

Artículo de Revisión

Centro de Química Farmacéutica

PROPRANOLOL Y SUS ÉSTERES: DETECCIÓN Y RESOLUCIÓN ENANTIOMÉRICA

Ritsie Ruiz Caballero,¹ Rizette Ávila González² y José A. González Lavaut³

RESUMEN

Se realizó una revisión bibliográfica sobre el racemato del clorhidrato de propranolol y sus ésteres, con el objetivo de recopilar los métodos más actuales para su detección y la resolución de su mezcla racémica, de forma que se mantengan informados los farmacéuticos, químicos sintetizadores y otros profesionales relacionados con la temática. Se consultaron las bases de datos MEDLINE (1986-1994), Analytical Abstracts (1985-1994), Chemicals Abstracts (1990-1992) y los Current Contents (Life Science y Physical, Chemical & Earth Sciences) desde 1990-1996. Se reportan como técnicas de análisis para su detección: espectrofluorometría, colorimetría, cromatografía de placa delgada y cromatografía líquida de alta resolución. Se reflejan diferentes métodos de resolución de enantiómeros, como: cromatografía de fluido supercrítico, electroforesis capilar, cromatografía de placa delgada y cromatografía líquida de alta resolución utilizando fases y/o aditivos quirales, empleados estos 2 últimos tanto para la detección como para la resolución del clorhidrato de propranolol y sus ésteres.

Descriptor DeCS: PROPRANOLOL/análogos & derivados; CROMATO-GRAFIA EN CAPA DELGADA/métodos; ESPECTROMETRIA DE FLUORESCENCIA/método; COLORIMETRIA/método; CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION/método.

El propranolol es un bloqueador β -adrenérgico muy utilizado en el tratamiento clínico. Este medicamento se une competitivamente a los adrenerreceptores, disminuye la eficacia de los β -agonistas y consecuentemente la presión sanguínea, el impulso y la fuerza de contracción cardíaca.¹ La estructura química del

propranolol indica la presencia de un centro quiral que es el sitio específico por el cual ocurre la unión al receptor para realizar su acción biológica. Cada isómero presenta un efecto farmacológico distinto; en una mezcla racémica el isómero d-propranolol es 40 veces más potente como antiarrítmico y antihipertensivo que el l-

¹ Licenciada en Ciencias Farmacéuticas.

² Licenciada en Química. Investigadora Aspirante.

³ Licenciado en Química. Investigador Auxiliar.

propranolol,² de aquí se deriva la importancia de la resolución y la determinación del contenido de este principio activo en medicamentos.

El objetivo de este trabajo es presentar el resultado de la revisión bibliográfica de los métodos más actuales de detección y resolución enantiomérica del clorhidrato de propranolol y sus ésteres.

Para la selección de los artículos relacionados con la temática se revisaron las bases de datos MEDLINE (1986-1994), Analytical Abstracts (1985-1994), Chemicals Abstracts (1990-1992) y los Current Contents (Life Science y Physical, Chemical & Earth Sciences) desde 1990-1996, tanto en disquete como en papel.

El (R/S)-propranolol clorhidrato cuyo nombre químico es 1-(isopropilamina)-3-(-1-naftiloxi)-2-propranolol clorhidrato, también puede ser nombrado 1-[(1-metiletil (amino))]-3-(-1-naftaleniloxi)-2-propanol, su fórmula estructural se representa según se muestra en la figura 1 y la empírica es $C_{16}H_{22}ClNO_2$ con un peso molecular de 295,81 g/mol y un punto de fusión entre 162-165 °C. Este compuesto es un sólido blanco, soluble en agua y alcohol, ligeramente insoluble en cloroformo y prácticamente insoluble en éter.³ En soluciones acuosas el propranolol se descompone con oxidación de la cadena de isopropilamina, acompañada por una disminución del pH y decoloración de la solución. Las soluciones son más estables a pH=3 y se descomponen rápidamente a pH alcalino. El valor del pK_a es 9,45.

El propranolol reduce la actividad cardíaca disminuyendo o previendo la estimulación de β -adrenorreceptores. Reduce el grado y la fuerza de contracción del corazón. Su efecto principal es para reducir la respuesta del corazón durante estrés y ejercicios, y reducir la presión sanguínea en pacientes con hipertensión.⁴

Los efectos adversos más comúnmen-

te vistos son: náuseas, vómitos, otros disturbios gastrointestinales y fatiga. Sobre el sistema cardiovascular produce bradicardia e hipotensión, y en el sistema nervioso central causa alucinaciones, confusión, disturbios del sueño y la visión. Puede ocurrir broncoespasmo particularmente en individuos susceptibles (asmáticos). Otros efectos adversos reportados son: reacciones alérgicas, disturbios metabólicos, retención de líquido, alopecia, miopatías y estomatitis.

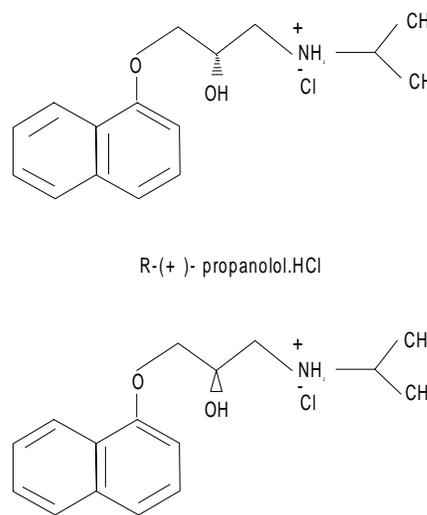


FIG 1. Estructuras del isómero R y S del propranolol.HCl.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

Para la detección del propranolol clorhidrato se encontraron varios métodos, dentro de los que se encuentra el realizado por *Sungur y otros*⁵ en 1989 al detectar algunos β -bloqueadores por cromatografía de placa delgada (CCD), después de una derivatización con dabsil (4-dimetil-aminoazobenceno). Los β -bloqueadores se hicieron reaccionar con dabsil en una solución acetona-agua (3:1) bufereada con una solución de hidrogenocarbonato de sodio. Para la separación de los derivados dabsílico de los

β -bloqueadores se probaron diferentes sistemas de solventes, mostrando la mejor separación el sistema de solvente cloroformo-acetona-etanol (95 %) con una proporción de 10:0,5:0,5, siendo el propranolol el β -bloqueador más sensible a la detección por CCD. Los valores de R_f para cada muestra son reportados en la literatura. Se señala que las propiedades cromóforas de los derivados dabsílicos permiten una estimación espectrofotométrica en la región visible, cuyo monitoreo evita las interferencias causadas por sustancias que absorben en la región ultravioleta (UV). La coloración de los derivados dabsílicos de los β -bloqueadores permite una determinación densitométrica por CCD de los compuestos en fluidos biológicos y formas dosificadas.

Otro método empleado para la detección y determinación del racemato de propranolol es la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) reportada en la USP XXII,⁶ en la cual se utiliza una fase móvil formada por dodecil sulfato de sodio (SDS) en ácido fosfórico (0,15 mol/L), acetonitrilo: metanol: agua (36:36:28). La técnica reportada empleó una columna RP-18 de 25 cm x 4 mm, con un flujo de 1,5 mL/min y detección a 290 nm.

La CLAR también fue utilizada por *Henry y Repta*⁷ para medir la estabilidad de una suspensión del clorhidrato de propranolol realizada a partir de tabletas. Para llevar a cabo esta técnica fue necesaria la detección y determinación del propranolol en la suspensión. Se utilizó una columna de octadecilsilano de fase reversa (15 cm x 5 mm) y una precolumna de 5 cm con el mismo empaquetamiento. El detector ultravioleta fue fijado a 280 nm. La fase móvil consistió en 30 % de acetonitrilo, octanosulfonato de sodio (4 mmol/L), hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (3,5 mmol/L) y 0,1 % de ácido sulfúrico en agua estéril. El flujo

utilizado fue de 1 mL/min. Con las condiciones antes mencionadas, el tiempo de retención obtenido para el propranolol fue de 6,3 min. La determinación de la concentración del propranolol clorhidrato en las muestras se obtuvo por el método de cuantificación del estándar externo utilizando como patrón el propranolol . HCl, USP, y la ecuación de la recta de regresión de la curva de calibración se utilizó para determinar la concentración de las muestras basándose en la medición de la altura de los picos.

Guiberteau-Cabanillas y otros,⁸ utilizaron el extracto acuoso de tabletas pulverizadas para la detección del propranolol; se analizó una alícuota de 10 μ L del extracto en una columna Pecosphere C18 (3,3 cm x 4,6 mm); como fase móvil emplearon acetonitrilo / SDS (0,01 mol/L) (3:2) con 1 % de ácido acético a un flujo de 2 mL/min y la detección se realizó a 230 nm.

Un método cromatográfico más novedoso llamado cromatografía de fluido supercrítico (CFS) es realizado por *Ruane y Tomkinson*,⁹ en 1990, para la detección del propranolol. En la técnica se efectuó el análisis de alícuotas de una solución de 1 mg/mL de [¹⁴C] propranolol (propranolol marcado con isótopo radiactivo) en metanol o acetonitrilo sobre una columna de silicagel enlazada a aminopropil (15 cm x 4,6 mm), operada a 50 °C. A la fase móvil compuesta por dióxido de carbono líquido se le adicionó 10 % de metanol como modificador orgánico y 0,1 % de trietilamina, a una presión de 3200-3400 psi y una velocidad de flujo de 5 mL/min. La detección radioactiva se realizó con un monitor radiactivo Berthold LB507A ajustado a una celda de flujo de alta presión.

El método espectrofluorométrico fue también utilizado para la determinación

del propranolol y el atenolol.¹⁰ Estos medicamentos fueron disueltos en ácido clorhídrico (0,1 mol/L) y medida la fluorescencia de las soluciones a 305 nm para el atenolol y a 340 nm para propranolol. El método se aplicó para el análisis de tabletas y de soluciones inyectables.

Sin embargo, *Roman y Agrawal*¹¹ plantean la utilización de un método más sencillo para la detección de microgramos en formas dosificadas de propranolol, por un método colorimétrico basado en la reacción con nitrito de sodio en presencia de ácido sulfúrico y se mide la absorbancia a 395 nm. El límite de detección de esta técnica fue de 2 a 50 µg/mL.

MÉTODOS DE SEPARACIÓN DE ENANTIÓMEROS

En la revisión realizada se encontraron diversos métodos de separación de los enantiómeros del propranolol y sus ésteres, los cuales se dividen en:

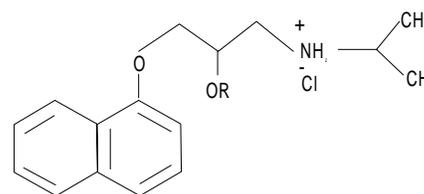
CROMATOGRAFÍA DE CAPA DELGADA

En 1989, *Tivert y Beckman*^{12,13} realizaron 2 estudios similares con el fin de encontrar un método de separación simple y rápido para aminoalcoholes como: aprenolol y el propranolol sobre placas LiChrosorb Diol F₂₅₄ HPCCD (10 x 10 cm), las cuales son previamente sumergidas en diclorometano y posteriormente secadas antes de realizar la aplicación de las muestras. Como fase móvil se utilizó una mezcla equimolar de diclorometano con etanolamina (0,4 mmol/L) y N-benziloxycarbonil-glicil-L-prolina (ZGP) (5 mmol/L) como contraión. La detección se efectuó desde 280 ó 300 nm hasta 350 nm en un equipo Shimadzu CS-930 de longitud de onda dual para CCD.

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

Mediante la utilización de la CLAR se han desarrollado diferentes métodos de separación, ya sea con el empleo de fases estacionarias quirales, adición de aditivos quirales a la fase móvil por ejemplo contraiones, o por derivatizaciones para llegar a la formación de diastereoisómeros que luego puedan ser separados con la utilización de una columna cromatográfica aquiral.

El primer método encontrado fue el empleado por *Haginaka y otros*¹⁴ en un estudio de enantioselectividad y orden de elución enantiomérica del racemato de propranolol y sus ésteres derivados: o-acetil, -propionil, butiril, -valeril (figura 2), sobre una columna ovomucoide (silicagel enlazada a una glicoproteína llamada ovomucoide [OVM]) de 150 x 4,6 mm de dimensión. Estos estudios se realizaron mediante la variación de pH del eluyente desde 3 hasta 7 y la utilización de diferentes modificadores orgánicos como son: 2-propanol, etanol, metanol y



(R/S)- éster del propranolol.HCl

R	Nombre
COCH ₃	Acetil-PP
COCH ₂ CH ₃	Propionil-PP
COCH ₂ CH ₂ CH ₃	Butiril-PP
COCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Valeril-PP

FIG 2. Estructura de los ésteres derivados del propranolol. HCl.

acetonitrilo, el flujo se mantuvo a 1 mL/min.

Se determinó que la enantioselectividad depende del pH de elución y del modificador orgánico utilizado. La inversión del orden de elución de los enantiómeros del racemato de propranolol y sus ésteres derivados ocurrió en un rango de pH entre 5 y 7 y/o por variación del modificador orgánico. Tomando en cuenta que el valor de pK_a del propranolol es de 9,45, este compuesto y sus ésteres son protonados a un valor de pH por encima del rango de elución estudiado; por tanto, al valor de pH entre 5-7 cuando ocurre la inversión del orden de elución de los enantiómeros, la OVM se carga negativamente por causa de su punto isoeléctrico, que se encuentra entre 3,8 y 4,3.

Este mismo método fue empleado por *Ikeda y Hamasaki*,¹⁵ para la separación de varios medicamentos enantioméricos, pero utilizaron como fase estacionaria quiral celulosa tris-(3,5-dimetilfenil-carbamato) en una columna Chiralcel OD (25 cm x 4,6 mm). La fase móvil empleada fue perclorato de sodio (0,05 mol/L)/acetonitrilo (7:3), con un flujo de 1 mL/min para el caso específico del medicamento propranolol.

Otro tipo de columna quiral como la quiral-AGP (10 cm x 4 mm) fue empleada para la separación de los enantiómeros del propranolol por *Haupt y otros*,¹⁶ quienes utilizaron como fase móvil *buffer* de ácido fosfórico (1 mol/L) / hidróxido de sodio (1 mol/L) y como modificadores Tween 20 y ácido heptanoico, ajustado para una fuerza iónica de 0,1 y a un valor de pH entre 4,5-6,5; el flujo empleado fue de 0,9 mL/min y detección a 250 ó 280 nm.

Una columna similar utilizaron *Enquist y Hermansson*,¹⁷ para la separación de los enantiómeros de agentes β -bloqueadores, pero como fase móvil emplearon *buffer* fosfato que contenía di-

ferentes concentraciones de modificadores no cargados, N,N-dimetiloctilamina (DMOA) o (-)-terodilina. La concentración de *buffer* fosfato fue 0,01 mol/L en esta fase móvil y 0,02 mol/L en las fases que contenían modificadores cargados. El pH se ajustó a 7,2 con NaOH y un flujo de 0,9 mL/min, y la detección entre 300 y 400 nm (excitación a 295 nm). La enantioselectividad se optimizó cuando se añadió un aditivo en la fase móvil.

*Erdensson y otros*¹⁸ combinaron la utilización de la columna quiral con la derivatización del analito para realizar la separación de β -bloqueadores enantioméricos, ya que éstos son separados en una columna de silicagel enlazada a ácido α -1-gli-coproteína (3 cm x 3,0 mm), después de ser convertidos en derivados de oxazolidinona por reacción con solución de fosgeno al 20 % en tolueno. La fase móvil utilizada fue *buffer* fosfato de pH=7,0/ /propan-2-ol (de 4 hasta 15 %), a una velocidad de flujo de 0,5 mL/min y detección a 215 nm.

El empleo de aditivos quirales en la fase móvil también aportó buenos resultados a *Pettersson y otros*¹⁹ cuando emplearon el contraión N-benziloxicarbonil glicil-L-prolina (ZPG), el cual fue añadido a la fase orgánica para la separación directa de los enantiómeros no derivatizados de amino-alcoholes, así como algunos agentes β -bloqueadores adrenérgicos. La separación se realizó en una columna LiChrosorb Diol (15 cm x 3 mm) y como fase móvil utilizaron diclorometano saturado en agua con ZPG (25 mmol/L) y trietilamina (0,2 mmol/L), y detección ultravioleta. La estereoselectividad fue alta para alprenolol, metoprolol y propranolol.

Los autores plantean que el contraión contiene un grupo carboxilo que brinda energía electrostática o asociación a complejos mediante enlaces por puente de hi-

drógeno (pares-iónicos) con aminas en solventes orgánico. La ZPG también tiene una función carbamato y una amida que pueden dar interacciones adicionales, como por ejemplo los enlaces de hidrógeno con grupos hidroxilos en aminoalcoholes, por lo que es posible una interacción por varios puntos. Además reviste gran importancia la distancia de enlace en la selectividad quiral y ésta se pierde cuando el hidroxilo se encuentra en una posición alejada del grupo amino.

La adición de una amina a la fase móvil (por ejemplo trietilamina) provoca la competencia de ésta con los aminoalcoholes enantioméricos por la formación del par-iónico con ZPG, y además compite por la limitada capacidad de adsorción de la fase estacionaria.

Otro contraión empleado fue el ácido d-10-camforsulfónico por *Gupta y otros*²⁰ para la separación de los enantiómeros del propranolol por CLAR en columna Zorbax-CN (25 cm x 9,5 mm). La fase móvil de baja polaridad contenía al contraión quiral y la ter-butilamina como base en diclorometano/ hexano/acetonitrilo (79:20:1) y detectado a 280 nm. Los resultados de la investigación demostraron que la resolución aumenta cuando se realiza una recirculación de la fase móvil con las mezclas a separar.

La derivatización del propranolol con (+)-1-(9-fluorenyl) etilcloroformato también fue empleada para lograr la separación quiral y el mejoramiento de la detección, después se efectuó una técnica de CLAR en columna MicroPac SP C8 (15 cm x 4 mm), como fase móvil acetato de sodio / acetonitrilo (3:7) a un flujo de 2 mL/min y detección fluorescente a 345 nm (excitación a 265 nm) o detección UV a 254 nm. Cuando se realizó la detección por fluorescencia se detectaron interferencias que fueron eliminadas por absorbancia UV.²¹

Sin embargo, *Mulder y Conemans*²² experimentaron la derivatización con isocianato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil, después de realizar una extracción en suero con diclorometano. Los derivados D y L- propranolol fueron separados por CLAR en columnas Spherisorb ODS, se utilizó dihidrogenofosfato de amonio (0,02 mol/L) / / acetonitrilo (21:29) como fase móvil y detección a 230 nm. Un estudio similar fue realizado por otros autores,²³ donde los enantiómeros del propranolol y 10 compuestos relacionados fueron separados por formación de derivados similares al experimento anterior o con isotiocianato de 2,3,4-tri-O-acetil-alfa-D-arabinopiranosil. Posteriormente se les realizó una técnica por CLAR en columna Ultrasphere ODS (15 cm x 4,6 mm), con elución isocrática desde 37 hasta 75 % de acetonitrilo en fosfato de amonio (0,02 mol/L).

CROMATOGRAFÍA DEL FLUIDO SUPERCRÍTICO

El novedoso método cromatográfico CFS también fue empleado para la resolución del clohidrato de propranolol por *Anon*,²⁴ mediante la disolución de este medicamento en una mezcla hexano-etanol (1:1) para inyectarlo en una columna ChyRosine-A Kromasil (15 cm x 4,6 mm) con detección a 224 nm. Se utilizó como fase móvil dióxido de carbono/metanol con 1 % de n-propilamina (9:1), a un flujo de 4 mL/min y una presión de 20 MPa. Estos resultados fueron comparados con los de la técnica de CLAR al realizar una cromatografía líquida con hexano/etanol, y 1 % de n-propilamina (19:1) como fase móvil, a un flujo de 1 mL/min. Se obtuvo que ambos métodos separaron los enantiómeros de propranolol, pero la selectividad se incrementó con CFS y se realizó 3 veces más rápido por este

método que por CLAR. Similares condiciones fueron experimentadas por *Bargmann-Leyder y otros*,²⁵ pero utilizaron una columna quiral ChyRosine-A (15 cm x 4,6 mm) o su versión mejorada y los resultados fueron combinados con los obtenidos por cromatografía líquida en fase normal, resonancia magnética nuclear protónica y espectrometría IR, para elaborar un mecanismo detallado de reconocimiento quiral basado en la modelación molecular. La investigación permitió corroborar que la disolución del dióxido de carbono induce un cambio en la conformación del propranolol que es geoméricamente favorable para procesos de discriminación quiral.

La alta difusividad y la baja viscosidad de los fluidos supercríticos proporcionan tiempos de análisis de 3 a 10 veces más rápidos; además, la irreproducibilidad generalmente atribuida a CLAR en fase normal, disminuye considerablemente en la CFS.

Este mismo método es empleado por *Biermann y otros*,¹ pero cambiando la amina contenida en la fase móvil por 0,5 % de isopropilamina. Emplearon una columna Chiralcel OD (25 cm x 4,6 mm), la presión se mantuvo en 200 bar a temperatura de 30 °C y el flujo fue variado desde 2 hasta 4 mL/min. La detección UV se realizó a 220 nm. Se plantea que el aditivo básico en la fase móvil mejora el área del pico, pero incrementa ligeramente el tiempo de retención del último enantiómero eluido.

Una de las aplicaciones más importantes de esta técnica de reconocimiento quiral consiste en que permite evaluar la pureza enantiomérica, porque se puede determinar hasta niveles trazas de una forma enantiomérica en presencia de otra.

ELECTROFORESIS CAPILAR

Un método empleado con la

utilización de ciclodextrina para lograr una complejación diferencial que permita la separación de mezclas racémicas de medicamentos, fue inicialmente experimentado por *Armstrong y otros*.²

El reconocimiento quiral y la resolución racémica se observó con un grupo determinado de compuestos utilizados en el tratamiento clínico, dentro de los que se encuentran el grupo de los β -bloqueadores. Estos estudios perfeccionaron el conocimiento y aplicación de las interacciones quirales con β -ciclodextrina.

Para el reconocimiento quiral con ciclodextrina fue necesario algunos requerimientos técnicos, por ejemplo: se debe formar un complejo de inclusión, y éste debe ser de un acceso relativamente permeable entre la mitad complejada y la β -ciclodextrina. Además, el centro quiral o un sustituyente de éste debe estar cerca e interactuar con el orificio de la cavidad de la ciclodextrina, que es donde se encuentran localizados los grupos unidireccionales 2 y 3-hidroxilo, los cuales son considerados importantes en el reconocimiento quiral.

Mediante esta técnica se observaron diferencias importantes entre los complejos de los isómeros d y l del propranolol con respecto a su grupo amino secundario. En el complejo d-propranolol, el nitrógeno fue localizado idealmente por el hidrógeno enlazado por ambos grupos, 2 y 3-hidroxilo de la ciclodextrina, con una distancia de enlace de 3,3 y 2,8 Å respectivamente. Mientras que la amina en el complejo l-propranolol estuvo posicionada menos favorablemente para el enlazamiento a hidrógeno, y la distancia de enlace para encerrar los grupos 2 y 3-hidroxilo de la ciclodextrina fue de 3,8 y 4,5 Å respectivamente. Esto sugiere que el d-isómero podrá interactuar preferentemente con la ciclodextrina y de este modo ser mayormente retenido.

Por esta propiedad de la ciclodextrina de formar complejos, fue empleada en electroforesis capilar para llevar a cabo la separación de los isómeros de algunos medicamentos por *Quang y Khaledi*,²⁶ quienes utilizaron un capilar de sílica (62 cm x 50 μ m) a 40 °C y con un voltaje de 20 kV con detección a 240 nm. El electrólito empleado fue *buffer* fosfato de sodio (50 mmol/L) de pH=2,5 con β -ciclodextrina (20 ó 30 mmol/L), y como aditivo un compuesto tetra-alkilamonio de cadena mediana para los analitos considerados como medicamentos básicos o emplearon aditivos de cadena corta como: tetrabutil y tetrametilamonio que fueron los más efectivos y pudieron ser utilizados a concentraciones máximas de 150 mmol/L. Para la resolución óptica del propranolol se utilizó 35 mmol/L de β -ciclodextrina y 150 mmol/L de fosfato de tetrabutilamonio con una corriente de 56 μ A.

Este mismo método fue empleado por *Aturki y otros*²⁷ pero con β -ciclodextrina aniónica y una técnica de carga y descarga por ajuste de pH entre 2,5-6,2. Las separaciones fueron realizadas con un capilar de sílica fusionada (40 cm x 50 μ m), operó a un voltaje de 15 kV y se utilizó cualquiera de los *buffer* siguientes: *buffer* fosfato (65 mmol/L) pH=2,5; *buffer* fosfato (51 mmol/L) pH=3,5; *buffer* acetato, pH=4,5 o *buffer* fosfato (75 mmol/L), pH=6,2. La detección se realizó a 214 nm o barriendo longitudes de onda desde 190 hasta 360 nm.

También han sido probadas diferentes tipos de ciclodextrinas²⁸ para lograr la separación de las soluciones racémicas de terbutalina, monosulfato de terbutalina, propranolol, efedrina y bromofenilamina (0,2 mmol/L), las cuales son inyectadas sobre capilares de sílica fusionada (57 cm x 75 μ m) con α -ciclodextrina, β -ciclodextrina o 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina a 25 °C. Los *buffer* fosfato pH=2,5-4,5; pH=5-9 y pH=9,5-1,5 se utilizaron como electrólitos soportes con voltajes entre 5-

17 kV. La detección se realizó a 214 nm. Se optimizó la resolución de los enantiómeros teniendo en cuenta la concentración del *buffer*, el pH y el tipo de ciclodextrina.

*Matchett y otros*²⁹ realizaron un estudio similar con otros tipos de ciclodextrinas para efectuar la separación de los enantiómeros del propranolol y de 4 análogos estrechamente relacionados. La electroforesis se ejecutó sobre un revestimiento capilar (20 cm x 25 μ m) a temperatura ambiente, con una corriente constante de 5 μ A. El detector UV fue sintonizado para valores máximos de longitud de onda 254-258 nm. Los *buffer* de corrida contenían metanol/ dihidrogenofosfato de potasio (50 mmol/L) (3:7) y hasta un máximo de 35 mmol/L de ciclodextrina modificada. Se comparó el efecto de 3 ciclodextrinas: metil- β -ciclodextrina (Me- β -CD), hidroxietil- β -ciclodextrina (HE- β -CD) y hepta kis (2,3-di-O-acetil)- β -ciclodextrina (Ac- β -CD). Los resultados indicaron que el mayor valor de resolución quiral se obtuvo con HE- β -CD con todos los analitos y la menor resolución analizada fue con Me- β -CD y Ac- β -CD; esto se explicó que era por las estructuras macrocíclicas y la potencia de los enlaces de hidrógeno. Se encontró que la presencia del grupo alquil no polar en los analitos mejoró el reconocimiento quiral.

CONCLUSIONES

En las temáticas analizadas de la revisión bibliográfica consideramos que para la detección y resolución de los isómeros del propranolol, la CLAR es el método más efectivo por su rapidez y además nos permite realizar una cuantificación de la muestra más exacta, aunque hay que tener en cuenta que los métodos colorimétrico, espectrofluorométrico y por CCD reportados en la literatura son sencillos y de menor costo en comparación con la CLAR,

por lo que pudieran ser empleados como análisis preliminar de muestras. La CFS es una técnica novedosa que complementa las tradicionales (CLAR, CG), tiene como ventaja que permite el análisis de compuestos difíciles de evaluar por CLAR y como limitante está el costo del

equipamiento necesario para su aplicación. La técnica de electroforesis capilar dada sus ventajas técnicas, de rapidez y económica se abre paso como una de las preferidas al separar los enantiómeros del propranolol.

SUMMARY

A bibliographic review on the raceme of propranolol chlorhydrate and its esters was made aimed at compiling the latest methods for its detection and the resolution of its racemic mix in order to provide information to pharmacists, synthesizer chemistry and other professionals connected with this topic. Reference was made to the MEDLINE (1986-1994), Analytical Abstracts (1985-1994), and Chemical Abstracts (1990-1992) data bases, as well as to Current Contents (Life Science & Physical, Chemical & Earth Sciences) form 1990 to 1996. The spectrofluorometry, the colorimetry, the thinlayer chromatography, and the high oressure liquid chromatography are reported as analysis techniques used for its detection. The following methods of resolution of enantiomers are considered: supercritical fluid chromatography, capillary electrophoresis, thin-layer chromatography and high pressure liquid chromatography using phases and/or chiral additives. The last two are used for the detection and resolution of propranolol hydrochloride and its esters.

Subject headings: PROPANOLOL/analogs & derivatives; CHROMATOGRAPHY, THIN LAYER/methods; SPECTROMETRY, FLUORESCENCE/methods; COLORIMETRY/methods; CHROMATO-GRAPHY, HIGH PRESSURE LIQUID/ /methods.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biermanns P, Miller C, Lyon V, Wilson W. Chiral resolution of beta-blockers by packed-column supercritical fluid chromatography. *Liquid Chromatogr Gas Chromatogr* 1993;11(10):744,746-7.
2. Armstrong DW, Ward TJ, Armstrong RD, Beesley TE. Separation of the drug stereoisomers by formation of the beta-ciclodextrin inclusion complexes. *Science* 1986;232(4754):1132-5.
3. Budavari SJ, O'Niel M, Smith A, Heckelman PE. *The Merk Index*. Rahway: Merck; 1989:1246.
4. Reynolds JEF, Parfitt K, Parsons AV, Sweetman SC. *Martindale*. London: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 1989:798-807.
5. Sungur S, Ersoy L, Alpertunga B, Yalcin S. Thin-layer chromatographic detection of some beta-blockers after derivatization with dabsyl chloride. *Pharmazie* 1989;44(12):864-5.
6. US. Pharmacopoeia XXII-NF. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention. 1990:1176.
7. Henry DW, Repta AJ, Smith FM, White SJ. Stability of propranolol hydrochloride suspension compounded from tablets. *Am J Hosp Pharm* 1986;43(6):1492-5.
8. Guiberteau CA, Galeno DT, Salinas F, Guiberteau CC. Rapid determination of propranolol hydrochloride and hydralazine hydrochloride by reverse-phase liquid chromatography. *Ann Chim (Rome)* 1993;83(11-12):523-8.
9. Ruane RJ, Tomkinson GP, Wilson ID. Detection of (14C) propranolol following supercritical-fluid chromatography using in-line radioactivity detection. *J Pharm Biomed Anal* 1990;8(8-12):1091-3.
10. Gajewska M, Glass G, Kostelecki J. Spectrofluorimetric determination of propranolol and atenolol. *Acta Pol Pharm* 1992;49(3):1-4.
11. Roman K, Agrawal YK. Colorimetric determination of propranolol hydrochloride. *J Pharm Sci* 1989;51(4):144-6.
12. Tiver AM, Backman A. Enantiomeric separation of amino-alcohols by TLC using a chiral counterion in the mobil-phase. *J Planar Chromatogr Mod TLC* 1989;2(6):472-3.
13. _____. Separation of the enantiomers of beta-blocking drugs by TLC with a chiral mobil phase additive. *J Planar Chromatogr Mod TLC* 1993;6(3):216-9.

14. Haginaka J, Semaya C, Yasuda H, Takahashi K. Investigation of enantioselectivity and enantiomeric elution order of propranolol and its ester derivatives on an ovomucoid-bonded column. *J Chromatogr* 1992;598:67-72.
15. Ikeda K, Hamasaki T, Kohno H, Ogawa T, Matsumoto T, Sakai J. Direct separation of enantiomers by reversed-phase HPLC on cellulose tris (3,5-dimethylphenylcarbamate). *Chem Lett* 1989;(6):1089-90.
16. Haupt D, Pettersson C, Westerlund D. Optimization of the chiral resolution of four hydrophobic amines on CHIRAL-AGP by a central composite face desing (CCF). (Fresenius'-) *J Anal Chem* 1995;352(7-8):705-11.
17. Enquist M, Hermansson J. Separation of the enantiomers of beta-receptor blocking agents and other cationic drugs using CHIRAL-AGP column. Binding properties and characterization of immobilized acid glycoprotein. *J Chromatogr* 1990;519(2):285-98.
18. Erdensson K. Resolution of racemic amino-alcohols (beta-blockers), amines and acids as enantiomeric derivatives using a chiral alpha 1-acid glycoprotein column. *J Chromatogr* 1985;325(2):279-384.
19. Pettersson C, Josefsson M. Chiral separation of amino-alcohols by ion-pair chromatography. *Chromatography* 1986;21(6):321-6.
20. Gupta MB, Hubbard JW, Midha KK. Separation of the enantiomers of derivatized or underivatized propranolol by means of HPLC. *J Chromatogr Biomed Appl* 1988;424(1):189-94.
21. Lai F, Mayer A, Sheehan T. Chiral separation and detection enhancement of propranolol using automated pre-column derivatization. *J Pharm Biomed Anal* 1993;11(2):117-20.
22. Mulder A, Conemans JMH, Pijnenburg CC, Duchateau AMJ. Separation of the isomers of propranolol by HPLC. *Ziekenhuisfarmacie* 1987;3(1):1-4.
23. Sedman AJ, Gal J. Resolution of the enantiomers of propranolol and other beta-adrenergic antagonists by HPLC. *J Chromatogr Biomed Appl* 1983;278(1):199-203.
24. Anon. Packed column SFC. Propranolol. (Application 73). *Chromatogr Appl* 1993;3(2):1-2.
25. Bargmann LN, Sella C, Bauer D, Tambute A, Caude M. Superficial fluid chromatographic separation of beta-blockers on ChyRoSine-A: investigation of the chiral recognition mechanism using molecular modelling. *Anal Chem* 1995;67(5):952-8.
26. Quang C, Khaledi MG. Improved chiral separation of basic compounds in capillary electrophoresis using beta-cyclodextrin and tetra-alkylammonium reagents. *Anal Chem* 1993;65(23):3354-8.
27. Aturki Z, Fanali S. Use of beta-cyclodextrin polymer as a chiral selector in capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 1994;680(1):137-46.
28. Palmarsdottir S, Edholm LE. Capillary zone electrophoresis for separation of drug enantiomers using cyclodextrins as selectors. Influence of experimental parameters on separation. *J Chromatogr A* 1994;666(1-2):337-50.
29. Matchett MW, Branch SK, Jefferies TM. Application of modified cyclodextrins in capillary electrophoresis for enantiomers resolution of propranolol and analogues. *J Chromatogr A* 1995;705(2):351-61.

Recibido: 22 de julio de 1997. Aprobado: 5 de diciembre de 1997.

Lic. *Ritsie Ruiz Caballero*. Centro de Química Farmacéutica. Ave 200 y 21, Atabey, municipio Playa, Ciudad de La Habana, Apartado 16042, Cuba.