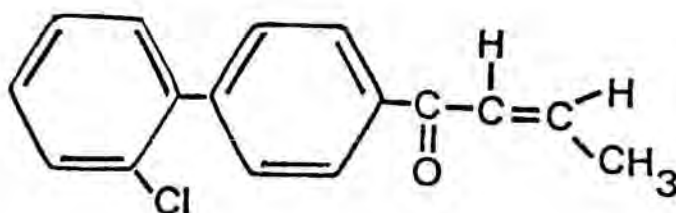


* Ausencia del grupo OH.

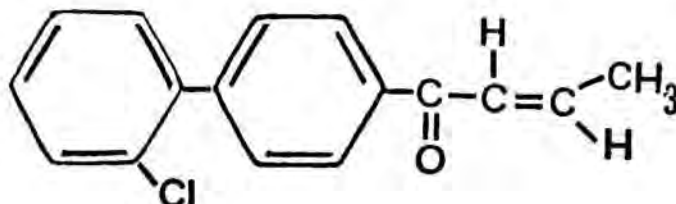
FIGURA 178: Espectro IR del producto 3₁ en solución clorofórmica.

espectro del producto $\underline{3}_1$, propias de los hidrógenos de un grupo metilo. El que sea predominante define el compuesto de que se trata. La presencia del grupo metilo, junto con la ausencia del grupo carboxílico deducida a del espectro IR, nos lleva a suponer que se trata de un producto que mantiene la integridad molecular, habiendo perdido el grupo carboxílico por descarboxilación.

Por tratarse de un compuesto con un doble enlace olefínico, puede presentar las estructuras CIS(Z) y TRANS (E):



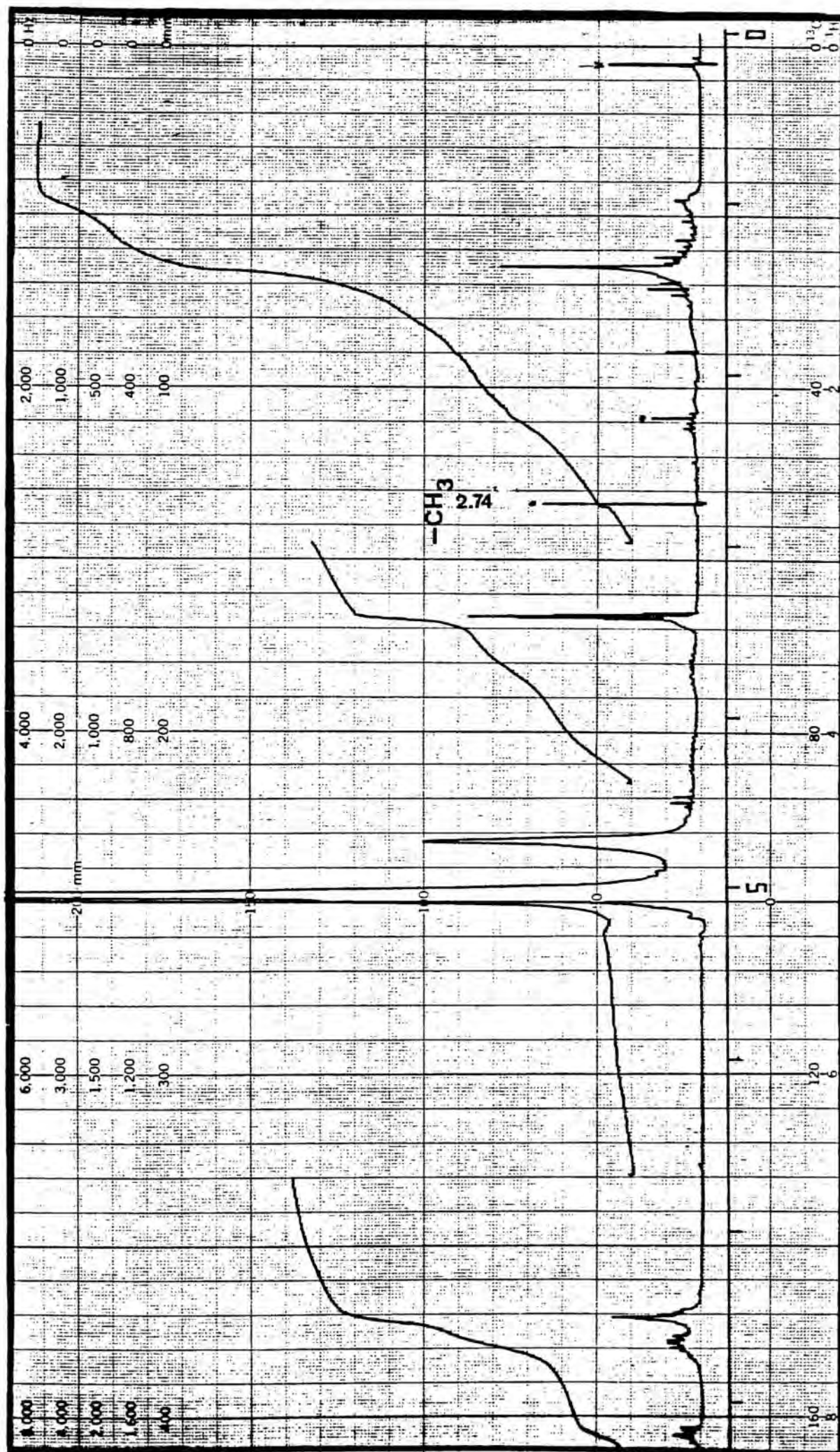
CIS (Z)



TRANS (E)

Pudiendose atribuir las diferencias de polaridad, así como la señal del grupo metilo, a esta isomería.

El compuesto CIS presenta un efecto desapantallante

FIGURA 179: Espectro de ^1H -RMN del producto 3 en metanol.

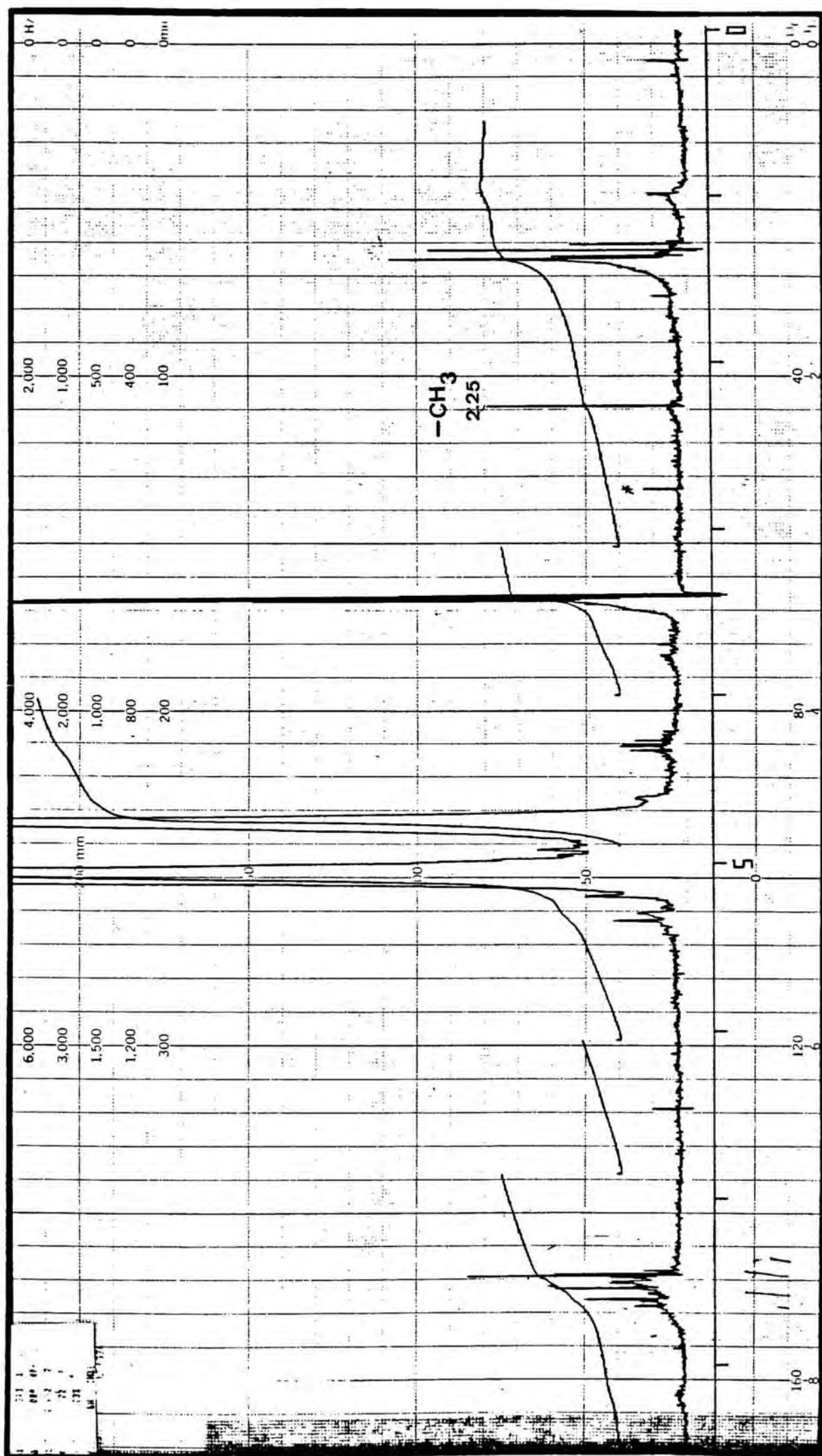


FIGURA 180: Espectro de ^1H -RMN del producto 3_I en metanol.

debido a la proximidad del grupo metilo y del grupo carbonilo, que repercute en un aumento del desplazamiento químico, en relación con el compuesto TRANS, que por no poseer dicho efecto desapantallante presenta un desplazamiento químico menor. Por ello al compuesto 3 se le atribuye la estructura CIS ($\delta = 2.74$ ppm) y al compuesto 3₁ la estructura del compuesto TRANS ($\delta = 2.25$ ppm).

Espectro de masas.

Los espectros de masas de los compuestos 3 y 3₁ realizados, se muestran en las figuras 181 y 182.

Se pueden destacar los picos fundamentales con sus abundancias relativas, que al considerarlos conjuntamente, ponen de manifiesto unas diferencias significativas (Tablas 183 y 184). La diferencia entre las dos fragmentaciones puede interpretarse de manera concordante con la anteriormente efectuada atribución de estructuras.

En las figuras 185 y 186 se muestran los esquemas de fragmentación de los compuestos CIS y TRANS. Se considera que el fragmento $m/e = 230$, solo puede formarse a partir del compuesto CIS, lo que concuerda con la atribución de isomerías realizadas en base a los espectros ¹H-RMN. (52)

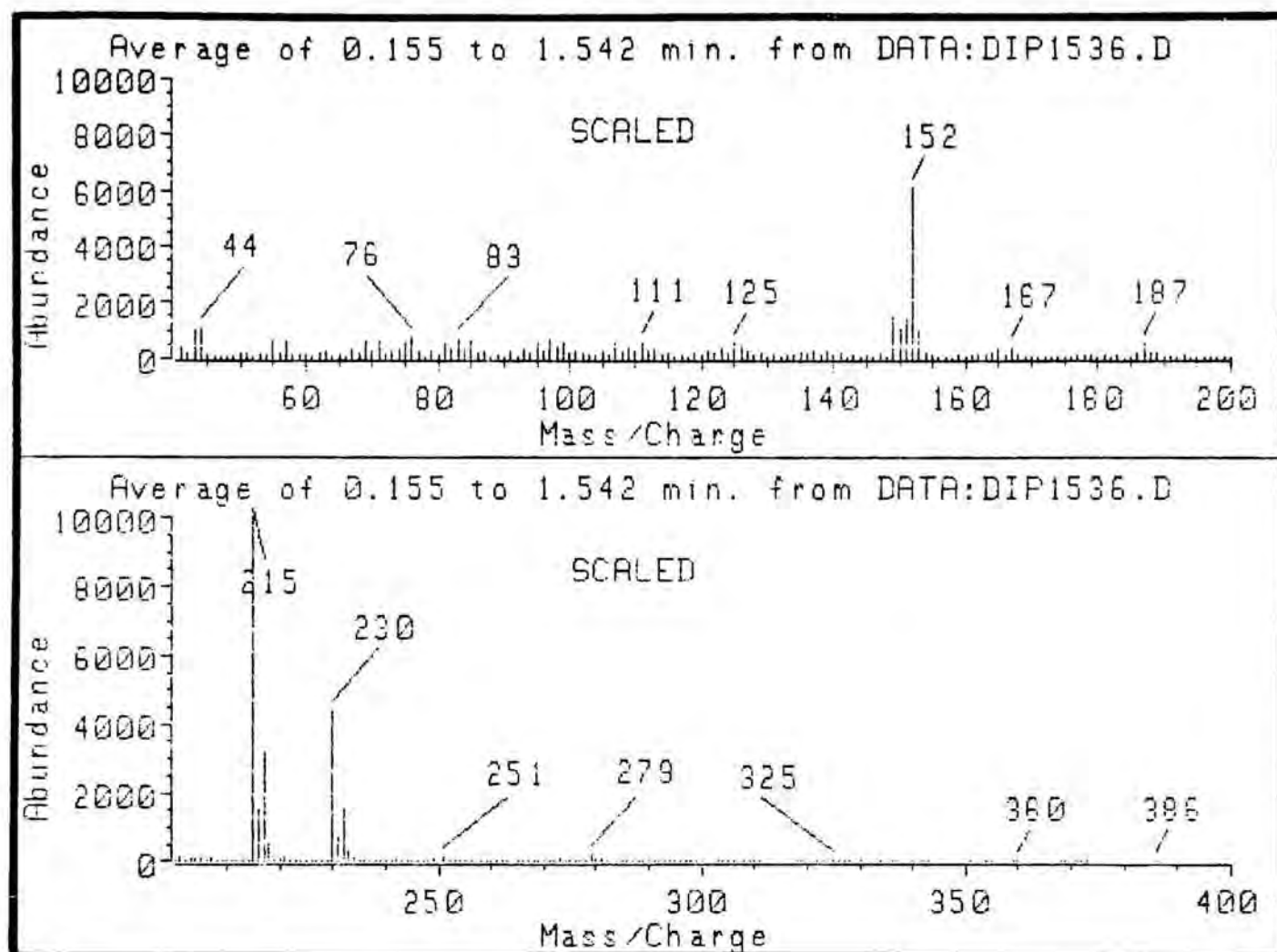


FIGURA 181: Espectro de masas del producto 3.

m/e	ABUNDANCIA RELATIVA (%)
230	44.0
215	100.0
187	5.6
167	4.3
152	61.0
76	7.5
44	10.6

TABLA 183: Espectro de masas del producto 3. Picos fundamentales, con sus abundancias relativas.

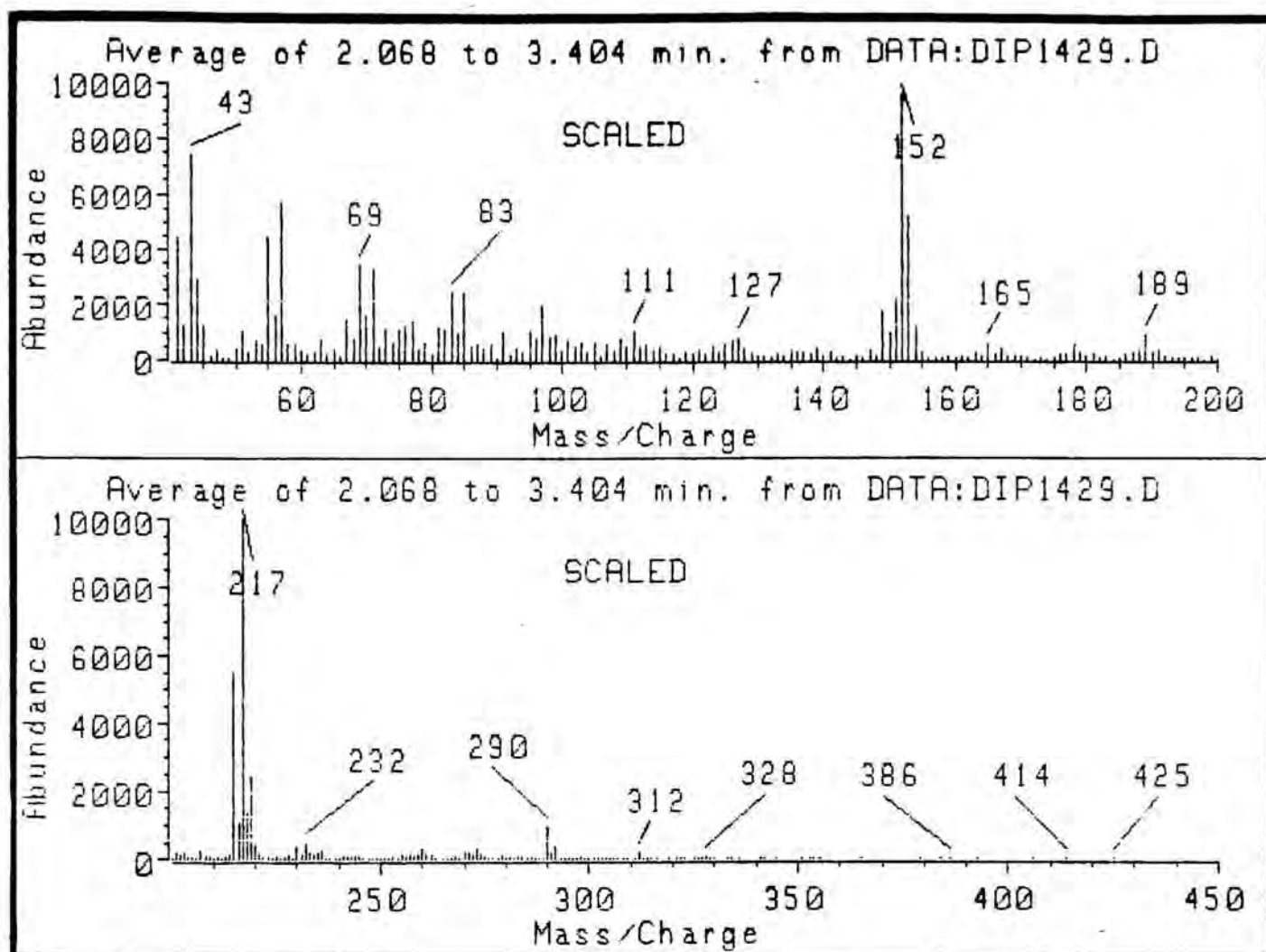


FIGURA 182: Espectro de masas del producto 3_1 .

m/e	ABUNDANCIA RELATIVA (%)
232	4.8
217	100.0
215	5.5
189	8.8
165	5.8
152	95.6
83	24.4
43	7.5

TABLA 184: Espectro de masas del producto 3_1 . Picos fundamentales, con sus abundancias relativas.

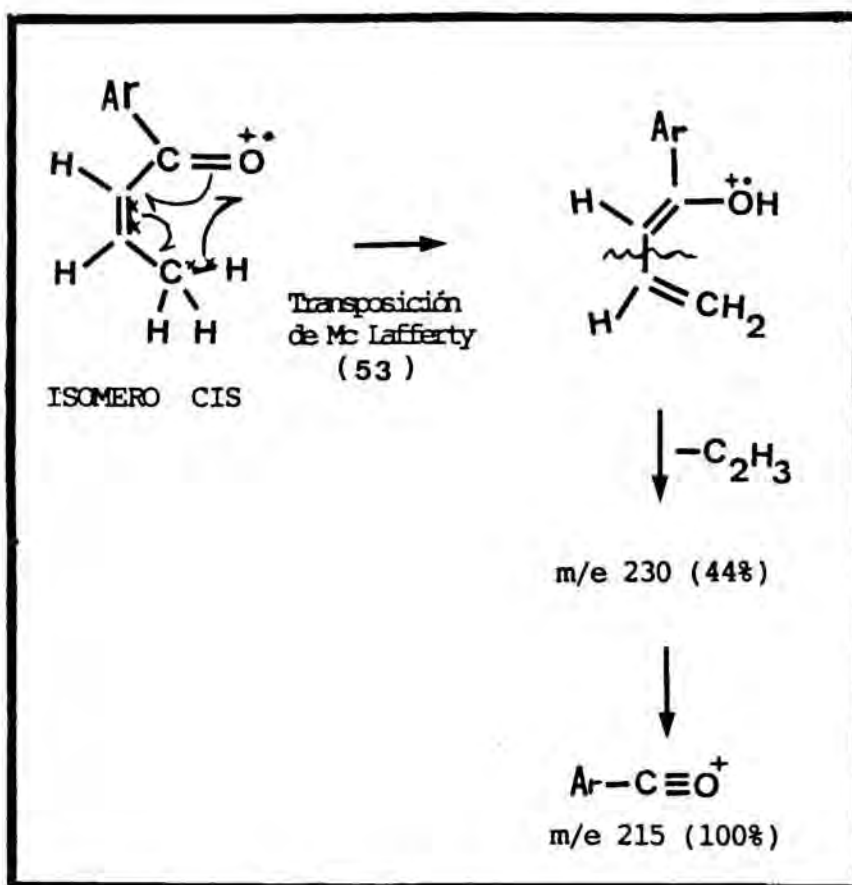


FIGURA 185: Esquema de fragmentación del producto CIS. La fragmentación posterior al compuesto $m/e=215$ es igual a la de la Itanoxona.

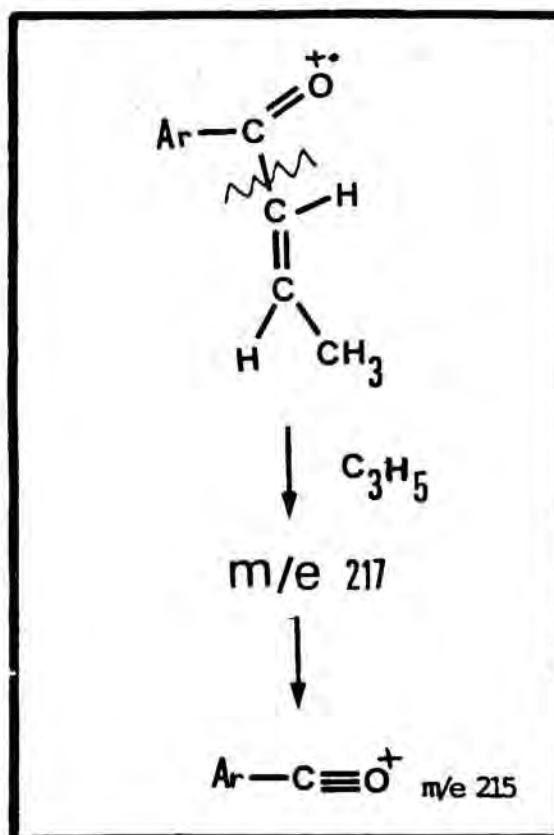


FIGURA 186: Esquema de fragmentación del producto TRANS. La fragmentación sigue igual que en la Itanoxona.

7.4. PRODUCTO a.

Es un producto que aparece en las degradaciones en medio etanólico y también sobre silicagel. Las absorbancias de la sustancia extraída son siempre muy bajas, por lo que no ha sido posible estudiarla en profundidad. En los procesos de degradación en medio etanólico, aparece como un producto intermedio, ya que sus absorbancias van disminuyendo en las fases avanzadas del proceso. Sobre silicagel se presenta como un producto final estable, ya que se presenta en pequeña cantidad en todas las muestras envejecidas, y al efectuar la cromatografía bidimensional no muestra ninguna descomposición observable.

Su R_f en el cromatograma (figuras 36 y 37) en silicagel, utilizando como líquido de desarrollo el habitualmente empleado (cloroformo/metanol:85/15) es 0.08, con lo que demuestra presentar una mayor polaridad que los demás productos estudiados.

El espectro UV en etanol absoluto presenta un máximo a 270 nm y se muestra en la figura 187.

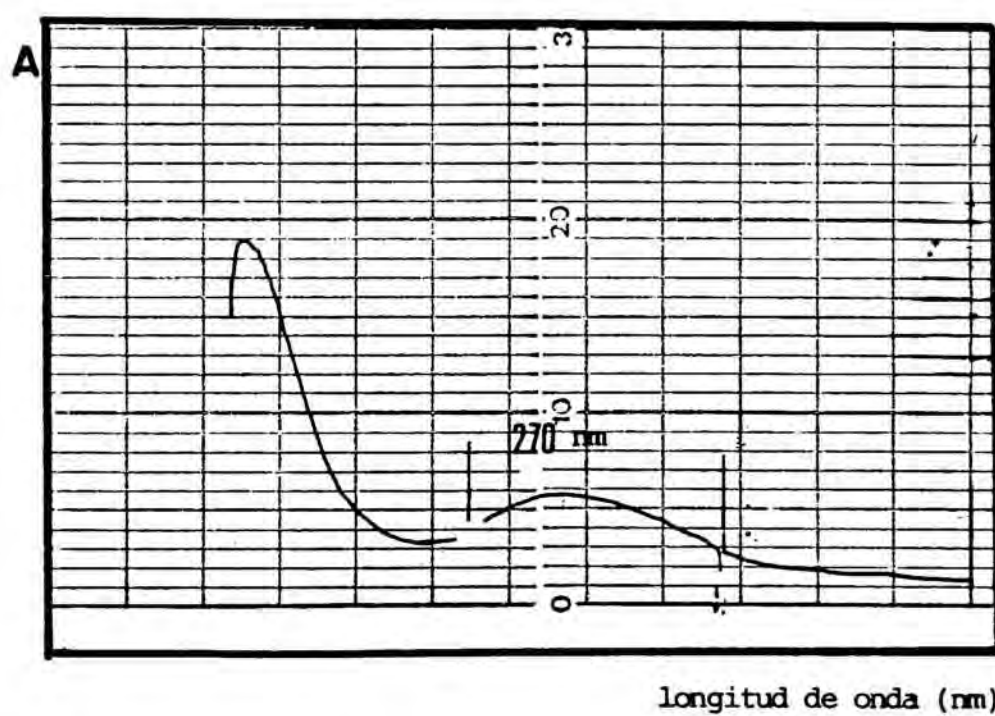
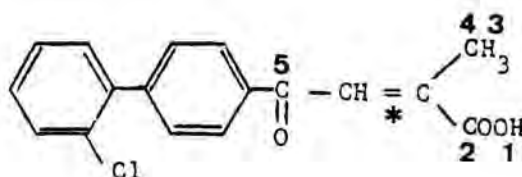


FIGURA 187: Espectro UV del producto a en etanol absoluto.

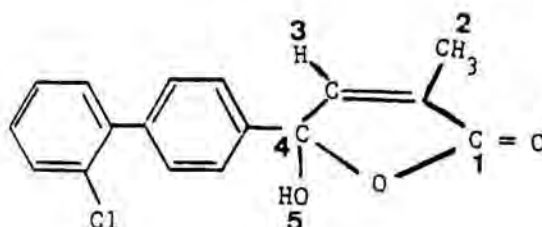
A continuación se presenta una serie de resúmenes esquemáticos, con las estructuras deducidas y las señales de los diferentes espectros que han permitido o confirmado dicha deducción.

PRODUCTO 1.

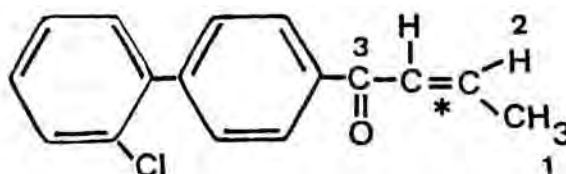


- 1 Grupo OH: Presenta una banda IR entre 3100 y 3600 cm^{-1} .
- 2 Grupo C=O del ácido carboxílico identificado por IR, banda a 1715 cm^{-1} .
- 3 Tres protones metílicos, identificados por ^1H -RMN $\delta = 2.05$ ppm (s) en DMSO.
- 4 Carbono del grupo metilo, identificado por ^{13}C -RMN $\delta = 14.6$ ppm (s) en DMSO.
- 5 Grupo cetónico, identificado por banda en IR a 1670 cm^{-1} , y por ^{13}C -RMN con $\delta = 196.7$ (s).
- * Configuración TRANS del doble enlace, identificada por banda a 980 cm^{-1} en el espectro IR

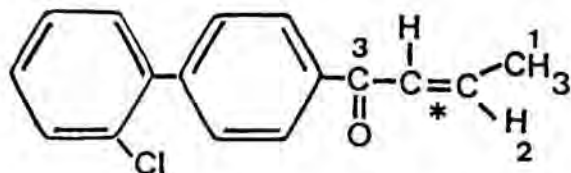
Espectro de masas coincidente con el de la Itanoxona.

PRODUCTO 0.

- 1 Grupo cetónico, identificado por IR, banda a 1650 cm^{-1} y por ^{13}C -RMN $\delta = 167.4\text{ ppm}$.
- 2 Tres protones del grupo metilo, identificados por ^1H -RMN con señal a $\delta = 2.13\text{ ppm (s)}$.
- 3 Hidrógeno caracterizado por ^1H -RMN, con señal a $\delta = 7.49\text{ ppm (s)}$.
- 4 Carbono hemiacetalico, que presenta, en el espectro de ^{13}C -RMN, una señal característica a $\delta = 108.3\text{ ppm}$.
- 5 Grupo OH, identificado por IR, banda a $3100\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$.

PRODUCTO 3.

- 1 Los tres protones del grupo metilo han sido caracterizados por la señal a $\delta = 2.74$ (s) del espectro ^1H -RMN.
- 2 Por el espectro IR se constata la no presencia del grupo $-\text{COOH}$ de la Itanoxona.
- 3 Grupo cetónico determinado por la señal a 1710 cm^{-1} en el espectro IR.
- * Presenta isomería CIS determinada por el efecto desapantallante que afecta a la señal del ^1H -RMN $\delta = 2.74$ y el espectro de masas que presenta $m/e = 230$ y $m/e = 215$.

PRODUCTO 3₁.

- 1 Los tres protones del grupo metilo han sido caracterizados por la señal a $\delta = 2.25$ ppm del espectro ^1H -RMN.
- 2 Por el espectro IR, se constata la no presencia del grupo $-\text{COOH}$ de la Itanoxona.
- 3 Grupo cetónico, caracterizado por la señal, en el espectro IR, a 1710 cm^{-1} .
- * Presenta configuración TRANS, determinada por la señal en el espectro ^1H -RMN, a $\delta = 2.25$ ppm, que no presenta efecto desapantallante, y el espectro de masas presenta $m/e=232$ y $m/e=217$.

8.- INTERPRETACION GLOBAL DEL
PROCESO DE DEGRADACION.

8. INTERPRETACION GLOBAL DEL PROCESO DE DEGRADACION.

Los resultados obtenidos en el tratamiento cinético de los datos experimentales (Capítulo 6), junto con los estudios estructurales efectuados (Capt. 7), pueden ser presentados de manera globalizada, tal como se muestra en la figura 188. En dicho esquema se atribuye al producto a la estructura de enol, lo que no está totalmente demostrado, debido a que no se ha dispuesto de suficiente cantidad de producto para efectuar estudios espectroscópicos. Se puede considerar muy probable que se trate de dicha estructura, por ser un producto que se forma desde las primeras etapas del proceso y presenta una elevada polaridad.

Los procesos de descarboxilación obedecen a cinéticas con una elevada energía de activación, por lo que a temperaturas bajas resultan prácticamente inexistentes. En las experiencias realizadas se ha constatado que a 50°C, para períodos de 2 y 4 años, y a 35°C durante 126 días, no se aprecia formación de los productos 3 y 3₁.

La constante K4 engloba, como puede verse en el esquema, los procesos de degradación simultáneos que tienen lugar a partir de la Itanoxona, y que son independientes de su proceso de isomerización a producto 1.

En medio etanólico, uno de los productos finales, perfectamente detectable, de este mecanismo de degradación, es el producto 0 de naturaleza cíclica. Sin embargo este producto no se forma en cantidad apreciable cuando las degradaciones tienen lugar en silicagel. No obstante, por cromatografía bidimensional, se ha demostrado que el producto 3, que se forma como uno de los productos finales, procede mayoritariamente de la degradación directa de la

Itanoxona, probablemente a través del producto a, como producto intermedio.

La presencia de ión magnesio acelera el proceso de degradación, actuando como catalizador. En el estudio comparado, realizado entre la degradación en medio etanólico, con y sin presencia de sulfato de magnesio (figura 139), se observa que, mientras que en las primeras fases del proceso las degradaciones son casi idénticas, en las fases avanzadas presentan diferencias importantes, que parecen condicionadas a la presencia de producto 1 en el medio.

La aplicación de la ecuación XXII en el máximo del producto 1, da, en presencia de sulfato de magnesio, un cociente más bajo (3.36) que en su ausencia (3.60) lo que corresponde a un mayor valor de la constante K_3 , ya que las constantes K_1 y K_2 deben mantener su proporción, dado que definen un equilibrio y este no puede ser alterado por un catalizador. Con todo ello parece coherente interpretar que el efecto catalítico del magnesio es sobre la descarboxilación del producto 1, afectando principalmente a la constante K_3 .

Los procesos de descarboxilación están entrópicamente favorecidos, ya que la entropía de activación es positiva, a diferencia de las demás constantes que intervienen, que presentan una entropía de activación negativa.

9.- CONCLUSIONES.

9. CONCLUSIONES.

1. Se establece la solubilidad de la Itanoxona en agua y su variación con el pH, obteniéndose resultados discrepantes en relación a los publicados por Couse y cols.
2. Se han estudiado los espectros UV de la Itanoxona en etanol, metanol y agua, y se ha comprobado el cumplimiento de la ley de Beer en la longitud de onda de su máximo.
3. Se pone a punto un método analítico aplicable en presencia de los productos de degradación, basado en la cromatografía en capa fina cuantitativa y posterior lectura espectrofotométrica en etanol. Se ha comprobado su buena reproducibilidad, exactitud y linealidad.
4. Se caracterizan los principales productos de degradación de la Itanoxona por su comportamiento cromatográfico en capa fina y por los espectros UV de sus eluatos.
5. Se ha comprobado que la sustancia pura cristalizada, se mantiene inalterada a 70°C durante 213 días. En medio con un 100% de humedad relativa, la estabilidad es menor.
6. Se pone de manifiesto una gran analogía entre las degradaciones de la Itanoxona en medio etanólico y en medio acuoso, a pesar de la dificultad de trabajar en medio acuoso por su baja solubilidad.
7. Se pone de manifiesto que las cinéticas de degradación de la Itanoxona en medio etanólico, se pueden interpretar como la superposición

de dos procesos cinéticos de primer orden, uno rápido y otro lento, que afecta a dos porciones de la Itanoxona inicial. Se establecen criterios estadísticos para determinar los parámetros cinéticos de estos procesos.

8. El producto 1, que es el producto de degradación mayoritario, sigue una curva cinética propia de los productos intermedios, alcanzándose un máximo en su concentración a un tiempo constante para cada temperatura. Cuando se alcanza la concentración máxima, la relación entre la Itanoxona y el producto 1 se mantiene también constante.
En muestras envejecidas su concentración es inapreciable.
9. Aparece un producto denominado 0, del que solo se consiguen cantidades apreciables en soluciones muy envejecidas. Se considera uno de los productos finales de la degradación en medio etanólico.
10. Otro producto final de la degradación en solución etanólica, es el denominado producto 3, que se desdobra en dos productos de Rf casi idéntico y que pueden diferenciarse por su máximo de absorción en el UV (271 nm y 245 nm), siendo el predominante el del máximo a 271 nm.
11. Un producto denominado a, se caracteriza por absorbancias poco intensas que siguen un proceso de crecimiento y decrecimiento propio de los productos intermedios. No se detecta su presencia en muestras de Itanoxona en solución etanólica envejecidas.
12. A temperaturas bajas (4-5°C), la única descomposición detectada al cabo de 4 años, es la

formación del producto 1 y una cantidad muy pequeña del producto a. La proporción entre el producto 1 y la Itanoxona es la misma en muestras diferentes que llevan 2 y 4 años a esta temperatura. Este hecho se interpreta como el resultado de un equilibrio entre ambos productos, a los que se considera isómeros. La cromatografía bidimensional justifica esta afirmación.

13. Sobre soportes de silicagel, tienen lugar procesos de degradación mucho más rápidos que los obtenidos en solución etanólica, que siguen una secuencia de degradación muy parecida, pero no igual. Cabe destacar la no aparición de producto 0.
14. Los productos 3, a y 0, no se transforman en otros productos detectables, cuando se someten a temperaturas elevadas sobre soporte de silicagel durante una semana. Por el contrario, tanto la Itanoxona como el producto 1, dan sobre la placa la misma serie de productos de degradación. Los estudios realizados por medio de C.C.F. bidimensional, permiten afirmar que el equilibrio entre Itanoxona y producto 1, está muy desplazado hacia el producto 1, y que el producto 3 se forma en más proporción a partir de la Itanoxona que del producto 1.
15. Las curvas de degradación sobre silicagel son muy parecidas a las que se obtienen en medio etanólico, pudiéndose interpretar como la superposición de dos procesos cinéticos de primer orden, uno lento y otro rápido. Se establece un tratamiento estadístico de los datos, para caracterizar los parámetros de estos procesos cinéticos.

16. Se han realizado estudios de degradación acelerada sobre diferentes soportes sólidos, constituidos por excipientes comunmente empleados en la práctica farmacéutica. Sobre lactosa su tiempo de validez (t_{90}) es de aproximadamente 6 años. Sobre celulosa microcristalina es de 2.5 años. Sobre talco es de unos 20 días. Sobre estearato de magnesio es de poco más de 4 días.
17. La rápida degradación sobre soportes sólidos que contienen ión magnesio (talco y estearato magnésico) puede interpretarse por un efecto catalítico de dicho ión. Dicho efecto se ha comprobado por el hecho de que la degradación sobre soportes de óxido de magnesio es tan sumamente rápida que resulta difícil su control y que la degradación en solución etanólica a la que se ha añadido sulfato de magnesio en suspensión, presenta una descomposición muy diferente en las fases avanzadas sin que se produzca apenas diferencias en las primeras fases. Si en lugar de sulfato magnésico se introduce sulfato cálcico, la degradación no se ve afectada.
18. Se establece un esquema interpretativo del proceso cinético que tiene lugar en solución alcohólica, del que se deriva, mediante cálculo, una expresión de las cantidades de Itanoxona y producto 1, concordantes con los datos experimentales, quedando también explicadas una serie de regularidades observadas, tales como:
- La constancia de la relación Itanoxona con producto 1, para el valor máximo del producto 1.
 - Constancia del tiempo necesario para la formación de la cantidad máxima de producto 1.

19. Utilizando el método de Marquardt y a partir de los diferentes datos cinéticos obtenidos en la parte experimental, se han calculado los valores de las diferentes constantes de velocidad implicadas en el esquema cinético.
20. Empleando la ecuación de Arrhenius, se han determinado, para cada proceso cinético, su energía de activación, el incremento de entropía de activación y los valores de las constantes a 25°C.
21. Utilizando la técnica de C.C.F. preparativa, se ha conseguido aislar pequeñas cantidades de los productos de degradación 1, 0, 3 y 3₁, realizando, a partir de dichas muestras, estudios espectroscópicos encaminados a dilucidar su estructura. A partir de ellas se ha logrado realizar una atribución de estructuras a cada producto e interpretar con ello el proceso químico que tiene lugar en la degradación. El producto 1 corresponde a un isómero de posición del doble enlace, el producto 0 es un derivado ciclado y los productos 3 y 3₁ son dos isómeros resultantes de la descarboxilación de la Itanoxona.

10.- BIBLIOGRAFIA.

10.- BIBLIOGRAFIA.

- (1) LESPAGNOL, A.
"Chimie des Medicaments"
Technique et Documentation.
Paris. 1, 248-269, 1974.
- (2) ALLAIS, A.; ROUSSEAU, G.; MEIER, J. y DERART, R.
"The determination of ionization constants".
Chapman and Hell Ltd., London (1971).
- (3) ROOKS, W.H.
"Naproxen, a patent anti-inflamatori and anal-
gesic agent".
Fed. Proc., 29, 420-423, 1970.
- (4) NICKANDER, R.C.
"Anti-inflammatory and analgesic effects of
fenoprofen".
Fed. Proc., 30, 2059-2061, 1971.
- (5) CHILD, R.; OSTENBERG, A.; GLOBE, A. y TOMCUFCIK, A.
"Fenbufen a new anti-inflammatory analgesic."
J. Pharm. Sci., 66 (4), 466-476, 1977.
- (6) SUNSHINE, A.
"Analgesic value of fenbufen in postoperative
patients. A comparative oral analgesic study
of Fenbufen, Aspirin and placebo".
J. Clin. Pharmacol, 15, 591-597, 1975.
- (7) BIZZI, A.; TACCONI, M.T., VENERONIE. y CINI, M.
"Studies on the hypolipid effect of 7th Inter-
national Congres of Pharmacology".
Paris, Julio de 1978. Abstracts nº 1201, 465.
Editorial Pergamon Press, Paris.

- (8) M. C. BRET-CAPE
"Influence de modifications structurels sur la pharmacocinetique et metabolisme d'une serie cetoacides aromatiques".
Thèse pour doctorat d'etat.
Montpellier (1980).
- (9) COUSSE, H.; MOUZIN, G.; RIEU, J.P.
Pat. Francesa (Pierre Fabre S.A.), 2.265.409, 1974
- (10) COUSSE, H.; MOUZIN, G.; RIEU, J.P. y DELHOM, A.
Pat. Francesa (Pierre Fabre S.A.), 2.300.551, 1975
- (11) Chron. Org. Mond. Santé, 33(3), lista 41-8, 1975
- (12) COUSSE, H.; MOUZIN, G.; RIBET, J. y VEZIN, J.
"Phisicochemical and Analytical Characteristics of Itanoxona".
J. Pharm. Sci., 70 (11), 1245-1248, 1981.
- (13) H. COUSSE
"Etudes anlytiques et chimiques de dereves arilcetobutiriques en relation avec l'impact biologique".
Thèse pour doctorat d'etat.
Toulouse (1981-1982).
- (14) VALLS, O., DEL CASTILLO, B.
"Tecnicas Instrumentales en Farmacia y Ciencias de la Salud".
Editorial Piro, 1985.
- (15) RIEU, J.; MOUZIN, G.; COUSSE, H. y BOUCHERLE, A.
"Secondary Products of Itanoxona".
J. Pharm. Sci., 69, 1, 1980.

- (16) PRESTSCH, E. y CLERC, T.
"Tablas de elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos".
Editorial Alhambra, 1980.
- (17) ROQUES, R.; COUSSE, H.; MOUZIN, G.; DECLERC, J.P. y GERMAIN, G.
"Structure cristalline et moléculaire de l'itanoxone".
Acta Cryst., 37, 457-459, 1981.
- (18) CHICCARELLI, F.S.; EISNER, H.J. y VANLEAR, G.E.
Arzneim. Forsch./Drug Res., 30(1), 4a, 707-715, 1980.
- (19) DONATH, A.; MILLER, J.H. y HYACINTHE, R.
"Rapport pharmacocinétique du Centre de Toxicologie et Biosciences".
Batelle, 1980.
- (20) CPUSSE, H.; RIBET, J.P.; VEZIN, J.C.
"GLC determination of Itanoxone in biological fluids".
J. Pharm. Sci., 70 (8), 860-863, 1981.
- (21) GARRET, E.R. y CARPER, R.
"Prediction of stability in pharmaceutical preparations. I. Color stability in a liquid multisulfa preparation".
J. Am. Pharm. Assoc. Sci., 44 (8), 515, 1955.
- (22) GARRET, E.R.
"Prediction of stability in pharmaceutical preparations. II. Vitamin stability in a liquid multivitamin preparations",
J. Am. Pharm. Assoc. Sci., 45 (3), 171, 1956.

- (23) R. FRANQUESA GRANER
"Estabilidad de medicamentos".
Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria, 1985.
- (24) ALLINGER, J.; CAVA, L. y JONGH, S.
"Química Orgánica".
Editorial Reverté (1976).
- (25) GARRET, E.R.
"Advances in Pharmaceutical Sciences".
Editorial Academic Press, 1967.
- (26) GARRET, E.R.
"Prediction of Stability of Drugs and Pharmaceutical Preparations".
J. Pharm. Sci., 51 (9), 811, 1962.
- (27) BOLOS, J.; CASTILLO, M.; GALLARDO, M.; GIRONA, V. y RIERA, A.
"Modelo práctico de tratamiento estadístico de los datos, en estudios de estabilidad por degradación isotérmica acelerada".
Il Farmaco, 41 (8), 255-266, 1986.
- (28) ROGERS, A.R.
"An accelerated storage test with programmed temperature rise".
J. Pharm. Pharmacol., 15, 101, 1963.
- (29) ERIKSEN, S.P. y STELMACH, H.
"Single-step stability studies".
J. Pharm. Sci., 54, 1029, 1965.
- (30) ZOGLIO, M.A.; WINDHEUSER, J.J.; VATTI.
"Linear nonisothermal stability studies".
J. Pharm. Sci., 57, 2080, 1968.

- (31) LAIDER, K.S.
"Chemical Kinetics".
Editorial McGraw Hill, London (1965).
- (32) BYRON, S.R.
"Mechanisms of solid state reactions of drugs".
J. Pharm. Sci., 65 (1), 1-21, 1976.
- (33) CARSTENSEN, J.T.
"Stability of solids and solid dosage forms".
J. Pharm. Sci., 63, 1, 1974.
- (34) FROMMING, K.H.; HOSEMAN, R.
"Stability problems under special consideration of solid dispersion of drugs".
S.T.P. Pharma., 1 (7), 660-665, 1985.
- (35) DAVIES, O.L.; BUDGETT, D.A.
"Accelerated storage tests on pharmaceutical products effect of error structure of assay and errors in recorded temperature".
J. Pharm. Pharmacol., 32, 155-159, 1980.
- (36) BOLOS, J.; CABRE, E.; PRAT, J; VILAS, V.
"Degradación oxidativa de la Vitamina D3 sobre soportes de silicagel y alúmina".
Cienc. Ind. Farm., 3, 68-75, 1984.
- (37) BOLOS, J.; VILAS, V.
"Consideraciones sobre la determinación espectrofotométrica en el ultravioleta, de teofilina y sustancias relacionadas".
Farmacia Mediterranea, 263-271, 1972.
- (38) SHIBATA, S.; FURUKAWA, M.; GOTO, K.
"Dual-wavelength spectrophotometry".
Anal. Chim. Acta., 46, 271-279, 1969.

- (39) CERVERA, M.
"Aplicación de la espectrofotometría de doble haz y doble longitud de onda al análisis de muestras turbias".
Tesina presentada en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, 1977.
- (40) BOLOS, J.; CABRE, E.; PIERA, R.; VILAS, V.
"Nueva técnica de elución en la cromatografía en capa fina cuantitativa".
Cienc. Ind. Farm., 9, 11, 1977.
- (41) SPIRIDONOV, U.P.; LOPETKIN, A.A.
"Tratamiento matemático de datos fisico-químicos"
Editorial Mir (1973).
- (42) MARQUARDT, D.W.
"An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters".
Journal of the Society for Industrial Applied Mathematics, 2 (2), 431-441, 1963.
- (43) TABATA, T. y ITO, R.
"Effective Treatment of the Interpolation Factor in Marquardt's Nonlinear Least-Squares Fit Algorithm".
Computer Journal, 18 (3), 250-251, 1975.
- (44) LOPEZ MONTALVO, O.M.
"Métodos Iterativos de Resolución de Ecuaciones"
Editorial Alhambra, 1986.
- (45) ALBERTY, R.A. y DANIELS, F.
"Physical Chemistry", pagina 509.
Editorial John Wiley & sons, 5ª edic., 1980, New York.

- (46) BELLAMY, L.J.
"The ifra-red spectra of complex molecules".
Chapman and Hall, London (1975).
- (47) MORCILLO, J. y MADROÑERO R.
"Aplicaciones prácticas de la espectroscopía infrarroja".
Facultad de Ciencias, 1962.
- (48) SILVERSTEIN, R.M.; BASSER, G.C.
"Spectrometric identification of organic compounds".
Editorial J. Wiley and sons inc., 2ª edic., 1967
- (49) BARFIELD, M.; SPEAR, J.P.; STERNHELL, S.
"Allylic interproton spin-spin coupling".
Chem. Rev. 76, 593, 1976.
- (50) SIMON, W.; CLERC, T.
"Elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos".
Editorial Alhambra, 1977.
- (51) McLafferty, F.N.
"Interpretación de los espectros de masas".
Editorial Reverté, 1969.
- (52) BRAZIES, J.L.
"Spectrometrie de masse et medicament".
Sci. Techn. Pharm., 9 (5), 201-214, 1980.
- (53) BUDZIKIEWICZ, H.; CARL DJERASI, DUDLEY H. WILLIAMS.
"Mass Spectrometry of Organic Compounds",
pag. 155.
Editorial Holden-Day, Inc. (1967).