

ASOCIACION QUIMICA DE SEMIESTERES DEL METRONIDAZOL CON ALMIDON

G. CORDANO, C. YUNG, S. MUÑOZ, J. MARRESE,
A. MUÑOZ DE LA PEÑA Y J. MEDINA

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Casilla 233, Santiago 1, Chile.

(Recibido: 7 Junio 1989 - Aceptado: 31 Agosto 1989)

RESUMEN

Se estudia la incorporación de metronidazol [1-(2-hidroxi-etil)-2-metil-5-nitroimidazol] modificado con los anhídridos succínico, glutárico y ftálico para darle la funcionalidad apropiada, sobre almidón previamente activado con piridina-agua hasta gelificación, en presencia de dicitclohexilcarbodiimida (DCC) como agente deshidratante y N,N-dimetilaminopiridina (DMAP) como catalizador. Se alcanzan incorporaciones de hasta un 21,20% de metronidazol sobre almidón.

Los productos se caracterizan por espectroscopía IR y el fármaco incorporado se determina por liberación del ión nitrito del metronidazol y su cuantificación posterior por un método colorimétrico.

SUMMARY

The incorporation of [1-(2-hydroxyethyl)-2-methyl-5-nitroimidazole] (metronidazole), modified by treatment with succinic, glutaric and phthalic anhydrides on starch was studied. For the reaction the starch was previously activated with pyridine-water until gelification in the presence of dicyclohexylcarbodiimide (DCC) as a dehydrant agent and N,N-dimethylaminopyridine (DMAP) as a catalyst. Incorporation of metronidazole on starch ranged up to 21.20%.

Products were characterized by IR spectroscopy, and the incorporated drug determined by releasing the nitrite ion from the metronidazole followed by its quantification by a colorimetric technique.

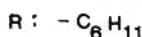
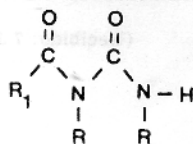
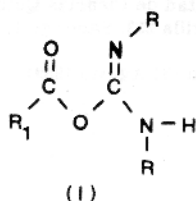
INTRODUCCION

La unión de un fármaco a una matriz polimérica es una forma de obtener productos de acción farmacológica sostenida que no presentan los inconvenientes que suelen tener las formas tradicionales de administración, tales como la breve duración del efecto, la imposibilidad de controlar la concentración del fármaco en los tejidos, los efectos secundarios no deseados, etc. (1-6).

El almidón es un polímero natural biodegradable que puede constituir, como tal o químicamente modificado, una buena matriz para la obtención de un fármaco de acción sostenida. Se ha intentado hacer reaccionar derivados del almidón con diferentes fármacos para formar ésteres o amidas, previa formación de un benzotriazolido y usando dicitclohexilcarbodiimida; sin embargo, en el

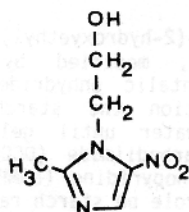
caso del semisuccinato de almidón con dipiridamol, el carboximetilalmidón con ácido mefenámico y el semifitalato de almidón con betametasona y con metronidazol, la incorporación fue escasa o nula (7-9).

El esquema propuesto en un trabajo anterior (10) indica claramente que el aducto (I), que resulta de la reacción entre el almidón modificado (R_1) y la dicitclohexilcarbodiimida (DCC), se reordena a un N-acil derivado (II), muy estable.



La formación del compuesto II se puede deducir de los siguientes hechos: a) la escasa incorporación del fármaco (1-3%) y b) la presencia en el espectro IR de bandas de absorción tipo amida ($C=O$ a $6,10 - 6,20 \mu m$ y NH a $6,1 - 6,6 \mu m$). Además, se ha observado que, al intentar reacciones de incorporación de distintos fármacos con grupos OH sobre una matriz carboxilada de almidón, en presencia de DCC, siempre se obtiene un producto que presenta las mismas características que el producto II.

En este trabajo se realizaron experiencias de incorporación de metronidazol (III) sobre almidón, en presencia de dimetilaminopiridina (DMAP) como catalizador (11,12) y dicitclohexilcarbodiimida (DCC).



Para proporcionar al fármaco la funcionalidad requerida en la interacción con los grupos hidroxilo del almidón, se prepararon previamente los semiésteres del metronidazol con los anhídridos succínico, glutárico y ftálico. Estos anhídridos seleccionados, que actúan como unidades espaciadoras entre el fármaco y la matriz polimérica, permiten formarse una idea de la influencia que tienen el largo y la rigidez de la molécula sobre el mecanismo de incorporación. La caracterización de estos semiésteres se hizo por espectroscopía infrarroja, titulación de grupos carboxilo libres y análisis elemental.

El almidón se activó por tratamiento con piridina-agua y posterior destilación de la mezcla azeotrópica para asegurar un medio anhidro al momento de la incorporación. Esta técnica fue adaptada de los trabajos de J.W. Mullen y E. Pasco (13).

La reacción de incorporación del fármaco modificado sobre almidón se

efectuó a temperatura de reflujo, por un período de 24 horas, usando piridina anhidra como solvente. Las experiencias se hicieron con catalizador y sin él. El derivado del metronidazol que se incorporó, se cuantificó por tratamiento de los productos obtenidos con NaOH 0,1N y posterior detección del ión nitrito liberado por el método colorimétrico descrito por E.P.K. Lau y cols. (14,15).

PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos utilizados eran Merck pro-análisis, el catalizador DMAP, Merck para síntesis y el almidón y el metronidazol, calidad USP.

Se usaron los siguientes instrumentos: espectrofotómetro IR Leitz III G; espectrofotómetro UV-VIS Pye Unicam SP-500 y analizador elemental Perkin Elmer 240 C.

Síntesis de Anhídridos

— Obtención de anhídrido succínico (S), anhídrido glutárico (G) y anhídrido ftálico (F).

La preparación de estos compuestos se realizó según la técnica de Fieser-Robinson (16).

Los puntos de fusión y los rendimientos obtenidos fueron los siguientes: anhídrido succínico, 119°C, 95%; anhídrido glutárico, 52-54°C, 86%; anhídrido ftálico, 132-133°C, 90%.

Síntesis de Semiésteres de Metronidazol

0,1 mol de anhídrido, junto con 0,1 mol de metronidazol y 1 ml de trietilamina se calentaron a reflujo durante 6 horas en butanona. Se dejó enfriar y se evaporó el solvente en rotavapor, obteniéndose un residuo oleoso al que se agregó agua destilada levemente acidificada con HCl. La mezcla acuosa se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, y se obtuvo un precipitado que se lavó y se recristalizó en H₂O. El producto cristalino se lavó con éter y se secó al vacío a 40-50°C. Los puntos de fusión y los rendimientos fueron los siguientes: semisuccinato de metronidazol, 100-102°C, 89,7%; semiglutarato de metronidazol, 137°C, 77,9%; semiftalato de metronidazol, 142-144°C, 79,0%.

Incorporación de los Semiésteres de Metronidazol sobre Almidón.

— Síntesis de Succinato de Metronidazol-Almidón

Se aplicó la técnica descrita por S. Muñoz y cols. (10) para la obtención de un éster del ácido valproico con almidón.

En un balón de tamaño apropiado, se introdujeron 0,5 g de almidón y 15 ml de piridina anhidra (P. eb. 115°C). La mezcla se calentó a reflujo con agitación durante 1 hora, al cabo de la cual se destiló una fracción (5 ml) que contenía la mezcla azeotrópica de piridina y agua (P. eb. 92,6°C) y piridina pura. Se dejó enfriar la mezcla.

Paralelamente, se preparó una solución que contenía 0,838 g de semisuccinato de metronidazol y 0,350 g de dicitohexilcarbodiimida en 5 ml de piridina anhidra. Esta solución se agitó durante una hora a temperatura ambiente, antes de ser agregada al gel de almidón-piridina.

Una vez mezcladas ambas soluciones, se agregó, gota a gota, una solución de 0,350 g de DCC en 5 ml de piridina, junto con 0,075 g de catalizador (DMAP). Terminada la mezcla de las tres soluciones, se calentó a 115°C durante 24 horas. El producto obtenido se lavó con agua y acetona y se secó al vacío a 40-50°C. En todas las experiencias realizadas, se conservó fija la cantidad de almidón (0,5 g; 18,52 meq OH/g) y se varió la proporción

TABLA I. Cantidades (g) usadas en la incorporación de los semiésteres de metronidazol sobre almidón.

		Relación Almidón:Fármaco-semiéster				
		1 : 1		1 : 3		
Semiéster	Catalizador (DMP)	DCC	Fármaco-semiéster	DCC	Fármaco-semiéster	Producto
SM	----	0,700	0,838	----	----	ASM-1
	0,075	0,700	0,838	----	----	ASM-2
	0,226	----	----	2,10	2,516	ASM-3
GM	----	0,700	0,880	----	----	AGM-1
	0,075	0,700	0,880	----	----	GGM-2
	0,226	----	----	2,10	2,638	AGM-3
FM	----	0,700	0,986	----	----	AFM-1
	0,075	0,700	0,986	----	----	AFM-2
	0,226	----	----	2,10	2,958	AFM-3

almidón:fármaco-semiéster. En un caso, la relación tomada fue 1:1 y, en el otro, 1:3. Los resultados se muestran en la Tabla I en la cual se puede observar, además, que las experiencias se llevaron a cabo con catalizador y sin él.

Cuantificación de la Incorporación de Metronidazol

50 mg del producto obtenido en la reacción de incorporación se trataron con 50 ml de hidróxido de sodio 0,1N, calentando durante 3 horas a reflujo, observándose que, con el transcurso del tiempo, la suspensión original se transformó en una solución transparente. Se enfrió a 25°C y se tomó una alícuota de 3 ml de esta solución, acidificándola con 2 ml de ácido sulfúrico 4N. Se agregaron sucesivamente 1 ml de solución de sulfanilamida (0,1 g de sulfanilamida con 5 ml de ácido acético glacial enrasado a 100 ml con agua destilada) y 1 ml de reactivo de Bratton-Marshall (0,1 g de clorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina en 100 ml de agua destilada) y se enrasó a 10 ml. Se agitó y se dejó reposar en ambiente oscuro durante 15 minutos. Se leyó la transmitancia de la solución coloreada resultante a 545 nm. A esta misma longitud de onda, se obtuvo una curva de calibración por idéntico tratamiento de 18 soluciones patrones de nitrito de sodio, en concentraciones que oscilaron entre 0,1 y 1,9 ppm. El gráfico de los valores experimentales da como resultado una recta de fórmula $Abs = 0,4307 [NO_2^-] - 0,031$ con una correlación $R = 0,999$.

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización de los Semiésteres

En la Tabla II, se resumen los valores obtenidos en el análisis elemental de los semiésteres del semisuccinato de metronidazol (SM), el semiglutarato de metronidazol (GM) y el semifitalato de metronidazol (FM), junto con los valores teóricos esperados y los puntos de fusión.

En la Tabla III, se muestran los resultados de la titulación de los grupos -COOH presentes en los semiésteres, considerando que 1 mol de producto posee 1000 meq de estos grupos, como valor teórico.

TABLA II. Valores de análisis elemental y puntos de fusión de los semiesteres

Semiestér	Calculado			Observado			P.F.(°C)
	%C	%H	%N	%C	%H	%N	
SM	44,28	4,83	15,49	44,30	4,80	15,45	100-102
GM	44,31	5,30	14,74	46,34	5,33	14,74	137
FM	52,66	4,10	13,16	52,72	4,06	13,12	142-144

TABLA III. Titulación de grupos -COOH presentes en los semiesteres

Semiestér	Peso Muestra(mg)	NaOH 0,1N (ml)	meq.(teor.)	meq.(exp.)
SM	23,1	0,85	3,68	3,67
GM	54,6	1,95	3,51	3,57
FM	56,8	1,70	3,13	3,00

En la Tabla IV, se presenta un resumen de las bandas al IR encontradas para los semiesteres. Se observó, además, en todos ellos, la desaparición de la absorción de los grupos -OH a 2,9 μm debido al grupo hidroxilo del metronidazol.

TABLA IV. Bandas de absorción al IR(KBr) de los semiesteres del metronidazol.

Semiestér	C=O (éster)	C=O (ácido)	C-NO ₂	C=C (aromático)
SM	6,75	6,80	6,50-7,30	----
GM	6,75	6,85	6,50-7,25	----
FM	6,79	6,81	6,50-7,30	6,20-6,30

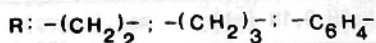
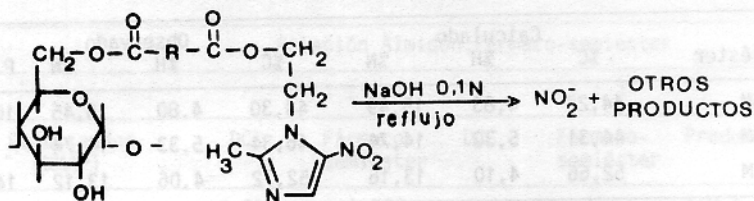
Caracterización del Producto de Incorporación

Se confirmó la incorporación del fármaco al almidón por formación de un enlace éster en los productos obtenidos, ASM, AGM y AFM, mediante sus respectivos espectros IR. En todos ellos se observó la presencia de una banda atribuible al grupo C=O en la zona de 5,7-6,0 μm , distinta a la correspondiente al semiestér (alrededor de 6,75 μm).

Las señales del almidón son demasiado intensas como para poder determinar alguna banda característica del metronidazol.

Cuantificación de la Incorporación.

Se consideró la reacción entre el almidón y el semiestér como la monoesterificación sobre una unidad de glucopiranososa. El tratamiento con NaOH 0,1N origina una solución que contiene el ion nitrito producido por descomposición ya sea del metronidazol liberado o del que permanecería unido a la matriz de almidón si la hidrólisis del éster no hubiera sido completa, según el esquema:



La lectura de la transmitancia de las diferentes muestras y su interpolación en la curva de calibración obtenida dan la concentración del ion NO_2^- que está relacionado directamente con la cantidad incorporada de metronidazol.

De acuerdo al método descrito anteriormente, el porcentaje de incorporación de metronidazol está dado por la relación:

$$\% \text{ Inc} = \frac{\text{PM} [\text{NO}_2^-]}{\text{N A}}$$

donde: PM = peso en gramos de una unidad de glucopiranososa esterificada; para ASM = 415,24; para AGM = 429,27 y para AFM = 463,28.

N = peso en gramos del ion NO_2^-

$[\text{NO}_2^-]$ = concentración en ppm obtenida directamente de la curva de calibración.

A = volumen en cm^3 de la alícuota tomada de la solución de hidrólisis.

Los resultados obtenidos con estas consideraciones se muestran en la Tabla V.

TABLA V. Valores experimentales obtenidos y porcentaje de incorporación (% Inc) de metronidazol sobre almidón.

Muestra	Alícuota (ml)	Absorbancia	ppm NO_2^-	% Inc
ASM-1	3,0	0,1396	0,3961	1,19
ASM-2	3,0	0,3372	0,8549	2,57
ASM-3	3,0	0,6383	1,5540	4,68
AGM-1	3,0	0,4874	1,2036	3,74
AGM-2	0,3	0,1396	0,3961	12,32
AGM-3	0,3	0,2626	0,6817	21,20
AFM-1	3,0	0,0177	0,1131	0,38
AFM-2	3,0	0,0630	0,2182	0,73
AFM-3	3,0	0,1907	0,5147	1,73

La introducción de grupos carboxilo en el almidón, para obtener matrices poliméricas reactivas en la incorporación de fármacos, ha demostrado ser una

vía poco apropiada para la síntesis de drogas poliméricas.

La metodología propuesta en este trabajo y en uno anterior (10) demuestra que las dificultades presentes en la esterificación, impedimento estérico y reordenamiento, se pueden evitar al trabajar directamente con el almidón tratado con piridina.

Así, los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la formación de ésteres de almidón con el metronidazol modificado. Los rendimientos de la incorporación aumentaron lográndose, en algunos casos, hasta 3,74%, cuando se trabajó sin catalizador, y 21,20% cuando se usó DMAP como catalizador.

El grado de incorporación, a su vez, es consistente con el tipo de unidad espaciadora, siendo mayor si es una cadena larga y flexible, como se demuestra con el hecho de que el glutarato de metronidazol presenta un grado de incorporación mucho mayor que el succinato y el de éste es mucho mayor que el del ftalato, que presenta una estructura de mayor rigidez.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los Laboratorios Silesia y Recalcine su generoso aporte de metronidazol.

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el Departamento Técnico de Investigación, Universidad de Chile (Proyecto Q 1666-8844).

BIBLIOGRAFIA

1. P. Ferruti, *II Farmaco*, Ed. Soc. 32 (3): 220-236 (1977).
2. D.R. Paul y F.W. Marris, *Controlled Release Polymeric Formulations*, ACS. Symposium Series: 33 (1976).
3. B.C. Lippold, *Prinzipien der Arzneimittelwirkung Grundlagen der Medikamentösen Therapie*, Davos (1980).
4. E. Gruber, *Natur. Rund*: 122-127 (1977).
5. E. Ullman, *Deutsche Aph. Zeit.* 115(34): 1240 (1975).
6. Ch.G. Gelcléin, *Biom. and Dental Appl. of Polymers*, Plenum Publishing Co. N.Y. (1981).
7. R. Sosa, "Esteres derivados del semisuccinato de almidón con dipiridamol". Tesis para optar al título de Químico-Farmacéutico. U. de Chile, Santiago (1987).
8. A. Flaño, "Asociación química de fármacos con almidón (Parte 1, A)"; Tesis para optar al título de Químico. U. de Chile, Santiago (1987).
9. J.C. Marrese, "Asociación química de fármacos con almidón (Parte 2, A)"; Tesis para optar al título de Químico. U. de Chile, Santiago (1987).
10. S. Muñoz, C. Yung, G. Cordano, A. Muñoz de la Peña, J. Medina y A. Flaño, *Anal. Real Acad. Farm.* 55(1):5-12 (1989).
11. A. Assner, V. Alexanian, *Tetrahedron Letters*, 46, 4475 (1978).
12. A. Assner, L.R. Krepski, V. Alexanian, *Tetrahedron*, 34, 2069 (1978).
13. J.W. Mullen, E. Pacsu, "Org. Syntheses". Col. Vol. II, 560 (1943).
14. E.P.K. Lau, C. Yao, M. Lewis, B. Senkowsky, *J. Pharm. Sci.*, 58(1):55 (1969).
15. K. Florey, *Analytical Profiles of Drug Substances*, Vol. 5, Acad. Press; New York, págs 328-344 (1976).
16. Fieser-Robinson, "Org. Syntheses" Col. Vol. II, 560 (1943).