

16
20



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"LA QUIMICA DEL DEXTROMETORFAN"

TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION

Que para obtener el Título de

Q U I M I C O

presenta

JUAN FUENTES MARTINEZ



1992

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE :

		Página.
1.0	Introducción.	(1)
1.1	Aspectos Económicos.	(2)
1.1.1	Situación del DM a Partir de su introducción en México.	(3)
1.1.2.	Distribuidores en México.	(3)
2.0	Generalidades.	(4)
2.1	Propiedades Físicas.	(5)
2.2	Propiedades químicas.	(6)
2.3	Actividad Antitusiva.	(9)
2.3.1	Mecanismo de Acción.	(14)
2.4	Toxicología.	(16)
2.5	Metabolismo y Excreción.	(18)
3.0	Métodos de síntesis del Dextrometorfán e Intermedarios	(20)
3.1	Síntesis de 1-(p-metoxibencil)-2-metil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroisoquinolina.	(21)
3.2	Síntesis de (d,l)-hidroxi-N-metilmorfinano.	(26)
3.3	Síntesis de (d,l)-3-metoxi-N-metilmorfinano.	(32)
3.4	Obtención de (d)-3-hidroxi-N-metilmorfinano.	(34)
3.5	Obtención de (d)-3-metoxi-N-metilmorfinano, (Dextrometorfán o DM).	(37)
3.5.1	Obtención de DM a Partir de (d)-3-hidroxi-N-metilmorfinano.	(38)
3.5.2	Síntesis de DM a Partir de Sinomenina.	(38)
3.5.3	Síntesis Asimétrica de Dextrometorfán.	(39)
4.0	Métodos de Análisis para el DM.	(43)
4.1	Identificación Cualitativa.	(43)
4.2.	Determinación por Titulación.	(44)
4.3	Determinación por Cromatografía.	(47)
4.3.1	Determinación por Cromatografía de Capa Fina.	(48)
4.3.2	Determinación por Cromatografía en Papel.	(49)
4.3.3	Determinación por Cromatografía de Gases.	(52)
4.3.4	Determinación por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.	(56)
4.4	Determinación por Métodos Físicos.	(61)
4.4.1	Determinación por Espectroscopia Ultravioleta.	(61)
4.4.2	determinación por Espectroscopia Infrarroja.	(66)
5.0	Conclusiones.	(67)
6.0	Bibliografía.	(69)

1.0 INTRODUCCION.

El DM es un antitusivo que carece a dosis habitual de efectos sedantes y analgésicos y se le considera libre de adicción. Este fármaco actúa a nivel del Sistema Nervioso Central aumentando el umbral al estímulo tusígeno en el Centro de la Tos. El DM además de inhibir la tos reduce las secreciones bronquiales. Su efectividad en pacientes con tos patológica ha sido demostrada en una gran variedad de estudios clínicos, observándose una potencia semejante a la que presenta la Codeína. Puede inducir liberación de histamina lo que puede ser importante para individuos hiperreactivos a sustancias broncoconstrictoras (asmáticos), o sea puede causar alergia.

El DM es el principio activo de gran parte de las preparaciones contra la tos que se venden en México, las que lo

Bromhidrato de Dextrometorfán			
Presentación	Solo(CS)/En combinación(EC)	Nombre	Fabricante
Jarabe (Jb)	S	DELSYM	Fisons
"	S	Neopulmonar	Quim. y Farm.
"	S	Protán	Protein
Cápsulas	S	ATHOS	MERDIX
Jarabe	EC: Difenhidramina y NH ₄ OH	Benadrex	Parke Davis
"	EC: Guayacol (G)	Brodexin	Remir
"	EC: Guaifenosina (GF)	Chweracol D	UP JOHN
"	EC: EF y Clorfenamina(CFM)	Codelasa E	Andromaco
"	EC: CFM, GF, CF y SCS	Coricidin	SCHRING
"	EC: CFM y NH ₄ Cl	Derofen	Andre Bigaux
"	EC: Fenilefrina y CS	Graneodin	SQUIBB
"	EC: Guayacol	Oxin	Quim. Son's
"	EC: NH ₄ Cl	Romilar	ROCHE
"	EC: CFM y Guayacol	Tusicanol	INFAN
Jb/Suposit.	EC: CFM y Guayacol	Yodoqal	REYERE
Supositorio	EC: GG, DP, ALF, EUC y GML	Megal	Andromaco

Tabla 1.1. Antitusivos a Base de DM Distribuidos en México.

Donde: EF=Efedrina, CF=Cafeína, SCS=Salicilato de sodio, CS=Citrato de sodio, GG=Guayacolato de Glicerilo, DP=Dipirona, ALF=Alcanfor, EUC=Eucaliptol y GML=gomenal.

contienen como único ingrediente activo o en combinación sencilla o múltiple con espectorantes, antihistamínicos, analgésicos, antipiréticos soluciones amortiguadoras y agua ¹.

En el país se comercializa como jarabe, cápsulas y

supositorios (Tabla 1.1).

En el mercado Nacional se conocen otros antitusivos que no incorporan al DM, preparados, ya sea a base de Codeína, Antihistamínicos, oxolamina u otros¹ (Tabla 1.2).

CODEINA			
Presentación	S/EC	Nombre	Distribuidor
Jarabe (Jb)	EC: Fenilefrina y GG	Brontonyl	Fisions
"	EC: ALF, GK, BD y ACO	Eucaliptine	RUDEFSA
OXOLAMINA			
"	S	Bredon	Organon
"	S	SINTUSAN	HORMONA
"	S	OXATHOS	MEDIX
"	EC: Carbocisteína	Caltusine	RUDEFSA
ANTI H I S T A M I N I C O S			
"	EF, PFFA, BZS y NH ₄ Cl	Especial sp	SQUIBB
"	DFH, CS, Mentol y NH ₄ Cl	OXTOSEN	SQUIBB
"	DFH, EF y CS	HISTIACIL	Columbia
D I V E R S O S			
"	EF y Bálsamo de Tulú	Broncofedrina	Cilag
"	GG, EF y Noscapina	Broncomed	Liomont
"	O-sulfoguvacol y Zipeprol	Brontonyl	Fisions
Jb/grageas	Clorhidrato de Fominoben	Noleptan	Promeco
Jb/grageas/ Supositorios	Zipeprol	Respilene	Columbia
Jb/Suposit.	Pipacetato	Salvigon	Sanfer
Perlas/Sup.	Benzonatato	Tesalon	Ciba Geigy
Jb/Sup/Tabl.	Dropropicina	Troferit	Chinoin
Jb/Tabletas	Zipeprol	Tusigen	Liomont
Perlas/Sup.	Etilenglicol/ác.salicilico	Benzonal	Cryopharma

Tabla 1.2. Antitusivos que no Contienen DM.

Donde: PFFA=Profenpiridamina, BZS=Benzoato de sodio, DFH=Difenhidramina.

En este trabajo se presenta una descripción de las propiedades físicas y químicas del DM, se mencionan someramente las propiedades farmacológicas, mecanismo de acción, metabolismo y excreción; se describen los métodos de síntesis y resolución publicados desde 1951, así como los procedimientos de análisis que se han reportado.

1.1 ASPECTOS ECONOMICOS.

El bromhidrato de dextrometorfán (Romilar) ha desplazado paulatinamente a la Codeína y otros antitusivos del mercado nacional^{1,2} debido a que es un buen supresor de la tos sin causar efectos secundarios.

1.1.1 SITUACION DEL MEDICAMENTO A PARTIR DE SU INTRODUCCION EN MEXICO.

El DM-HBr se introdujo en México en 1975¹ y durante este tiempo y hasta 1991 se han importado 74 000 Kg (Fig.1.1). Los principales proveedores extranjeros son en orden de importancia, (Los números entre paréntesis representan % en peso de DM-HBr): E.U.A. (20.6%), Suiza (23.5%), Uruguay (18%) y Alemania (13%). Otros socios de menor importancia son: Isla Antigua (6.31%), Dinamarca (3%), Bélgica (2.34%), Francia (1.47%), Italia (1.26%), Isla Tokelau (0.57%), Venezuela (0.51%), Canada (0.2%), Brasil (0.81%), Reino Unido (0.17%) e India (0.03%).

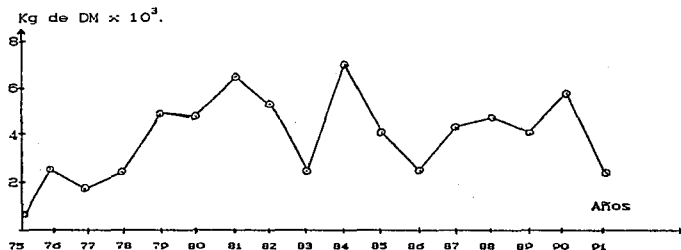


Figura 1.2. Importaciones de DM-HBr entre 1975 y 1991.

Datos Proporcionados por el Banco Mexicano de Comercio Exterior.

1.1.2 DISTRIBUIDORES EN MEXICO.

Los distribuidores de DM-HBr son: Protein, Importadora y Manufacturera Brulart, Química y Farmacia y Laboratorios Vidar, siendo sus clientes inmediatos los laboratorios indicados en la tabla 1.1 y el Sector Salud, en el País no existen fabricantes para este producto. En 1991 se vendieron al Sector salud 1338 Kg de DM-HBr³. En este mismo período el Sector Privado consumió alrededor de 1195 Kg^{2,3}.

El precio por unidad fue de 800 pesos para el Sector Salud y

1319 para el Sector Privado (unidad = 60 ml y cada ml es igual a 3 mg de DM-HBr).

Se prevee⁸ que para 1992 el Sector Privado gastará 1576 pesos por unidad.

2.0 GENERALIDADES.

El DM es un fármaco antitusivo sintetizado por Schnider y Grüssner⁴ para los Laboratorios Hoffmann La Roche y patentado en E.U.A. en 1954⁵. Aunque estructuralmente es un opiáceo, carece, a dosis terapéutica de efectos sedantes y analgésicos. Este compuesto presenta las siguientes características⁶: a) no es narcótico, b) es seguro y efectivo, c) tiene excelente estabilidad, d) presenta gran velocidad de acción y e) es farmacéuticamente aceptable para la incorporación en varias formulaciones contra la tos.

Benson et. al.⁴ inician el estudio del DM al hacer un estudio comparativo de sus propiedades con las del Racemorfán, levorfan y otros éteres metílicos relacionados (ver fig.2.1), encontrando que los isómeros dextro, particularmente el DM, tienen significativa actividad antitusiva sin inducir ni efectos depresores de la respiración ni analgesia. Se ha encontrado que los compuestos leve son responsables de adicción, mientras que los dextro no la producen. Estos trabajos y muchos otros demuestran que el fármaco es efectivo como antitusivo⁷⁻¹⁶. Pero además de las propiedades como antitusivo se ha encontrado que es útil como antiinflamatorio¹⁷, en el tratamiento de la dismenorrea¹⁸, como agente antitumor^{19,20} y por último se ha observado que tiene propiedades anticonvulsiantes²¹⁻²⁶. Se tiende a considerarlo poco tóxico y sin riesgo de adicción^{4,9,27}, pero estudios hechos en perros indican que induce adicción similar a la producida por la Morfina al administrarse por períodos prolongados, incluso Noirfalice³⁰ informó de un caso de intoxicación en niños por ingestión de 15 mg de DM, que corresponde a una dosis terapéutica⁴⁰. El DM actúa a nivel del sistema nervioso central aumentando el umbral al estímulo tusígeno en el Centro de la Tos localizado en áreas dispersas del bulbo raquídeo²⁵⁻³¹, además de

inhibir la tos reduce las secreciones bronquiales, sin disminuir la actividad ciliar del epitelio bronquial. Su efectividad en pacientes con tos patológica ha sido estudiada en muchos casos clínicos indicando que tiene una potencia semejante a la de la Codeína^{7,32}. La administración de este fármaco por vía oral produce niveles plasmáticos elevados en aproximadamente 2 horas, aunque su efecto antitusivo se presenta en unos 20 minutos³³. Es metabolizado en el hígado a nivel del retículo endoplásmico liso por O y N-desmetilación originando varios metabolitos como 3-hidroxi morfina (II), 3-hidroxi-N-metilmorfina (III) y 3-metoximorfina (IV). Estos metabolitos así como sus conjugados con el ácido glucurónico y con sulfatos son eliminados por orina y bilis.

2.1 PROPIEDADES FÍSICAS.

Descripción:

El bromhidrato de dextrometorfán (DM-HBr)⁶ es un polvo blanco cristalino, carece de olor y es de sabor amargo. Tiene un punto de fusión de 122-124°C, mientras que el punto de fusión de la base libre es de 109.5-111.5°C⁴¹. Las disoluciones acuosas (1%) son incoloras con un pH de 5.2 a 5.5.

Su solubilidad en agua es baja, siendo más soluble en disolventes orgánicos como glicerina, alcohol, propileno glicol y cloroformo (Tabla 2.1.).

Apariencia.....	polvo cristalino
Color.....	blanco
Olor.....	ninguno
Sabor.....	amargo
Color de la disolución al 1% en agua.....	incolora
pH de la disolución al 1% en agua.....	5.2 a 5.5
Residuo de ignición.....	0.1%
Solubilidad:	
Agua a 25°C.....	1.5%
a 50°C.....	5.0%
a 70°C.....	10.0%
a 85°C.....	25.0%
Alcohol.....	25.0%
Glicerina USP.....	10.0%
Propileno glicol USP.....	soluble
Cloroformo USP.....	soluble

Tabla 2.1. Propiedades Físicas del Dextrometorfán como bromhidrato. Tomado de: Drug Cosmetic Ind. 98(5),757 (1962).

Una disolución al 1.5% en agua del DM presenta una actividad óptica de $[\alpha]^{25} = +26$ a $+28^{\circ}$.

De acuerdo con Magid^d, el Romilar es estable a la luz, al aire y no es higroscópico. Al estudiar la estabilidad de disoluciones acuosas del fármaco, se encontró que es estable en un rango de pH de 4 a 5.6, es estable a la exposición solar indirecta, ya que, una exposición directa tiende a descomponerlo lentamente (Tabla 2.2).

Puede resistir un almacenamiento prolongado (más de tres meses) a $45^{\circ}\text{C}^{\text{d}}$. Gutierrez y Garzón⁴² hicieron un estudio sobre la estabilidad de esta sustancia durante un período de 12 meses a temperatura ambiente y a 37°C checando el producto por cromatografía de gases, encontrando que el DM se mantiene estable después de 4, 6 y 12 meses de almacenamiento.

Cristales:

Luz-----estable a la iluminación indirecta.

Aire-----estable.

Humedad----no higroscópico.

Soluciones acuosas:

pH----- estable entre 4 y 5.6

Aire-----estable

Luz-----estable a la iluminación indirecta.

Tabletas y Cápsulas:

Estable bajo las condiciones normales de almacenamiento.

Tabla 2.2. Estabilidad del Bromhidrato de Dextrometorfán.
Tomado de: Drug Cosmetic Ind. 93(5), 620-22, 757 (1963).

2.2 PROPIEDADES QUIMICAS.

NOMBRES QUIMICOS Y SINONIMOS.

El DM se conoce como: d-3-metoxi-N-metilmorfinano; d-3-metoxi-17-metilmorfinano; d-1,2,3,4,9,10,10a-hexahidro-6-metoxi-11-metil-2H-10,4a-iminoetanofenantreno; 3-metoxi-17-metil-9 α ,13 α ,14 α -morfinano; 3-metoxi-N-metilmorfinano; bromhidrato de dextrometorfán.

El DM existe formando parte de una mezcla⁴ con su enantiómero el Levometorfán. El isómero dextro presenta la propiedad antitusiva mientras que el isómero levo es narcótico.

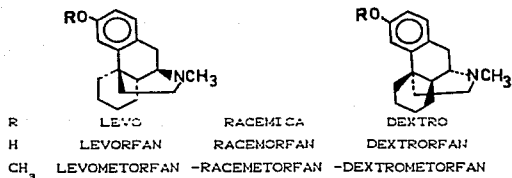
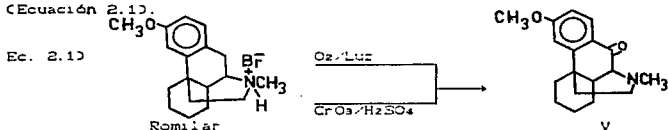


Figura 2.1. Mezcla racémica del 3-metoxi-N-metilmorfinano.

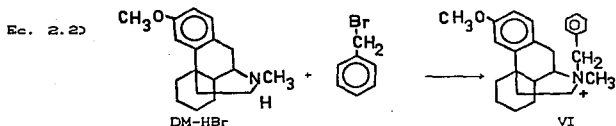
El DM es inerte al ataque de agentes oxidantes y reductores suaves. Es estable en disoluciones frías de ácido clorhídrico y de sosa 1M. Como bromhidrato reacciona con alcalis⁶ para formar la base libre. Forma un nitrato de baja solubilidad y precipita de soluciones acuosas por el ácido tánico, salicilatos y soluciones concentradas de ioduro de sodio y de potasio.

Reacciona en medio ácido con nitrito de sodio en presencia de nitrato mercúrico con aparición de color rojo que al calentar pasa a amarillo. Una disolución del fármaco en contacto con cloruro de plata acuosa produce un precipitado amarillento insoluble en disoluciones diluidas de amoníaco e insoluble en ácido nítrico diluido⁴³.

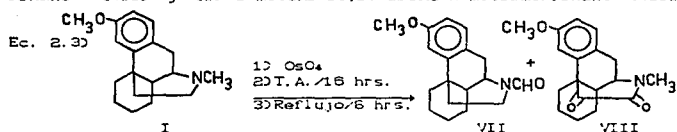
Häflinger et. al.⁴⁴ estudiaron los productos de foto-oxidación del DM (I) en presencia de oxígeno. En este estudio irradiaron una disolución acuosa al 1% de Romilar (I-HBr) en presencia de oxígeno, produciéndose (I)-3-metoxi-10-oxo-N-metilmorfinano (V) con un 10% de rendimiento. La oxidación directa con trióxido de cromo en ácido sulfúrico forma V con buen rendimiento (Ecuación 2.1).



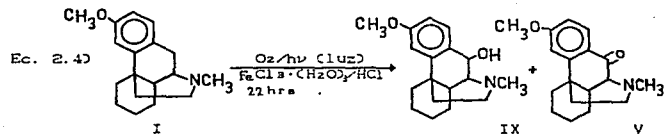
El tratamiento del DM-HBr con bromuro de bencilo en acetona produce el bromobencilato (VI) (Ec. 2.2).



En 1975⁴⁵ se reportó que la reacción del DM con tetróxido de osmio forma los compuestos de oxidación (d)-3-metoxi-N-formilmorfinano (VII) y (1)-3-metoxi-15,16-dioxo-N-metilmorfinano (VIII)

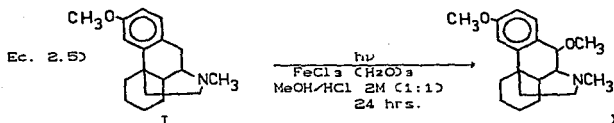


Recientemente Boccardi et. al.⁴⁶ publicaron un artículo sobre la oxidación fotoquímica de I en ácido clorhídrico y trazas de iones férricos, esta reacción da como producto principal el (1)-3-metoxi-10-hidroxi-N-metilmorfinano (IX) y el (1)-3-metoxi-10-oxo-N-metilmorfinano (V). Además la composición de esta mezcla depende de las condiciones experimentales y del disolvente usado (Ec. 2.4).

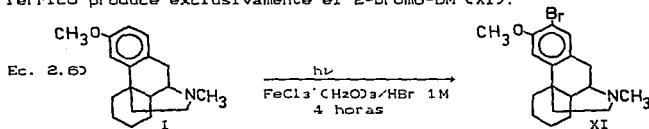


Debido a la falta de reacción en ácido sulfúrico los autores creen que es importante la formación del complejo Fe^{III} -cloro⁴⁶.

Cuando el DM se oxida en presencia de metanol-HCl 2M (1:1) se aísla del medio de reacción el (d)-3,10-dimetoxi-N-metilmorfinano (X) (Ecuación 2.5).



Al sustituir el ácido clorhídrico por ácido bromhídrico se encuentra que la reacción fotoquímica en presencia de cloruro férrico produce exclusivamente el 2-bromo-DM (XI).



2.3 ACTIVIDAD ANTITUSIVA.

La tos es un fenómeno que tiene la función de protejernos de la invasión de cuerpos extraños tales como secreciones bronquiales originadas por procesos infecciosos, polvo vapores y humo. En el acto de toser, el aire inspirado es expulsado con gran fuerza y en su violenta salida arrastra los cuerpos extraños. En ocasiones la tos es excesiva y provoca irritación en el tracto respiratorio, llevando a un círculo vicioso, ya que la irritación a su vez provoca tos.

Con el nombre de agentes antitusivos se denomina a las drogas que poseen la propiedad de calmar o aliviar la tos.

Para poder estudiar en condiciones controladas la actividad antitusiva del DM y otras fármacos relacionadas, han aparecido varios métodos para producir tos artificialmente y esto son:

- 1) Estimulación mecánica causada por irritación de la mucosa traqueal al introducir objetos de hule o plástico, se dice que la respuesta se origina en unos receptores mecánicos presentes en esa zona⁴⁷⁻⁴⁹.
- 2) Métodos químicos que se caracterizan por el uso de sustancias capaces de provocar tos por irritación de la mucosa traqueobronquial, sustancias usadas con este

fin son: ácido cítrico, paraldehído, hidróxido de amonio, amoniaco/aire y dióxido de azufre/aire, dando los mejores resultados el ácido cítrico, y el amoniaco^{8,50-52}.

- 3) Estimulación eléctrica de los troncos nerviosos^{53,54}, de la mucosa traqueal^{4,55-57} o de ciertas áreas del bulbo raquídeo^{16,30,57}.
- 4) Estimulación farmacodinámica por drogas como nicotina lobelina y yoduro de 1,1-dimetil-1,4-fenilpiperazina^{12,58,59}.

Hasta hace poco tiempo los alcaloides fenantrénicos del opio, principalmente Morfina y Codeína habían sido los más comunes y efectivos supresores de la tos. De hecho estas drogas, junto con los narcóticos sintetizados a partir de los alcaloides del opio eran los únicos antitusivos disponibles en el mercado. Hace cerca de 25 años el 25% del total de narcóticos comercializados en E.U.A fueron empleados como componentes en mezclas antitusivas (Tabla 2.3). La Heroína (diacilmorfina) fue usada ampliamente como supresor de la tos en Inglaterra y muchos otros países europeos⁶⁰. Aunque el uso principal de estas drogas es como analgésicos.

Sustancia	Nombre Comercial	Dosis (mg)
Codeína	-	10-20
Morfina	-	2-3
Metilmorfina	-	8-15
Dihidromorfina	Dilaudid	0.5-1
Dihidrocodeína	Hycodan, Dicodid, Tussionex	5-10
Morfoliniletilmorfina	Pholcodina	10-
Alcaloides del Opio	Pantopan	2-3
Metadona	Dolophine, Adanon, Amidona	2.5-5
Levorfanol	Levo-Dromoran	0.5-1

Tabla 2.3.. Drogas Narcóticas que Poseen Actividad Antitusiva.

Tomado de: "Drug of Choice" pp 402-4. Saint Louis U.S.A. (1974).

Aunque los agentes narcóticos son efectivos antitusivos tienen la desventaja de ser potencialmente adictivos y la mayoría producen efectos indeseables cuando son administrados en dosis óptimas por mucho tiempo, para eliminar estos inconvenientes han sido desarrolladas un gran número de fármacos de potencia parecida a la que presenta la Codeína sin presentar los efectos adversos de los narcóticos, entre estas el DM ocupa un lugar especial. Una lista de las drogas de este tipo se muestran en la tabla 2.4.

Sustancia	Nombre Comercial	Dosis (mg)
Dextrometorfán	Romilar (Roche)	15-30
Narcotina (Noscapina)	Nectadon	10-30
Carbetapentano	Toclase	15-30
Caramifen	Toryn	10-20
Levopropoxifeno	Novrad	50-100
Benzonotato	Tessolan	50-100
Dimetoxanato	Cothera	25
Clofedianol	ULO, Detigon	25
Pipezetato	Theratuss	20-40

Tabla 2.4. Agentes Antitusivos no Narcóticos.

Tomado de: "Drug of Choice" pp 402-4. Saint Louis U.S.A. (1974).

La potencia antitusiva del DM es igual a la que presentan la Codeína, Levopropoxifeno, Caramifen y Narcotina, aunque hay otras drogas más potentes tienen el inconveniente de ser narcóticas y causar adicción (Tabla 2.5).

Para tener una idea de la potencia antitusiva del DM a continuación se presentan varios supresores de la tos ordenados en forma creciente de su capacidad antitusiva^{4,7,8}.

Codeína = Dextrorfán = DM = 1-Propoxifeno > dl-Propoxifeno > d-Propoxifeno.

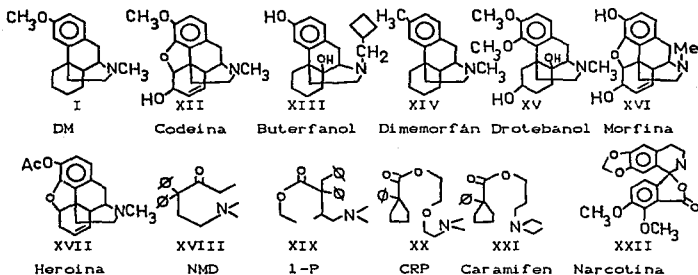
DM > Dextrorfán > Levorfán > Racemorfán = Morfina > Racemeterfán > Levometerfán.

De la tabla 2.5 se obtiene el siguiente orden en potencia antitusiva: Buterfanol > Heroína = Morfina > Normetadona > Dimemorfán > Carbetapentano > Drotebanol > Codeína = DM = Narcotina = 1-Propoxifeno > Caramifen.

Sustancia	Dosis (mg)	Potencia Antitusiva	Ref.
Romilar (DM-HBr)	15-30	100	40,60
Codeína (Cd)	10-20	100	40,60
Buterfanol (Bf)	-	1000	61
Drotebanol (Db)	-	100	61
Dimemorfán (DF)	-	100	61
Morfina (Mf)	2-3	1000	52
Heroína (HR)	2.5-5	1000	52
Normetadona (NMD)	2.5-5	200	40
1-Propoxifeno (1-P)	32.5-60	90	60
Carbetapentano (CRP)	15-30	150	60
Caramifen (CRF)	10-20	< 100	7,60
Narcotina (NCT)	15-30	100	8,60

Tabla 2.5. Potencia Antitusiva de DM y Otras Drogas.

A continuación se indican las estructuras de los fármacos citados en la tabla anterior (2.5).



La mayor parte de los estudios sobre la tos han sido realizados en animales⁸. En seres humanos se ha producido tos artificialmente con ácido cítrico o haciendo respirar mezclas de amoníaco/Aire, etc.^{9,52}. Resultados típicos se indican en la figura 2.4. En esta figura se observa que la Codeína y la Narcotina alcanzan su efectividad máxima a las dos horas, mientras que el Romilar y el 1-Propoxifeno presentan su máximo a las tres horas.

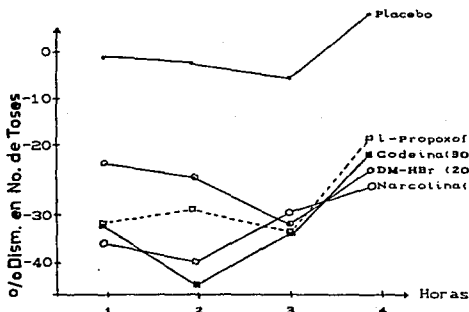


Figura. 2.2. Efecto de Antitúxicos sobre el Número de Toses. Expresado como el Promedio del Porcentaje en cada hora considerada. Tomado de: Am. J. Med. Sci. 104-205 (1957).

También se encontró que el DM, Morfina, Heroína y Codeína en ocasiones no reducen en forma predecible la tos producida al inhalar amoniaco, ácido cítrico o por inyección (i.v.) de Paraldehido, (Trimerico cíclico del formaldehido), debido posiblemente a factores de tipo psicológico³².

La actividad del DM (10 y 20 mg), Codeína (15 mg) Caramifen (10 mg) y un placebo, se estudió en 65 individuos humanos con tos patológica⁷. La medicación se administró 5 veces al día durante 10 días, luego recibieron un placebo por 3 días, este proceso lo repitieron hasta completar los 65 días. De este estudio se concluyó que la Codeína y el DM (S, 10 mg) tienen una efectividad máxima y el Caramifen (U) y el DM (T, 20 mg) presentan menor efectividad, y como era de esperar, el placebo presentó la mínima actividad (Figura 2.3. y 2.4).

En la figura 2.3 se observa que el grado de tos es máxima en la mañana, mínima al medio día e intermedia en la tarde.

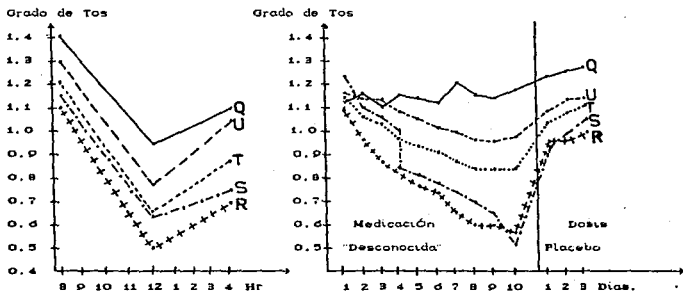


Fig. 2.3

Fig. 2.4

Figura 2.3. Variaciones de Tos por Día (Promedio de 640 observaciones). Figura 2.4 Variaciones de la Tos a lo largo de 13 días (cada número es el promedio de 189 observaciones). Tomado de: J. Lab. Clin. Med. 48, 879-884 (1956).

De los estudios realizados sobre antitusivos se pueden extraer los siguientes hechos^{4,7,8,40,52,60,62}:

- a) Los antitusivos no necesariamente contienen el grupo morfano, pues se conocen muchas sustancias que no contienen

- dicho grupo, y sin embargo son antitusivos.
- b) Todos los antitusivos tienen en común un nitrógeno terciario formando parte de un ciclo o de una ramificación.
 - c) Es difícil cuantificar la actividad de los antitusivos, ya que muchas veces intervienen factores psicológicos con humanos, por esta razón es aventurado extrapolar resultados obtenidos en animales al hombre.
 - d) Cuando la tos es de origen patológico, ésta puede ser controlada con antitusivos, pero éstos no eliminan la infección que la está causando, lo que en un momento dado puede ser peligroso para el paciente.

2.3.1 MECANISMO DE ACCION.

El DM actúa a nivel del Sistema Nervioso Central^{12,17,20-21,69} y en menor grado sobre el Sistema Nervioso Periférico^{17,20,62}.

La tos es un reflejo altamente integrado, que ocurre parcialmente bajo control voluntario.

Cuando se sabe que un componente neural puede alterar la tos o, inversamente, puede ser alterado por la tos, se deduce que el sitio en cuestión debe estar relacionado con la tos. Tal es el caso en el cese de la tos de gatos cuando se ocluyen las vías respiratorias para impedir el aumento del volumen pulmonar durante la inspiración⁶⁰ o cuando se anestesian los receptores de estiramiento pulmonar⁶⁷.

Se ha demostrado la existencia de un grupo de neuronas espiratorias localizadas en el bulbo raquídeo, las cuales despliegan una descarga de baja frecuencia al inicio de la inspiración, que luego se aceleran en el transcurso de esta fase; si se provoca tos en el animal entonces esta células exhiben un tipo diferente de descarga¹². De acuerdo con estas observaciones el centro de la tos se puede definir como: "una unidad neuronal coordinante ubicada en áreas dispersas del bulbo raquídeo y la protuberancia con conexiones íntimas con la unidad neuronal respiratoria y en parte, idéntica con ella"⁶⁷.

Chou y Wang²⁴ localizaron el sitio de regulación central como distribuido en la región dorsomedial al tracto trigeminal y núcleo en el área adyacente a los nervios aferentes vago y glossofaríngeo.

En los últimos 10 años se ha probado la existencia de receptores específicos para el DM que son diferentes a los receptores opiáceos^{22,24,64,65}. Estos receptores se caracterizan en ser saturables, reversibles y estereoselectivos, siendo de dos tipos uno de alta afinidad y otro de baja afinidad. Al investigar la distribución subcelular se ha encontrado que los sitios de alta afinidad están confinados, casi en su totalidad, a la fracción microsomal, siendo éstos, macromoléculas de naturaleza proteica.

Musacchio et. al.²² propusieron la hipótesis de que la alta afinidad de los sitios de unión para DM son responsables de la actividad antitusiva y se origina cuando estos receptores son ocupados por el ligante apropiado, es decir, el DM u otros fármacos relacionados (v.gr. Caramifen, Carbetapentano, etc.).

De lo indicado anteriormente se deduce que el mecanismo de acción del DM a nivel central comprende una serie de cambios conformacionales de los receptores, los cuales, a la manera de un interruptor controlan los flujos neuronales que modulan los efectos antitusivos^{22,24}.

Se ha descubierto que el DM se une a un gran número de tejidos tales como hígado riñones, bazo y en menor grado en corazón²⁴, de lo que se deduce que existen receptores centrales y periféricos y se sabe que estos son diferentes entre sí, es probable que los receptores periféricos sean los responsables de los efectos secundarios asociados con los antitusivos⁶⁸.

A nivel del Sistema Nervioso Periférico los efectos secundarios principales que causa el DM son^{29,32,62,63,69,70}:

- 1) Aumento de: la presión sanguínea, la resistencia pulmonar el flujo sanguíneo pulmonar, la presión en las arterias pulmonares.
- 2) Broncoconstricción.
- 3) Reducción de la presión sanguínea (por disminución de la resistencia vascular).
- 4) Disminución del flujo sanguíneo.
- 5) Disminución del volumen respiratorio.
- 6) Ocasionalmente se produce taquicardia.

Estos efectos fueron encontrados en animales a los que se les dieron dosis de 1 a 15 mg/Kg de DM. Indudablemente existe la probabilidad de que estos efectos se presenten ocasionalmente en humanos.

Furokawa y Okabe⁷¹ descubrieron que cuando el Romilar se administra simultáneamente con Fenobarbital en forma oral no se presentan modificaciones sobre la presión sanguínea o en la actividad cardíaca.

2.4 TOXICOLOGIA.

Es común conciderar que el DM carece de toxicidad a dosis terapéutica, sin embargo, se ha informado³⁰ que ocasionalmente dosis terapéuticas han causado trastornos gastrointestinales en personas sencibles. Las manifestaciones consisten en sequedad, nausea, disminución del apetito y constipación o diarrea.

También se producen ocasionalmente trastornos nerviosos que se manifiestan con mareos, somnolencia o euforia; todas estas manifestaciones ceden al disminuir o suprimir la administración de DM siempre y cuando la medicación no haya sido muy prolongada³⁷ que generalmente es el caso más común.

Se sabe^{4,62} que ratones que recibieron dosis letales de DM presentaron ataques convulsivos y murieron debido a fallo respiratorio.

Este antitusivo posee una aparente citotoxicidad a dosis similares a la terapéutica^{19,20}. Animales que recibieron inyecciones intramoleculares de DM desarrollaron necrosis donde se aplicó la inyección⁴.

Una prueba de que este fármaco puede ser adictivo es el hecho de que puede prevenir los síntomas de la abstinencia a la Morfina e induce adicción en perros²⁸ y en ratas^{62,72} cuando se administran dosis crecientes por períodos superiores a dos meses.

Se conoce el caso de un adicto a las drogas que desarrollo un psicosis después de tomar 20 tabletas que contenían DM, la reacción se caracterizó por hiperactividad, alucinaciones visuales y auditivas⁷³.

Noirfalise et. al.³⁹ reportaron un caso grave de intoxicación en niños por ingestión de 15 mg de DM.

Debido a estos hechos el Expert Committee on Drug Dependence de E.U.A. recomienda el monitoreo del consumo de DM para detectar algún signo de adicción.⁷²

Pruebas hechas en animales^{4,62} indican que la dosis letal media (DL_{50}) del DM depende tanto de la vía de administración como del sujeto de experimentación (Tabla 2.5).

En humanos se acepta como DL_{50} vía oral 165 mg/Kg⁴⁸.

Droga	Animal	DL_{50} (mg/Kg)		
		I. V.	S. C.	Oral
Romilar	Conejo	15	-	-
	Ratón	35	275	165
	Rata	-	600 ($>400^*$)	350
Dextrorfán	Conejo	27	-	-
	Ratón	65	350	385
	Rata	-	800 (800^*)	1100
Morfina	Rata	-	600	-

Tabla 2.5. DL_{50} de Romilar, Dextrorfán y Morfina en Animales.

Donde: I. V. = vía intravenosa; S. C. = vía intramuscular.

Tomado con modificaciones de: J. Pharmacol. Exptl. Therap. 109,197 (1953) y Arch. Exper. Phat. U. Pharmacol. Bd. 220, 26 (1957).

Es conveniente hacer notar que en la administración de todo tipo de fármaco existe el riesgo potencial de reacciones adversas, debido a esto, siempre se determina una dosis en la que el medicamento presenta un máximo de efectos terapéuticos con un mínimo de efectos secundarios. Lo acertado de este método lo comprobamos con el hecho de que fármacos mucho más tóxicos que el DM se pueden encontrar en el mercado. Es más se sabe^{37,74} que el DM-HBr se comercializa sin necesidad de receta médica en muchos países de Europa.

2.5 METABOLISMO Y EXCRECION.

La administración de DM-HBr en el Hombre produce niveles plasmáticos elevados en aproximadamente dos horas, lo que señala una buena absorción intestinal³³. Gibaldi y Grunhofer al estudiar el metabolismo en ratas encontraron un patrón de absorción similar al anterior⁷⁵.

El DM-HBr es metabolizado en el Hígado a nivel del retículo endoplásmico liso, en unas estructuras llamadas microsomas^{34,76,77} las que contienen un complejo enzimático saturable a concentraciones relativamente bajas^{35,38}.

La vía metabólica seguida consiste principalmente en la O-desmetilación para formar el Dextrorfán (DX) y en menor grado la N-desmetilación en la que se forma el Metoximorfinano (MEM). Estos metabolitos pueden ser desmetilados hasta el Hidroximorfinano (HOM) (Figura 2.5), y este al igual que el DX puede formar compuestos conjugados con el ácido glucurónico y con sulfatos transformándose en compuestos metabólicamente inertes^{34,35,38}.

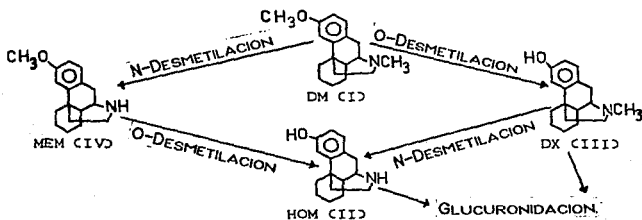


Figura 2.6. Vías Metabólicas del DM.

La O y N-desmetilación son procesos más bien oxidativos, que de transferencia de metilos o hidrólisis, pues se ha detectado en los microsomas el citocromo P-450, el cual es un mediador en los procesos oxidativos a nivel hepático^{38,74,78}. Aunque el DX, MEM y HOM son los principales metabolitos asociados con la degradación

enzimática del DM, no son los únicos, ya que investigaciones realizadas por Koepfel et. al.⁷⁰ revelaron la existencia de alrededor de 15 metabolitos y proponen la existencia de vías secundarias de degradación que comprenden la O y N-acetilación, hidroxilación del anillo aromático, saturación del mismo con subsecuente oxidación.

El modelo animal para el estudio del metabolismo del DM es suficiente para explicar cualitativamente la degradación en el ser humano, aunque cuantitativamente hay marcadas diferencias entre animales y el hombre⁸⁰, incluso se sabe de grandes diferencias entre grupos de animales de la misma especie y por supuesto, entre individuos humanos, diferencias que son regidas por factores genéticos tipo Mendeliano^{37,38}.

Un ejemplo típico de los productos de la degradación del DM se muestra en la tabla 2.6.

Compuesto	Radiactividad Total	
	Orina	Bilis
DM	2.8%	0.0%
DX	25.2	33.5
DX-glucuronido	44.7	29.9
DX-sulfato	10.7	18.8
HOM	5.7	11.5
HOM-glucuronido	6.8	7.2
HOM-sulfato	2.9	5.1
Radiactividad Total	98.8	105.7

Tabla 2.6. Productos de la Degradación Enzimática del DM en Ratas. Tomado de:
J. Pharm. Exptl. Therap. 158(3), 437 (1967).

3.0 METODOS DE SINTESIS DEL DEXTROMETORFAN E INTERMEDIARIOS.

Desde que se inició el estudio del DM (I) (Figura 3.1) se han publicado un grán número de métodos de síntesis mismos que pueden ser clasificados en cuatro grupos:

- 1) Síntesis a partir de la tetrahidroisoquinolina.
- 2) Síntesis a partir de 2-(1-ciclohexenil)-etilamina.
- 3) Síntesis a partir de Sinomenina, y
- 4) Síntesis asimétrica a partir de 2-(1-ciclohexenil)-etilamina.

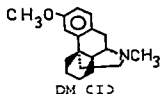


Figura 3.1. Estructura del Dextrometorfan (DM).

En la síntesis del DM pueden identificarse cuatro intermediarios claves:

- a) (d,l)-1-(p-metoxibencil)-2-metil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-isoquinolina (II).
- b) (d,l)-3-hidroxi-N-metilmorfinano (III).
- c) (d,l)-3-metoxi-N-metilmorfinano (IV).
- d) (d)-3-hidroxi-N-metilmorfinano (V).

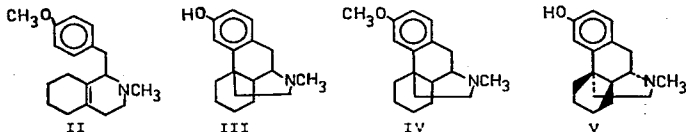


Figura 3.2. Intermediarios del Dextrometorfán.

Los tres primeros son mezclas racémicas y el último es el isómero óptico de III (Fig. 3.2).

A continuación se describirá la forma en que han sido obtenidos los intermediarios citados, hasta llegar al isómero DM.

3.1 SINTESIS DE 1-(P-METOXIBENCIL)-2-METIL-1,2,3,4,5,6,7,8-OCTA-HIDROISOQUINOLINA (II).

El intermediario II puede ser preparado a partir de tetrahidroisoquinolina (VI) de acuerdo siguiente con el procedimiento siguiente (Esquema 3.1):

Inicialmente se hace reaccionar a VI disuelta en N,N-dimetilanilina con amida de sodio, agitando de 10 a 12 horas, a 140-150°C, obteniendo después de extraer con éter y destilar el disolvente la 1-amino-tetrahidroisoquinolina (VII).

Esta se hizo reaccionar con nitrito de sodio en una mezcla bromo/ácido bromhídrico agitando una hora a 0°C, la mezcla resultante se purificó por extracción con éter y destilación obteniéndose 1-bromo-tetrahidroisoquinolina (VIII).

Posteriormente^{01,02,03} VIII es tratada con n-butil-litio (n-BuLi) agitando en éter 15-20 minutos a -35°C formándose el compuesto organometálico IX.

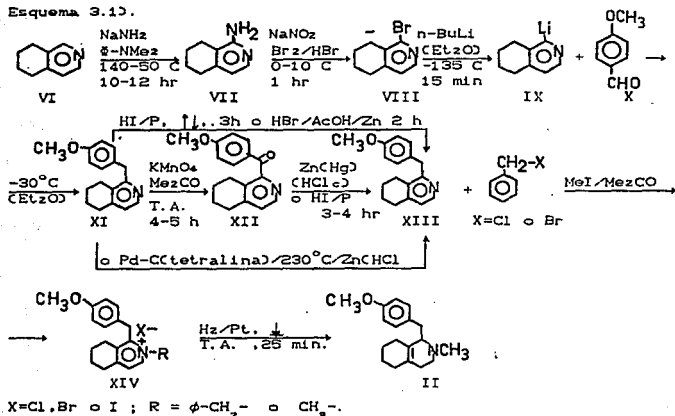
A IX se le adicionó lentamente p-metopxibenzaldehído (X) disuelto en éter y manteniendo la temperatura a 30°C durante toda la reacción, luego el producto se trata con ácido clorhídrico diluido, obteniéndose el alcohol secundario 1-(p-metoxibencil)-5,6,7,8-tetrahidroisoquinolinmetanol (XI).

El compuesto XI disuelto en acetona es oxidado con permanganato de potasio, agitando 4-5 horas a temperatura ambiente (T.A.) obteniendo después de purificar 1-(p-metoxibencil)-5,6,7,8-tetrahidro-1-isoquinolincetona (XII).

Para continuar se proponen diferentes procedimientos para reducir el carbonilo de XII al metileno correspondiente. Grewe⁰¹ realizó esta reducción bajo las condiciones de Clemmensen para lo cual XII se agito en ácido clorhídrico concentrado y amalgama de zinc 4-6 horas en baño maría para obtener al purificar, el derivado 1-(p-metoxibencil)-5,6,7,8-tetrahidroisoquinolina (XIII).

Una técnica diferente es por reflujo en ácido iodhídrico ($\rho = 1.7 \text{ g cm}^3$) en presencia de fósforo rojo por 3-4 horas, terminada la reacción se hace una extracción con éter y al destilar el disolvente se obtiene XIII. Grewe⁰³ también realizó la reducción directa por tres métodos diferentes (Esquema 3.1).

Esquema 3.10.



- El compuesto XI se reflujo en ácido iodhídrico y fósforo rojo por 3 horas, al final del reflujo se adicionó un exceso de sosa diluida, luego el compuesto reducido se precipitó con ácido carbónico, después de filtrar y lavar con agua se da por terminada la reducción.
- El alcohol XI disuelto en tetralina se calentó a 235°C con paladio sobre carbón (Pd/C), en seguida se adicionó zinc sobre la mezcla de reacción acidificada con ácido clorhídrico, obteniendo por este método la base XIII.
- En este último método XI se disolvió en ácido acético/ácido bromhídrico y se calentó en presencia de zinc completándose la reducción después de dos horas de agitación.

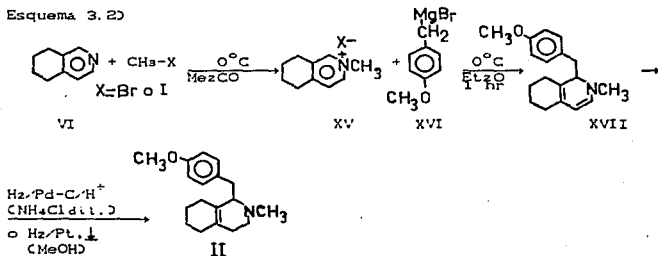
Luego XIII se sometió a una reacción de alquilación sobre su átomo de nitrógeno con cloruro o bromuro de bencilo^{81,82} o con ioduro de metilo⁸³ obteniendo al reflujo dos horas la sal de iminio correspondiente (XIV).

Después se realizó la hidrogenación catalítica de XIV según el método que a continuación se describe^{81,82,83}.

El compuesto XIV disuelto en metanol se alcalinizó con sosa 1N absorbiendo en presencia de platino(Pt) un mol de hidrógeno en 15 minutos. luego la mezcla reaccionante se acidificó con ácido sulfúrico 1N absorbiéndose otros 0.8 moles de hidrógeno en 10 minutos a 3 atmósferas de presión. finalizada la reducción se obtiene el intermediario 1-(p-metoxibencil)-2-metil-1.2.3.4.5.6.7.8-octahidroisquinolina (II).

Casi simultáneamente con Grewe, Schnider y Grüssner^{84,85} publicaron dos métodos para la preparación de II a partir de la tetrahydroisquinolina (VI), a continuación se indica el esquema de síntesis (Esquema 3.2).

Esquema 3.2)



En esta síntesis se parte de una solución en acetona de VI la cual se trata con bromuro de metilo⁸⁴ o con yoduro de metilo⁸⁵ refluendo 48 horas y el producto obtenido es la sal de tetrahydroisquinolinio (XV).

A continuación XV se adicionó lentamente sobre el reactivo de Grignard XVI^{84,85,86} agitando una hora a 0°C, la mezcla se acidificó con ácido clorhídrico 1N o con ácido acético, la solución se neutralizó con hidróxido de amonio precipitando de este modo la base libre, la cual es recuperada por filtración y resuspendida en alcohol se extrae con éter, destilando el éter se obtiene la base 1-(p-metoxibencil)-2-metil-1.2.5.6.7.8-hexahidroisquinolina (XVII).

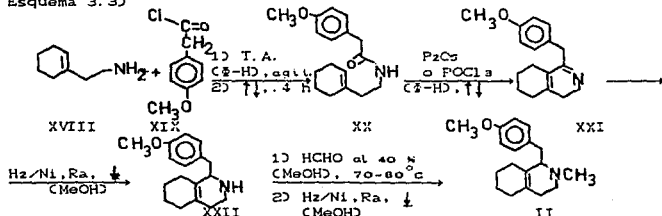
La base XVII disuelta en ácido clorhídrico se neutralizó con hidróxido de amonio y se adiciono sobre una solución diluida de cloruro de amonio^{84,85} e hidrogenó sobre Pd/C a tres atmósferas y T.A. al terminar la reacción se eliminó el catalizador por filtración, a continuación se extrajo la base II con benceno y se eliminó el disolvente por destilación.

La reducción se puede realizar también disolviendo XVII en metanol e hidrogenando a T.A. y presión de 5 atmósferas usando platino como catalizador, al final se elimina éste y el producto se purifica por extracción con disolventes⁸⁶.

3.11 SINTESIS DE II A PARTIR DE 2-(1-CICLOHEXENIL)-ETILAMINA (XVIII).

En 1950 Schnider y Hellerbach⁸⁷ publicaron un método para la preparación de II a partir de XVIII, trabajo patentado al poco tiempo en Suiza⁸⁸. Los procedimientos se indican en seguida.

Esquema 3.3)



La primera reacción se realizó adicionando el cloruro del ácido p-metoxifenilacético (XIX) sobre una solución bencénica de XVIII refluendo por cuatro horas, terminada la reacción el producto se purificó por recristalización de acetato de etilo/hexano, aislándose al eliminar los disolventes la N-2-(1-ciclohexenil)-etil-4-metoxifenilacetamida (XX).

En seguida se realiza la ciclización de XX con un agente deshidratante como pentóxido de fósforo⁸⁸, después de agitar 15 horas a 110°C se eliminó el exceso de agente deshidratante con

agua helada ligeramente alcalina seguida de extracción con disolventes, obteniendo la 1-(p-metoxibencil)-3,4,5,6,7,8-hexahidroisouquinolina (XXI).

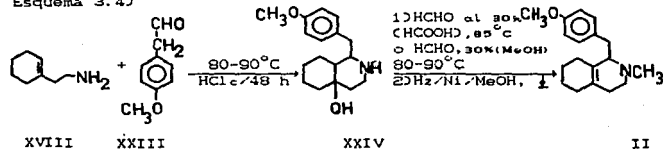
La hexahidroisouquinolina (XXI) disuelta en etanol es hidrogenada en presencia de níquel Raney (Ni.Ra) a T. A. y cinco atmósferas. al finalizar la reducción se eliminó el catalizador extrayendo con éter la base 1-(p-metoxibencil)-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroisouquinolina (XXII).

Finalmente XXII disuelta en metanol se agitó junto con formaldehído al 40% por 2 horas a 70-80°C obteniendo el intermediario 1-(p-metoxibencil)-2-metil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1-isouquinolinmetanol, la hidrogenación catalítica in situ de este alcohol en presencia de Ni.Ra seguida de codestilación del agua formada y el metanol con benceno hace posible obtener el intermediario II.

En 1953 el químico alemán Henecka publicó un trabajo en el que se describe la síntesis de II^{BP} por un método diferente, el cual se patentó en Alemania con algunas modificaciones casi simultáneamente^{PO}, en seguida se indica el método utilizado (Esquema 3.4)

En este método la amina XVIII disuelta en ácido clorhídrico 1N se adicionó sobre una solución acuosa 0.2 molar de p-metoxifenilacetaldehído (XXIII) agitando 48 horas a 80-90°C manteniendo el pH en 3-4 por adición de ácido clorhídrico, pasado este tiempo se extraen las impurezas con éter, la fase acuosa se neutralizó con carbonato de potasio, para luego extraer con éter la base acabada de liberar obteniendo por recristalización de acetato de etilo la base 1-(p-metoxibencil)-10-hidroxi-decahidroisouquinolina (XXIV).

Esquema 3.4)



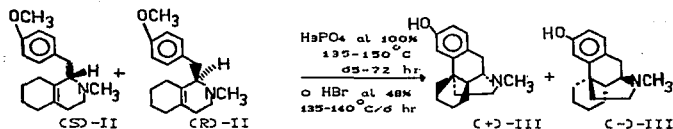
Luego XXIV disuelta en ácido fórmico⁸⁹ o en metanol⁹⁰ se le fue adicionando formaldehído al 30%; en medio ácido se obtiene directamente II, mientras que en metanol se requiere realizar la hidrogenación con Ni,Ra (in situ) a 3-4 atmósferas teniendo que eliminar después el catalizador por filtración y el disolvente por destilación.

3.2 SINTESIS DE (d,l)-3-HIDROXI-N-METILMORFINANO (III).

La preparación de III se ha realizado por ciclización ácida de II, para este proposito han utilizado ácido fosfórico al 100%;^{81,85,86,87,88,91} ácido bromhídrico al 48%.^{82,83,89,90}

En el primer caso, el procedimiento seguido es el siguiente: el intermediario II es refluado en ácido fosfórico 65-72 horas a 135-150°C en una atmósfera inerte, al finalizar la reacción se enfría la muestra adicionandole agua helada alcalinizada con hidróxido de amonio para obtener la base libre, la cuál es extraída con benceno o con una mezcla benceno/éter, una vez eliminado el disolvente por destilación se da por finalizada la purificación recrystalizando el etanol o por cromatografía radial sobre sílica gel⁹⁰ eluyendo con hexano-trietilamina-acetato de etilo (60:15:25) el intermediario III.

Ecuación 3.1)



La ciclización con ácido bromhídrico se realiza refluando el compuesto II en HBr al 48% durante seis horas a 135-140°C, al final de la reacción se elimina el exceso de ácido bromhídrico por destilación al vacío a 60°C, el residuo se disuelve en una mezcla metanol/agua, la base se libera con hidróxido de amonio diluido.

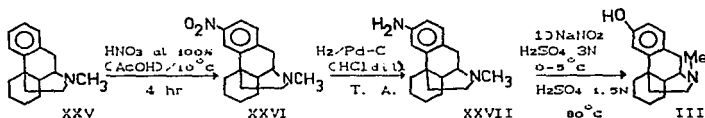
posteriormentese realiza una extracción con éter o con una mezcla benceno/butanol seguida de lavado con salmuera, y al recrystalizar de metanol se obtiene la base III.

Debido a la existencia de un carbón asimétrico (C-1) en II (Ec. 3.1), este compuesto existe como una mezcla racémica 1:1 por lo que al producirse la ciclización se obtienen los isómeros levo y dextro (d,l) en cantidades iguales. Dadas las condiciones de reacción se produce la ruptura del éter metílico.

3.2.1 SINTESIS DE III A PARTIR DE N-METILMORFINANO (XXV).

Aprovechando que ya se tenía conocimiento de la síntesis total de XXV^{81,102,103}, Schnider y Grüssner propusieron un método para la preparación de III a partir de XXV⁸⁴, y éste fue patentado al poco tiempo en E.U.A.⁹² el esquema de síntesis se indica en seguida (Esquema 3.5)

Esquema 3.5)



A XXV disuelta en ácido acético glacial se le adicionó gota a gota una mezcla de ácido nítrico al 100% -ácido acético (2:1) agitando cuatro horas a 10°C. terminada la nitración destilaron al vacío la mezcla líquida, el sólido obtenido se disolvió en agua para neutralizarse en seguida con hidróxido de amonio la base libre obtenida es separada del líquido por extracción con benceno, obteniendo al destilar el disolvente el 3-nitro-N-metilmorfinano (XXVI).

El derivado nitrado XXVI se disolvió en ácido clorhídrico diluido y en seguida fue hidrogenado a T.A. usando Pd/C como catalizador y una presión aproximada de tres atmósferas, terminada la reducción se eliminó el catalizador por filtración neutralizando a continuación con sosa diluida y por extracción con

benceno se obtiene el 3-amino-N-metilmorfinano (XXVII).

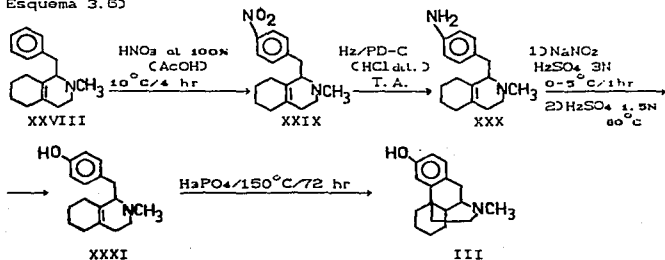
Luego el compuesto XXVII disuelto en ácido sulfúrico 3N se le adiciona nitrito de sodio (al 14% en agua) agitando una hora a 0-5°C, la sal de diazonio formada se agregó lentamente sobre ácido sulfúrico diluido agitando a 80°C, terminada la hidrólisis se neutralizó la solución con hidróxido de amonio (al 20% en agua), la base libre se extrajo con benceno y después de destilar el disolvente se obtiene por recristalización de etanol el intermediario III.

3.2.2. SINTESIS DE III A PARTIR DE 1-BENCIL-2-METIL-1,2,3,4,5,6,7,8-OCTAHIDROISOQUINOLINA (XXVIII).

Schnider y Grüssner⁸⁴ propusieron una alternativa para preparar III por reacciones sobre XXVIII la cuál en esa época ya se sabía sintetizar⁸¹, los pasos seguidos son indicados a continuación (Esquema 3.6).

Esta síntesis empieza con la adición sobre una solución en ácido acético de XXVIII de una mezcla nitrante (2:1) de ácido nítrico-ácido acético agitando cuatro horas a 10°C, terminada esta reacción el disolvente fue destilado al vacío, el extracto se disolvió en agua y se neutralizó con hidróxido de amonio, luego se aisló la base por extracción con benceno y al lavar con agua y secar se obtiene el derivado nitrado XXIX.

Esquema 3.6)



Posteriormente el grupo nitro de XXIX se hidrogenó sobre Pd/C en medio ácido (HCl dil.) a tres atmósferas y T.A., terminado el proceso de reducción se filtro la solución cristalizando XXX como bromhidrato.

Luego el bromhidrato de XXX se disolvió en ácido sulfúrico 3N y se le adicionó nitrito de sodio (al 11% en agua) agitando una hora a 0-5°C, la sal de diazonio acabada de formar se adicionó lentamente sobre ácido sulfúrico diluido agitando a 80°C, finalizada la hidrólisis, la solución fue neutralizada con hidróxido de amonio (al 20% en agua), la base se extrajo con benceno y éste se eliminó por desilación al vacío, el residuo se disolvió en ácido bromhídrico en etanol (al 9%), el bromhidrato se extrajo con éter, terminada la extracción se destiló el disolvente y al recrystalizar de etanol-acetona (1:4) se obtiene el bromhidrato de XXXI.

Finalmente el bromhidrato de XXXI fue refluado en ácido fosfórico al 100% por 72 horas a 145°C, terminada la reacción la mezcla se vertió sobre agua helada para luego ser neutralizada con hidróxido de amonio, la base se obtuvo por extracción con benceno y luego de recrystalizar de cloroformo/acetona se obtiene III.

3.2.3 SINTESIS DE III A PARTIR DE: A) 16-OXO-MORFINANO (XXXII) Y DE B) 6-BENZOIL-OXI-1,2-NAFTOQUINONA (XXXVI).

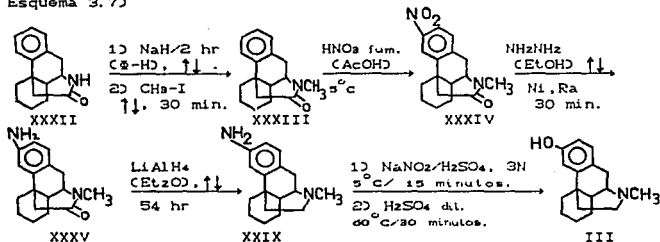
En 1958 Gates y Webb^{9a} publicaron dos procedimientos para la preparación de III, este trabajo fue motivado por el marcado éxito que había alcanzado en esa época el (1)-3-hidroxi-N-metilmorfinano como analgésico, siendo interesante que su enantiómero el Dextrorfán resulto inactivo, pero, sí útil como antitusivo. En la primera ruta los autores tomaron como materia prima a XXXII y por una serie de transformaciones obtuvieron III según se indica a continuación (Esquema 3.7).

Primero XXXII se refluó en benceno con hidruro de sodio dos horas para ser en seguida metilado con ioduro de metilo durante 30 minutos, obteniendo por recrystalización de metanol/ciclohexano el 16-oxo-N-metilmorfinano (XXXIII).

Después XXXIII disuelto en ácido acético se adicionó gota a

gota sobre la mezcla nitrante, ácido nítrico-ácido acético (3:2) manteniendo durante la reacción una temperatura de 5°C. terminada la nitración la mezcla de reacción se diluyo en un gran volumen de agua y se neutralizó con carbonato de sodio, luego de extraer con cloroformo se obtuvo por cristalización de acetato de etilo el derivado nitrado XXXIV.

Esquema 3.7)



Luego XXXIV se disolvió en etanol caliente junto con hidracina adicionando en seguida Ni, Ra la mezcla se calentó en agua por 30 minutos, después de eliminar el catalizador, el producto cristalizó espontáneamente y resultó ser el 3-amino-16-oxo-N-metilmorfinano (XXXV).

El compuesto XXXV fue reducido a nivel de su carbonilo con hidruro doble de litio aluminio (LiAlH₄) refluendo en éter por 54 horas, al final de la reacción se elimina el exceso de reductor con acetato de etilo, el extracto se cristaliza de cloroformo recristalizando de ciclohexano el 3-amino-N-metilmorfinano (XXIX).

Por último XXIX disuelto en ácido sulfúrico 3N enfriado a 5°C se le adicionó cuidadosamente nitrito de sodio en polvo durante 15 minutos, luego la sal de diazonio formada se adicionó sobre ácido sulfúrico diluido agitando 30 minutos a 60°C, luego la mezcla se filtro y alcalinizó con hidróxido de amonio, el producto se separó de la mezcla de reacción por cromatografía, seguida de cristalización y este resultó ser el compuesto III.

La ruta b) que presenta varias reacciones novedosas se indica

en seguida (Esquema 3.8).

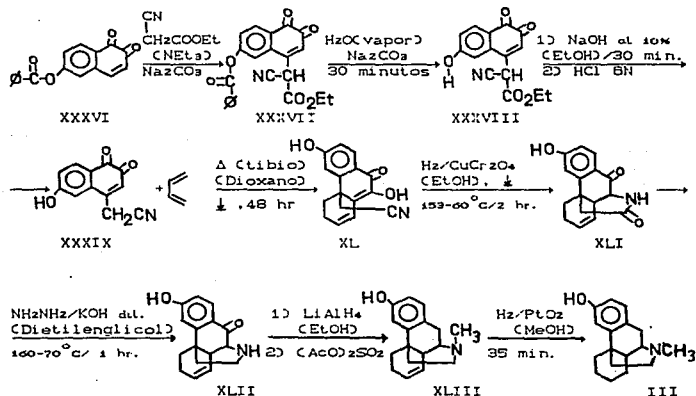
El compuesto XXXVI disuelto en alcohol se hace reaccionar con cianoacetato de etilo en trietilamina, finalizada la reacción se obtiene por recristalización de acetato de etilo el 6-benzol-oxi-1,2-naftoquinonil-4-cianoacetato de etilo (XXXVII).

El compuesto obtenido de la reacción (XXXVII) disuelto en carbonato de sodio (al 10% en agua) se le pasa vapor de agua durante 30 minutos recristalizando de etanol, al terminar la reacción el 6-hidroxi-oxi-1,2-naftoquinonil-4-cianoacetato de etilo (XXXVIII).

Luego XXXVIII disuelto en etanol se agitó 30 minutos con sosa diluida (al 10% en agua), terminada la hidrólisis se procedió a la acidificación con ácido clorhídrico 6N y se cristaliza de metanol-ácido acético la 6-hidroxi-4-cianometil-1,2-naftoquinona (XXXIX).

Posteriormente XXXIX disuelta en dioxano se calentó con butadieno dentro de un autoclave por 48 horas, el producto de reacción es cristalizado de acetona y éste resultó ser el compuesto tricíclico XL.

Esquema 3.8)



Después una solución etanólica de XL es hidrogenada en presencia de cromita de cobre (CuCr₂O₄) por dos horas a 13.5 atmósferas y 153-160°C, luego de filtrar y cristalizar por concentración de la mezcla líquida se obtiene el 3-hidroxi- Δ^6 -dehidro-10,16-dioxo-morfinano (XLI).

En la siguiente reacción el intermediario XLI fue reducido según el método de Wolff-Kishner por una hora a 160-170°C, el producto ya frío y diluido con agua cristaliza de etanol como el 3-hidroxi- Δ^6 -dehidro-10-oxo-morfinano (XLII).

En seguida XLII se reduce a nivel del carbonilo restante (10-oxo) con LiAlH₄, metilando in situ con sulfato de acetilo o con formaldehído/ácido fórmico con lo que se puede aislar del medio de reacción por cristalización de etanol el 3-hidroxi- Δ^6 -dehidro-N-metilmorfinano (XLIII).

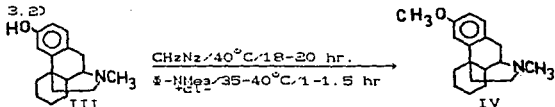
Finalmente XLIII fue transformado en el intermediario III por hidrogenación en presencia del catalizador de Adams (PtO₂) y cristalización de benceno.

3.3 SINTESIS DE (d.l)-3-METOXI-N-METILMORFINANO (IV).

La mezcla racémica IV se ha obtenido por metilación de III por dos métodos generales que involucran la reacción del grupo 3-hidroxi con un agente metilante como el diazometano^{81,82,83,87,91} o con cloruro de trimetilfenilamoni^{5,88,90,94,96,97}.

En el primer método, III disuelto en metanol, metanol/acetona o metanol/éter se agita junto con diazometano 18-20 horas a 40°C, terminada la reacción se elimina el disolvente por destilación, obteniendo por cristalización de ácido bromhídrico diluido el bromhidrato de IV. La base libre se puede obtener por tratamiento del bromhidrato con carbonato de sodio diluido seguido de extracción con éter y destilación del disolvente.

Ecuación 3.2)



En el segundo método, III disuelto en tolueno o etanol es adicionado sobre un solución de cloruro de trimetilfenilamonio en metanol, la mezcla de reacción se agita 1-1.5 horas a 35-40°C luego los disolventes son destilados y el extracto es lavado con una solución helada de sosa acuosa, de esta solución se obtiene, por adición de ácido bromhídrico diluido el bromhidrato de IV. La base libre puede ser obtenida por el procedimiento indicado en el primer método.

Los procedimientos para la resolución de III aparecidos en la literatura se basan en la preparación de diastereoisómeros que pueden ser separados por su diferente solubilidad en agua o alcohol. El agente ópticamente activo utilizado para esta separación ha sido el ácido d-tartárico^{5,6,97}, aunque se ha encontrado que el ácido dibenzoil-L-(+)-tartárico da mejores resultados⁹⁸.

Una vez separados los diastereoisómeros la base libre deseada se puede obtener por tratamiento con una base débil, como el carbonato de sodio o hidróxido de amonio.

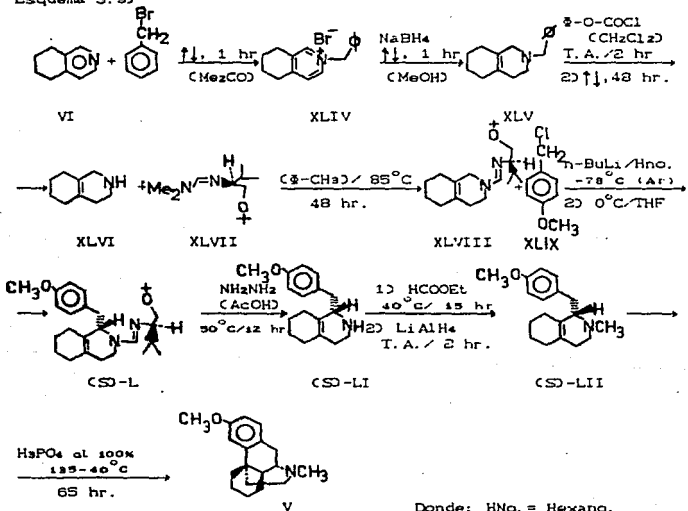
Para lograr esta resolución la mezcla racémica III disuelta en agua o etanol se le adicionó ácido d-tartárico agitando por 30 minutos, dejando en reposo 24 horas a T.A. se logra la precipitación del diastereoisomero (l)-III-tartrato el cual se separa por filtración, al destilar parte del disolvente precipita de las aguas madres el diastereoisomero (d)-III-tartrato, este tartrato se diluye en un gran volumen de agua alcalinizada con sosa, hidróxido de amonio o carbonato de sodio diluidos para obtener al extraer con benceno/butanol y destilación de éstos el (d)-3-hidroxi-N-metilmorfinano (V).

La resolución con el ácido dibenzoil-L-(+)-tartárico tiene la ventaja de que el diastereoisomero (d)-V cristaliza espontáneamente con un reposo de sólo tres horas.

3.4 OBTENCION DE (d)-3-HIDROXI-N-METILMORFINANO.

Durante más de 35 años en que se ha venido sintetizando el compuesto III por ciclización ácida de II (fig.3.2), se obtiene invariablemente la mezcla racémica (1:1) de los isómeros dextro y levo; en caso de querer uno solo de estos isómeros se debe realizar la resolución con un ácido ópticamente activo, pero el enantiómero obtenido siempre va acompañado por algo de su enantiómero opuesto y al tratar de aumentar la pureza óptica por recrystalizaciones sucesivas, disminuye notablemente el rendimiento. Por esto, Meyers y Bailey⁹⁸ propusieron una síntesis asimétrica para obtener V con una pureza óptica elevada; el esquema sintético se indica a continuación (Esquema 3.9).

Esquema 3.9)



Esta síntesis total inicia con la alquilación de VI previamente disuelto en acetona por reflujo durante una hora con bromuro de bencilo, terminada la reacción se recristalizó de metanol/éter el bromuro de N-bencil-5,6,7,8-tetrahidroisoquinolina (XLIV).

Luego XLIV se reflujo en metanol con borohidruro de sodio, logrando aislar la N-bencil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroisoquinolina (XLV) después de purificar por extracción con éter.

A continuación se realiza la debencilación de XLV por agitación en diclorometano durante dos horas a T.A. con cloroformiato de fenilo, terminada la reacción se destiló el disolvente para reflujo a continuación 48 horas en tetrahidrofurano (THF) con hidróxido de potasio, pasado este tiempo se eliminó el disolvente por destilación al vacío y el extracto disuelto en éter se lavó con bicarbonato de sodio, eliminando el disolvente por destilación a presión reducida se obtiene la octahidroisoquinolina (XLVI).

El compuesto XLVI tratado con (S)-N,N-dimetil-O-terbutilvalinol formamidina (XLVII) y agitando en tolueno 48 horas a 85°C se transforma después de purificar por cromatografía en sílica gel y eluyendo con hexano-trietilamina (95:5) en la valinolformamidina de la octahidroisoquinolina (XLVIII).

Para continuar, XLVIII se disolvió en THF con un exceso de cloruro de p-metoxibencilo (XLIX) a -78°C y un poco de n-BuLi disuelto en hexano, después de una hora de agitación se calentó la mezcla de reacción a 0°C, el producto se purificó por cromatografía de capa fina obteniendo el isómero (S)-L sin rastros de su isómero (R).

El compuesto obtenido en la reacción anterior (L) en una solución acética de hidracina se agitó 12 horas a 50°C, pasado este tiempo se realiza una extracción con éter, la fase orgánica se lavó con hidróxido de potasio (al 20% en agua), eliminando el agua con carbonato de sodio anhidro, el disolvente fue eliminado por destilación a presión reducida recuperando como único producto la (S)-1-(p-metoxibencil)-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroisoquinolina (LI).

El isómero LI fue calentado a 40°C y agitado 15 horas con formiato de etilo, al terminar esta transformación se concentró la mezcla de reacción y el extracto se disolvió en éter, agitando dos horas con LiAlH₄ a T.A., luego se alcalinizó esta mezcla con hidróxido de potasio al 20% con lo que se obtiene la base libre al filtrar y destilar al vacío y esta base resulta ser la (S)-1-(p-metoxibencil)-2-metil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroisoquinolina (LII).

Por último LII disuelto en ácido fosfórico al 100% se agitó 65 horas a 135-140°C, terminada la reacción el producto se adiciono sobre agua helada y una vez neutralizada con hidróxido de amonio diluido se extrajo la fase orgánica con éter, en seguida se destiló el éter al vacío, terminando la purificación con una cromatografía radial en sílica gel eluyendo con hexano-trietilamina-acetato de etilo (60:15:25) para dar con buena pureza óptica (98%) el enantiomero V.

3.5 OBTENCION DE (d)-3-METOXI-N-METILMORFINANO (DXTROMETORFAN).

Siguiendo un esquema análogo al utilizado para la resolución de III se ha obtenido I a partir del bromhidrato de la mezcla racémica IV^{3,24,26}.

En esta resolución IV disuelto en etanol caliente se le adicionó ácido d-tartárico en polvo formándose de este modo los tartratos isoméricos dextro y levo (diastereoisómeros), debido a que el diastereoisómero (d)-IV-tartrato es poco soluble en etanol frío cristaliza espontáneamente, los cristales formados son filtrados y lavados con alcohol frío.

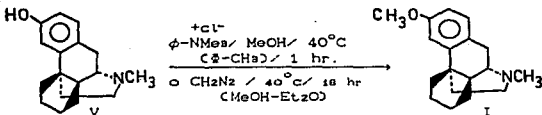
Luego (d)-IV-tartrato es adicionado sobre una solución diluida de carbonato de sodio obteniendo después de purificar por extracción con éter y destilación el Dextrometorfán (DM o I).

Cuando I es agitado en ácido bromhídrico diluido cristaliza el bromhidrato de DM conocido comercialmente como Romilar.

3.5.1 OBTENCIÓN DE DM A PARTIR DE (d)-3-HIDROXI-N-METILMORFINANO (V).

El DM ha sido preparado por metilación de V con un agente metilante tal como el cloruro de trimetilfenilamonio^{8,96,97,100} o con diazometano⁹⁵ obteniendo el DM o el Romilar (Ecuación 3.3).

Ecuación 3.3)



En el primer caso una solución de V en tolueno se le adicionó cloruro de trimetilfenilamonio disuelto en metanol, agitando 1-1.5 horas a 40°C.

En el segundo caso V fue metilado con diazometano usando como disolvente metanol/éter y agitando 18 horas a 40°C.

Al terminar la metilación se cristalizó el DM como bromhidrato^{96,97}. Para obtener la base libre el producto metilado se purifica por cromatografía de capa fina de sílica gel eluyendo con cloroformo-etanol-hidróxido de amonio^{95,100} o por cromatografía en columna empacada con sílica gel y eluyendo con benceno⁹⁵.

3.5.2 SÍNTESIS DE DM A PARTIR DE SINOMENINA (LIII).

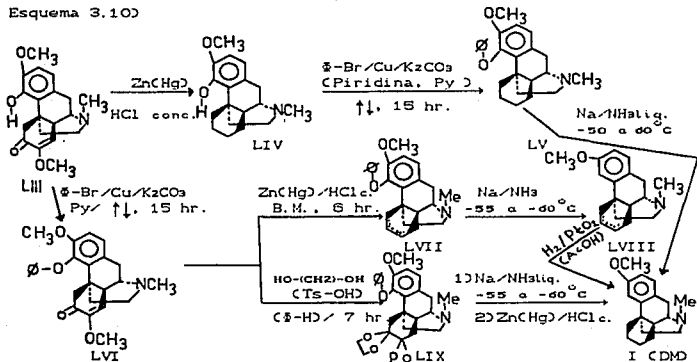
En 1961 Sawa et. al.⁹⁸ encontraron que es posible obtener DM a partir de la Sinomenina, un alcaloide extraído de la raíz de la planta japonesa Sinomenium Acutum, este alcaloide al igual que el DM es dextrorrotatorio. Para lograr esta transformación LIII fue sometida a varias transformaciones que involucran la eliminación de un hidroxilo (en C-4), la reducción de un carbonilo y un enolmetiléter (en C-6 y 7). Estas transformaciones son mostradas

en seguida (Esquema 3.10).

Esta síntesis parte de LIII, la cuál es reducida según Clemmensen, transformando el carbonilo y el enolmetiléter (C-6 y7) a los metilenos correspondientes, con lo que se obtiene el (d)-4-hidroxi-3-metoxi-N-metilmorfinano (LIV).

Luego LIV disuelto en piridina (Py) es sometido a la reacción de Ullman por reflujo durante 15 horas en presencia de Cu en polvo y un poco de carbonato de potasio, al final de la reacción se obtiene el (+)-4-fenoxi-3-metoxi-N-metilmorfinano (LV).

Esquema 3.10



A continuación el feniléter LV disuelto en tolueno se adicionó gota a gota sobre sodio en amoniaco líquido a -60°C , obteniéndose como producto de reducción el DM.

Las transformaciones de LIII a I también las realizaron sometiéndolo a éste compuesto primeramente a la reacción de Ullman bajo las condiciones ya citadas, de esta forma se obtiene después de purificar por cromatografía sobre alúmina y eluyendo con benceno la Sinomenina-4-feniléter (LVI).

Llegados a este punto los autores encontraron que LVI puede ser transformado en I por dos vías diferentes.

En la primera vía LVI disuelto en ácido clorhídrico concentrado se agitó en presencia de amalgama de zinc, agitando

por 6 horas en un baño maria, el producto formado se cromatografió sobre alúmina eluyendo con éter y el producto resultó ser el (+)-4-fenoxi-3-metoxi-N-metil- Δ^x -morfinano (LVII).

Luego LVII disuelto en éter se desfenoxiló al ser adicionado sobre sodio en amoniaco líquido a -60°C . terminada la reacción se destiló el amoniaco y el producto lavado con agua fue extraído con éter, cristalizando de éste el (d)-3-metoxi-N-metil- Δ^x -morfinano (LVIII).

Finalmente la hidrogenación de LVIII en medio ácido (AcOH) sobre el catalizador de Adams a T.A. produce después de extraer con éter el DM.

En la segunda vía el éter fenílico de la sinomenina (LVI) se hizo reaccionar en medio ácido (TsOH) con etilenglicol, refluendo en benceno 7 horas, finalizada la reacción se obtiene por cristalización de acetato de etilo el dicetal LIX.

Posteriormente LIX se adicionó sobre sodio en amoniaco líquido bajo las condiciones usadas en la primera vía, obteniendo de este modo el producto desfenoxilado, luego éste se agitó en ácido clorhídrico concentrado en presencia de amalgama de zinc, al finalizar la reacción después de 5 horas, la base cruda fue cromatografiada sobre alúmina eluyendo con benceno. El tratamieto posterior con ácido d-tartárico dió por resultado al recrystalizar de etanol el tartrato de DM.

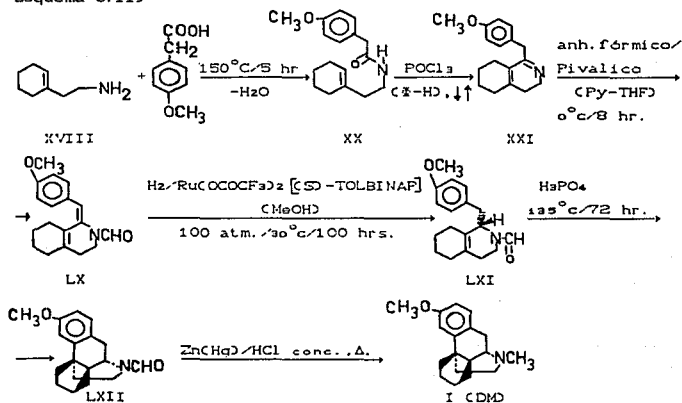
3.5.3 SINTESIS ASIMETRICA DE DEXTROMETORFAN.

Recientemente Kitamura et.al.¹⁰⁰ prepararon 1 libre de su enantiómero (Levomorfán) usando un catalizador enantioselectivo llamado BINAP-Rutenio^{II}, el cual es un complejo organometálico asimétrico de fórmula $\text{Ru}(\text{COCOPh})_2$ (S)-TOLBINAP. La etapa clave en esta síntesis es la hidrogenación enantioselectiva de la enamida LX en la que se obtiene uno sólo, de dos posibles isómeros, (S)-LXI. En una catálisis enantioselectiva con compuestos de metales de transición la actividad óptica de los productos sintetizados deriva de los ligantes usados, los cuales transmiten su información quiral a los sitios de coordinación del metal donde los compuestos proquirales son convertidos a productos²². El

procedimiento de síntesis se describe a continuación (Esquema 3.11).

Esta síntesis asimétrica comienza con el calentamiento de XVIII a 150°C en presencia del ácido p-metoxifenilacético por 5 horas con eliminación constante de agua, terminada la reacción el producto es purificado por recrystalización de acetato de etilo-hexano (1:4) obteniendo la N-2-(1-ciclohexenil)-etil-4-metoxifenilacetamida (XX).

Esquema 3.11)



A continuación la acetamida XX es sometida a una ciclodeshidratación refluendo en benceno con oxiclورو de fósforo (POCl_3), obteniendo la 1-(p-metoxibencil)-3,4,5,6,7,8-hexahidroisoquinolina (XXI).

La isoquinolina XXI se pone en contacto con tres equivalentes de anhídrido fórmico/anhídrido piválico en Py/THF y se dejan reaccionar agitando 8 horas a 0°C, finalizada la reacción y después de purificar se obtiene la (Z)-enamida (LX) y su (E)-isómero en una relación 6:1.

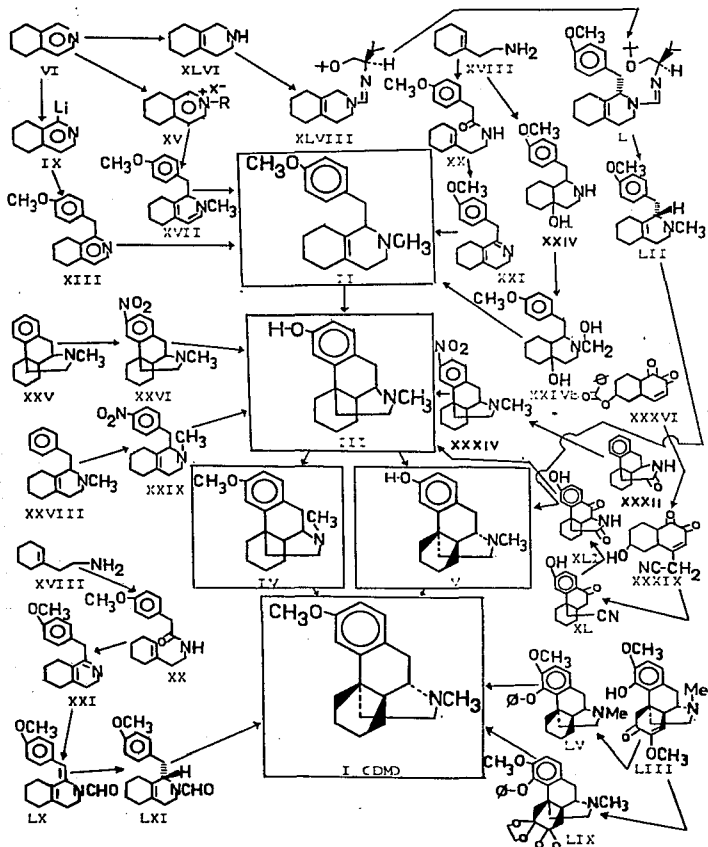
Prosiguiendo con esta síntesis la (Z)-enamida LX se adicionó

sobre una solución metanólica del catalizador BINAP-Rutenio^{II} (al 5% molar), hidrogenando a 30°C y 100 atmósferas durante 100 horas, obteniendo después de eliminar el catalizador la (S)-1-(p-metoxibencil)-2-formil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidroisoquinolina (LXI), en forma cuantitativa.

Luego la base LXI es ciclizada por el método de Grewe⁴, para lo cual esta base fue reflujaada en ácido fosfórico a 135°C durante 72 horas, el compuesto tetracíclico resultó ser el (+)-3-metoxi-N-formilmorfinano (LXII).

Se considera finalizada esta síntesis total cuando LXII es reducido según el método de Clemmensen obteniéndose el DM con un exceso enantiomérico (e.e.) del 98%. Para esta reducción el aldehído LXII disuelto en ácido clorhídrico concentrado es agitado junto con amalgama de zinc en un baño maría, completándose el proceso reductivo al eliminar el catalizador y purificar por cromatografía en sílica gel, eluyendo con benceno.

En el esquema 3.12. se muestran las diversas vías sintéticas e intermediarios importantes en la preparación del Dextrometorfán (DM o I).



ESQUEMA 3.12. VIAS SINTETICAS DEL DEXTROMETORFAN (I).

4.0 METODOS DE ANALISIS.

Debido a la importancia comercial del DM, la exigencia de una alta pureza además de la necesidad de identificarlo y cuantificarlo tanto en formulaciones que lo contengan así como en fluidos biológicos, ha motivado la aparición de una gran variedad de métodos de análisis que van desde la identificación con reactivos específicos hasta la detección por métodos físicos tales como espectroscopía en el ultravioleta (UV) y en el infrarrojo (IR), pasando por la cuantificación por titulación y por cromatografía en varias de sus modalidades.

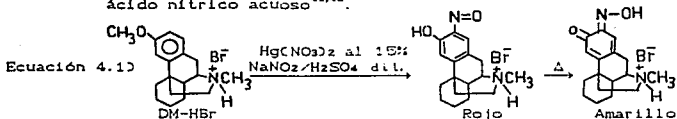
4.1 IDENTIFICACION CUALITATIVA.

En la identificación del DM, la Cámara Nacional de la Industria de Laboratorios Químico-Farmacéuticos⁴³ ha propuesto 5 ensayos simples para la detección del DM en su forma de bromhidrato (Romilar, Roche) que es la forma en que se comercializa este producto, los ensayos son:

- 1) Una pequeña muestra del fármaco (50 mg) disuelta en ácido sulfúrico diluido se le adiciona nitrato mercúrico al 15% y nitrito de sodio, y se mezclaron, la solución se filtró produciéndose un color rojo que al calentar pasa a amarillo (Ecuación 4.1).
- 2) Una solución al 0.5 % de DM-HBr acidificada con ácido clorhídrico diluido se le adiciona ferrocianuro de potasio y cloruro férrico al 5%. La prueba se considera positiva sin no aparece color verde o azul-verdoso en el transcurso de 15 minutos.
- 3) Veinte ml de una solución al 0.05% de DM-HBr se adicionan sobre 65 ml de agua conteniendo 10 ml de sosa 1N aforando a 100 ml con agua. En estas condiciones la absorción de la solución está entre 230 y 350 μm y

exhibe un máximo a $279 \mu\text{m}$ la $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ a $279 \mu\text{m}^{1,2}$.

- 4) Una solución de DM-HBr cuando es tratada con cloro, libera bromo el cuál, disuelto en disulfuro de carbono produce una solución rojiza.
- 5) Por último el DM-HBr disuelto en agua cuando es tratado con nitrato de plata acuosa da un precipitado amarillo poco soluble en amoníaco diluido e insoluble en ácido nítrico acuoso^{41,43}.



Si el DM-HBr se encuentra bajo la formada jarabe el procedimiento para identificarlo se basa en la extracción del fármaco de una solución de sosa 2.5 N con hexano, al terminar las extracciones se trata la solución con sulfato de sodio anhidro, destilando a continuación el disolvente a 50°C en una atmósfera inerte (v.gr. N_2), el residuo se disuelve en cloroformo, en estas condiciones la solución es dextrógira². Una vez destilado el cloroformo el extracto puede ser sometido a los ensayos indicados en los incisos 1) al 5).

4.2 DETERMINACION DE DM-HBR POR TITULACION.

El DM es una base insoluble en agua pero como bromhidrato es soluble, siéndo un ácido débil y en principio puede ser cuantificado por titulación ácido-base en agua, pero el punto final es difícil de observar debido a la precipitación de la base libre, este problema ha sido resuelto por tres procedimientos:

- Titulando con ácido perclórico en un disolvente no acuoso como el ácido acético.
- Titulando por precipitación según el método de Fajans.
- Titulando en presencia de un disolvente orgánico como tetracloruro de carbono, cloroformo, etc.

En los métodos a) y c) el punto final se determina fotométricamente, aunque en a) el punto final se puede detectar con un indicador como cristal violeta, en el método b) el final de la titulación se detecta con un indicador de absorción como la fluoresceína.

En el procedimiento a)^{41,104} se disuelven 700 mg de DM-HBr en una mezcla de 50 ml de ácido acético y 10 ml de solución saturada de acetato mercúrico calentando ligeramente para lograr una mejor disolución luego se adiciona una gota del indicador cristal violeta, titulando con ácido perclórico 0.1N hasta aparición de un color azul-verdoso. Bajo estas condiciones cada mililitro de ácido perclórico 0.1N es equivalente a 35.23 mg de DM-HBr.

En el método de Fajans b)¹⁰⁴ se disuelven 500 mg de DM-HBr en 20 ml de agua destilada, se agregan 0.1 g de dextrina, adicionando 5-10 gotas de fluoresceína y se titula con nitrato de plata 0.1N.

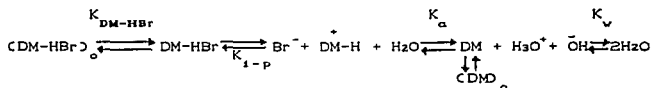
El procedimiento c) reportado por Canwell y Hussain¹⁰⁵ usa como fase orgánica una mezcla 1:1 de cloroformo/tetracloruro de carbono, la valoración se realiza agitando fuertemente el DM-HBr en un vaso de titulación y bombeando continuamente la mezcla orgánico/agua hacia la celda del espectrofotómetro, una vez hecha la lectura la solución se regresa al vaso de titulación iniciándose un nuevo ciclo después de adicionar más titulante, luego se hace una gráfica de absorbancia contra moles añadidos de titulante (Figura 4.1).

Al comparar este método con el utilizado en las titulaciones en medio no acuoso y con el de Fajans se encuentran resultados muy similares a concentraciones del orden de 8×10^{-4} molar.

En este procedimiento¹⁰⁵ la principal alteración en la curva de valoración es producida por una distribución desigual de el ácido y su base conjugada entre las dos fases. La ventaja de esta

titulación fotométrica heterogénea es el hecho de que las especies conjugadas no necesitan tener diferentes absorptividades molares debido a que la concentración formal está cambiando continuamente.

Para la titulación en dos fases se propone el modelo¹⁰⁵:



Las constantes de equilibrio son:

$$K_a = \frac{[DM]_a \cdot [H^+]_a}{[DM-H]_a} ; K_w = a_H \cdot a_{OH} ; K_{DM} = \frac{[DM]_o}{[DM]_a} ; K_I = \frac{[DM-H]_o}{[DM-H]_a} ;$$

$$K_{DM-HBr} \cdot T = \frac{[DM-HBr]_o}{[DM-HBr]_a}$$

Las especies con subíndice "o" están en la fase orgánica y las que no lo tienen en la fase acuosa.

Considerando muy pequeña la concentración de DM-HBr en la fase acuosa, de las constantes de equilibrio y de la Ley de Beer se puede derivar la ecuación 4.2, la cual es independiente del titulante añadido.

$$\text{Ecuación 4.2) } A_{obs.} = \frac{n_{DM-H} \cdot \epsilon'_{DM}}{V + \frac{K_{DM}}{K_I} \cdot V_o}$$

Donde: n_{DM-H} = moles de muestra añadidos al vaso de titulación.

ϵ'_{DM} = absorptividad molar a la longitud de onda usada.

V = volumen de la fase acuosa.

V_o = volumen de la fase orgánica.

K_{DM} = constante de distribución entre las fases.

$A_{obs.}$ = absorptividad observada.

La verificación de la ecuación 4.2 fue realizada titulando el DM-HBr con NaOH 0.09526 M y usando el mismo volumen para las dos fases, la fase orgánica es una mezcla 1:1 de cloroformo/tetracloruro de carbono. La pendiente de la gráfica de A vs n_{tit} es numéricamente igual al coeficiente de distribución entre las fases.

Al comparar el porcentaje de DM-HBr identificado de muestras de concentración conocida encontraron resultados esencialmente iguales (Tabla 4.1).

Compuesto	Métodos de Análisis		
	No acuoso	Fajans	Fotométrico
DM-HBr	95.3 ± 0.7	95.4 ± 0.7	95.4 ± 0.1

Tabla 4.1. % DM-HBr Identificado. Estos Valores de Titulación son el promedio de dos lecturas. El Rango de Concentración fue de 10^{-4} M molar. Se hizo la suposición de que todas las lecturas se hicieron en agua.

El método fotométrico tiene la ventaja de contener tanto información cuali como cuantitativa sobre la muestra¹⁰⁵.

4.3 DETERMINACION DE DM POR CROMATOGRAFIA.

La cromatografía es un procedimiento flexible y poderoso para la separación y cuantificación de los componentes de mezclas complejas, generalmente en cantidades pequeñas, método que ha evolucionado desde la separación de pigmentos vegetales en 1903 en una columna de carbonato de calcio hasta llegar a la cromatografía de líquidos de alta resolución en 1963, la de papel en la década de los 40's y la de gases en 1950.

El DM ha sido cuantificado usando los diferentes tipos de cromatografía con resultados rápidos y precisos en especial cuando ésta se une a técnicas espectrofotométricos.

4.3.1 DETERMINACION POR CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (CCF).

Este método se utiliza para la detección de DM y otros compuestos relacionadas estructuralmente como Codeína, Heroína, Morfina, Naloxona y diversas mezclas de productos farmacéuticos, en orina y otros fluidos¹⁰⁶.

Harrison y Cook¹⁰⁷ desarrollaron un procedimiento para la separación e identificación de varios fármacos por CCF en cantidades del orden del microgramo con diversas mezclas de disolventes, en este trabajo lograron la separación e identificación de DM, Heroína, Codeína y Ciclizina-HCl, el sistema de disolventes que da los mejores resultados es:
Cloroformo-Acetona-Amoniaco (5:94:1).

En un artículo publicado por Kaistha y Janda¹⁰⁸ se describe un método de identificación por CCF de un grán número de drogas usando diversas mezclas de disolventes y varios tipos de reactivos de detección, entre estas sustancias se encuentra el DM (Tabla 4.2). las sustancias fueron primeramente separadas de la muestra biológica por absorción sobre una pieza de papel impregnada con una resina de intercambio iónico de 6 x 6 cm y luego son eluidas con un buffer de NH₄Cl/NH₄OH a un pH de 10.1 en seguida las sustancias se extraen con metanol y se aplican sobre una placa fina de sílica gel de 20 x 20 cm colocando de 10 a 12 muestras con separaciones de 1.2 cm. Los sistemas de disolventes usados fueron:

- A: AcOEt-Ciclohexano-Amoniaco-Metanol-Agua (70:15:2:8:0.5).
- B: " - " -Metanol -Amoniaco (56:40:0.8:0.4).
- C: " - " - " - " (70:15:10:5).
- D: " - " - Amoniaco (50:40:0.1).

Los reactivos utilizados para revelar las cromatoplasas se indican en seguida:

- a: Ninhidrina, 0.5% (w/v).
- b: Difencilcarbazona, 0.01% en acetona-agua (1:1).
- c: Acetato de plata, al 1% en agua.
- d: Sulfato de mercurio (II), solución saturada.
- e: Acido sulfúrico, 0.5% en agua.
- f: Iodoplatinato.
- g: Iodo-ioduro de potasio.

Los resultados encontrados¹⁰⁸ se encuentran en la tabla siguiente (Tabla 4.2).

Droga	Color de la Mancha							Rf x 100	
	a	b	c	d	e	f	g	A y D	C y D
DM	PB	-	-	-	-	COp	COs	-	51
Codeína-(fosfato)	G	-	-	N	ND	COp	C	-	37
Morfina	-	-	-	-	-	AzC	C→Az	-	20
Heroína	-	-	-	-	-	CAz	An→Az	-	53,46
Naloxona	PB	-	-	An	AnC ^M	-	-	57	54
LSD	P	-	-	POp	-	AnN	An	-	50
DM-Codeína								41,26	64,46
DM-Naloxona								43,57	51,55
MF-Hidrocodona								14,21	26,42

Tabla 4.2. El Código de Colores es: PB=púrpura brillante; COp =café opaco; COs=café oscuro; N=Naranja; ND=Naranja→ desaparece; C= Café; AzC=azul cielo; An=anaranjado; AnC =anaranjado claro; CAz= café azulado; POp=púrpura opaco; AnN=anaranjado-naranja; C→Az= café que cambia a azul; An→Az= Anaranjado que cambia a azul.

Los sistemas de disolventes A, C y D fueron capaces de separar DM de Codeína, DM de Naloxona y Morfina de Hidrocodona, detectándolos fácilmente con los reactivos adecuados (Tabla 4.2). Este estudio se extendió a más de 70 fármacos, separando varias mezclas con diversos grados de eficiencia.

4.3.2 DETERMINACION DE DM POR CROMATOGRAFIA EN PAPEL (CP).

Esta técnica tiene un gran alcance para la separación de mezclas complejas de varios tipos de sustancias entre las que se encuentran los alcaloides opiáceos. Debido a sus buenos resultados ésta se ha usado ampliamente para la separación de aminoácidos^{109,110,111,112} y de alcaloides como Ergot y Solanaceas¹¹³. Una modalidad de la CP es la utilización de papel impregnado con buffers de pHs crecientes colocados a diferentes

distancias de la tira de papel con lo que pueden ser detenidas varias compuestos quimicos en función de su pK. Por este procedimiento se han separado del DM varios alcaloides estrechamente relacionados.

Brossi, Häfliger y Schnider¹¹⁴ reportaron la separación sobre papel filtro amortiguado a pHs entre 6.3 y 8.1, de DM y otros análogos estructurales tales como: (-)-3-hidroxi-N-metilmorfinano, (-)-3-hidroxi-n-alilmorfinano y sus correspondientes sales (Romilar, Dromoran y Lorfán respectivamente) en fluidos biológicos. lograron una buena separación a pH 6.3 (Tabla 4.3). Cuando el pH es 8.1 solo se logra una separación regular ya que

Compuesto	pH	Rf
DM-HBr	6.3	0.47 a 0.52
Dromoran	6.3	0.37 a 0.41
Lorfán	6.3	0.67 a 0.70
DM-HBr	8.1	0.88 a 0.92
Dromoran	8.1	0.84 a 0.88
Lorfán	8.1	0.94 a 0.96

Tabla 4.3. Separación de DM-HBr y Análogos Estructurales por Cromatografía en Papel a dos pH_s Diferentes. Datos tomados de:

Arzneim.-Forsch. 5, 62-6 (1955).

sus Rf_s son muy cercanos. De estos resultados se concluye que el pH es un factor muy importante para la separación de compuestos mediante esta técnica.

Recientemente Schmall et. al.¹¹⁵ ampliaron el trabajo de Brossi¹¹⁴, logrando la separación de DM y otras sustancias al variar el pH entre 4.2 y 6.4 y usando como disolvente cloroformo (Tabla 4.4).

Para la preparación de los cromatogramas se usaron tiras de papel de 3.5 cm de ancho por 55 cm de largo y cada 2 cm, se coloca un buffer, variando de 0.2 en 0.2 el pH cubriendo el rango establecido (4.2 a 6.4) y se prepararon soluciones de cada droga en cloroformo u otro disolvente cuidando que la concentración de éstas sea de 15 µg/ml y estas se aplicaron con una micropipeta

sobre la línea origen, eluyendo con cloroformo, el cromatograma se desarrolló hasta que el frente del disolvente atravesó la zona conteniendo el buffer.

Este método es aplicable a compuestos con una diferencia en su pK aunque sea mínima. Compuestos con el mismo pK no se pueden separar.

Sustancia	pH	Rf
DM-HBr (DM)	4.6	0.67
Dromoran (DR)	6.0	0.21
Lorfán (LF)	5.2	0.53
Morfina (MF)	6.4	0.10
Codeína (CD)	4.8	0.56
Narcotina (N)	4.2	0.94
Estricina	4.8	0.62
Papaverina	4.2	0.94
DR/RM	6:4.6	0.21:0.67
DR/RM(1:100)	6:4.6	0.21:0.67
MF/CD	5.8:4.2	0.03:0.8
MF/N (100:1)	5.8:4.2	0.03:0.91
DR/LF	5.6:4.4	0.24:0.85
MF/CD/N	5.8:4.2	0.03:0.57:0.94
MF/DR/LF/RM	6.4:6:5.2:4.8	0.05:0.15:0.5:0.7

Tabla 4.4. Separación por Cromatografía en Papel a Diversos pH de DM-HBr y Otras Sustancias Relacionadas. Tomado con Modificaciones de: Anal. Chem. 28(9), 1373-76 (1956).

Fisher y Otterbeck¹¹⁰ separaron un grupo de alcaloides muy relacionados estructuralmente con el DM-HBR, incluido éste, por CP manteniendo el pH a 5.7 con un buffer, los cromatogramas se desarrollaron con cuatro mezclas de disolventes diferentes. En este trabajo se colocaron tiras de papel de 1.5 cm de ancho y 23 cm de largo dentro de un tubo de vidrio de 25 x 1.8 cm con un tapón horadado para atorar el papel, luego se colocó en la línea origen DM-HBr. Morfina, Codeína, Heroína, Dromoran, Apomorfina y Narcotina y se eluyó con el disolvente a (BuOH-H₂O; 80:20) y en

forma idéntica se procedió a eluir estas drogas con los disolventes b, c y d.

a: BuOH-H₂O (80:20)

b: BuOH-AcOH (10:3), saturando con agua.

c: AcOBu-BuOH-AcOH-H₂O (85:15:40:22)

d: AcOBu-BuOH-(Ciso-BuOH)-AcOH-H₂O (50:25:25:50:75).

Terminado el desarrollo de los cromatogramas estos se revelaron con un reactivo preparado disolviendo 2.5 g de nitrato de bismuto en 20 ml de agua y 5 ml de ácido acético glacial la solución resultante se mezcló con 10 ml de ioduro de potasio al 28%, luego se filtró y el filtrado se disolvió en ácido acético-agua (10:85). Las tiras de papel se lavaron con agua ligeramente alcalina, los resultados se indican en la tabla 4.5.

Sustancia	pH	Rf			
		a	b	c	d
DM-HBr	5.7	0.45	0.73	0.60	0.65
Morfina	"	0.15	0.40	0.05	0.53
Codeína	"	0.22	0.48	0.37	0.55
Heroína	"	0.47	0.59	0.47	0.67
Dromoran	"	0.40	0.70	0.46	0.78
Apomorfina	"	0.48	0.55	0.42	0.57
Narcotina	"	1.00	0.69	0.60	0.70

Tabla 4.5. Rf de DM-HBr y Otras Drogas Relacionadas usando los disolventes a, b, c y d.

De acuerdo con la tabla anterior el disolvente que da los mejores resultados para la separación de DM-HBr de las otras sustancias es el "c". Esta mezcla de disolventes se puede obtener con facilidad, además en conjunto esta técnica es muy económica y de fácil realización.

4.3.3 DETERMINACION DE DM POR CROMATOGRAFIA DE GASES (CG).

La Cromatografía de gases es un método analítico usado ampliamente en la determinación de productos terapéuticos, revelándose como una técnica muy sensible para la cuantificación

de DM en preparaciones farmacéuticas, las que casi siempre son mezclas de DM con antihistamínicos, fluidizantes, colorantes y disolventes. Este fármaco también ha sido determinado en materiales biológicos como plasma, orina y tejido nervioso y para determinación de pureza.

Cuando el DM se encuentra mezclado con sustancias que difieren ampliamente en polaridad (p. ej. en jarabes) hay serios problemas para el análisis de todos los componentes por CG. Estos inconvenientes pueden eliminarse preparando por ejemplo derivados de bistrimetilsililacetamida¹¹⁷ o el carbamato de pentafluorobencil DM¹¹⁸.

Las fases estacionarias que se han utilizado para el análisis por CG han sido:

- a) SE-30 impregnado sobre un soporte tal como chromosorb W, AW, W(CHP) o DMCS.
- b) OV-17 y OV-101 impregnadas sobre Gas-Chrom o OV-25 sobre Supelcoport.

Las fases estacionarias citadas se han empacado en columnas de vidrio de 1.20, 1.50 y 2.44 metros de largo y 3 a 4 mm de diámetro interno o en columnas metálicas de 1.60 metros.

Los detectores comunmente usados son de ionización de flama (DIF) debido a su buena sencibilidad, aunque también se ha usado con buenos resultados un detector de captura electrónica (DCE).

Las temperaturas de operación usadas son:

- Inyector (INY): 200 a 280°C.
- Columna (CLM): 180 a 250°C.
- Detector (DTC): 220 a 280°C.

Los gases acarreadores comunmente usados son: H₂/He/Aire; N₂; H₂/N₂/Aire y CH₄/Argon.

Como estandar interno (STD,I) se han usado soluciones en metanol de Codeina (1 µg/µl); Imiprimina (1 mg/ml) y DM USP (1 mg/ml). Los volúmenes inyectados son de 1 a 3 µl^{39,42,119,122}.

Mario y Meehan¹¹⁹ así como Lain-Shyh¹²⁰ determinaron por CG

el contenido de DM en jarabes, que contenían en el primer caso además de DM, Fenilpropanolamina, Guayacolato de Glicerilo, Clorofeniramina (CLF) y en el segundo caso Fenilpropanolamina y Guayacolato de Glicerilo Para este análisis se tomaron 25 ml de jarabe, vertiéndolos sobre un embudo de separación acidificando con ácido clorhídrico concentrado, luego se eliminaron las sustancias interferentes (disolventes, colorantes, etc.) por extracción con tetraloruro de carbono (CCl_4), los extractos de CCl_4 se reunieron y se lavaron con agua desionizada, la fase acuosa se transfirió a otro embudo y se neutralizó con sosa al 5% (25 ml) extrayendo con cloroformo (CHCl_3), los extractos clorofórmicos se destilaron hasta 25 ml, luego se adicionó Promacina en CHCl_3 (STD, I) y se aforó a 50 ml con CHCl_3 de esta solución se inyectaron 2 μl en el cromatografo acondicionado apropiadamente (Tabla 4.6). Bajo estas condiciones el tiempo de retención fue de 15 minutos. Utilizando mezclas de concentración conocida se descubrió que el DM se puede detectar con una precisión de $100.53 \pm 1.055 \%$, lo que hace a este método muy bueno para el análisis de jarabes.

Geobbeler¹²¹ determinó el DM-HBr en presencia de clorofeniramina, clorhidrato de Norh efedrina y salicilamida en tabletas por CG. La salicilamida se determinó del filtrado etanólico obtenido del tratamiento de tabletas con etanol absoluto. El DM, la Clorofeniramina y la NF se determinaron como se indica en seguida. Se destiló el etanol, el extracto se disolvió en ácido clorhídrico diluido para extraer a continuación con cloroformo y de la fracción clorofórmica se inyectaron en el cromatografo 3 μl (Tabla 4.6).

Aunque el DM es un fármaco no tóxico a dosis terapéutica, en algunos casos puede llegar a causar efectos de adicción^{20,80,122} por lo que ha sido de interés cuantificarlo en fluidos biológicos.

APARATO	COLUMNA m x mm	FASE ESTACIONARIA	TEMP. °C			GAS ACARREADOR	REF.
			INY	CLM	DTC		
Varian Aerograph M-1200-1	Vidrio Pyrex 2.4x3.2	SE-30C2%O/Chro- mosorb WCHP), silanizado ma- lla 80-100.	270	180	270	H ₂ /He/Aire 30/30/300	18
Varian Aerograph M-1200	Vidrio x4.0	OV-17(1.5%O/ simalita W, malla 80-100.	-	-	-	-	19
Varian Aerograph M-1400	1.8 m	SE-30C1%O/Chro- mosorb G.	-	220	-	He	20
Varian Aerograph M-1400	Metálica 1.60 m	SE-30C3%O/Chro- mosorb W,AW o DMCS.	210	190	220	N ₂ 60 ml/min	21
Carlo Erba Fractovap M-GV	Vidrio 4.0 mm	OV-17(3%O/Gas- Chrom. Q. Malla 100-200.	280	250	270	H ₂ /N ₂ /Aire 35/40/400	22
Hewlett Packard M-7610A	Vidrio silani- zado. 1.5x4.0	OV-101(10%O/ Gas-Chrom. Q malla 100-200	200	220	280	H ₂ /N ₂ /Aire 30/40/350 ml/min.	27
Hewlett Packard M-7610A	Vidrio Silani- zado. 1.2x3.0	OV-25(3%O/ Supelcoport malla 100-200	265 a	300		CH ₄ /Argón 52.5 ml/min.	17

Tabla 4.4. Determinación de DM por Cromatografía de Gases. Condiciones de Operación: DIF^{119,120,121,122} DCE¹¹⁸. INY= Inyector; CLM = columna; DTC = Detector.

Para el análisis de DM en suero es común usar de 1 a 2 ml de muestra, la cual es alcalinizada con sosa al 30%³⁹ o 1N¹²³ aunque también se ha usado potasa 2M¹¹⁸, la muestra alcalinizada se extrae con CHCl₃^{39,123} o con benceno-alcohol isopropílico (9:1)¹¹⁸ después de destilar el disolvente el extracto se disuelve en 50 µl de metanol^{39,123}, inyectando 1 a 2 µl (Tabla 4.4) en este análisis se observó buena reproductibilidad.

En estudios sobre el metabolismo del DM en el cuerpo humano se ha detectado este fármaco por CG junto con su metabolito principal, el Dextrorfán (clorfán)⁷⁹, además fueron encontrados

alrededor de 15 metabolitos desconocidos después de hidrolizar enzimáticamente¹²⁴.

Para realizar esta determinación se le dieron a voluntarios dosis de 50 o 25 mg de DM^{7p,124}, colectando muestras de orina orina a diferentes tiempos. Estas muestras se hidrolizaron con la enzima glucuronido sulfatasa, los productos de hidrólisis se extrajeron con CHCl₃, el extracto obtenido después de la destilación del disolvente se disolvió en metanol, inyectando 1 µl en el cromatografo.

Gutierrez y Garzón⁴² desarrollaron un método para evaluar la pureza del DM después de un almacenamiento prolongado (4,6 y 12 meses) a T.A. y a 37°C encontraron que el producto se mantuvo estable bajo estas condiciones.

Para este análisis se pesaron 10 mg de DM USP por cuadruplicado en matraces volumétricos de 10 ml, se disolvieron en metanol aforando en seguida a la marca (conc. 1 mg/ml) y se inyectaron 3 µl de solución problema y 3 µl del STD,I.

Se encontró que este método es capaz de detectar un promedio de 100.05% de DM con una desviación standard de 0.98. Estos datos se obtuvieron al cuantificar varias muestras de concentración conocida (Tabla 4.7).

Droga	mg Agregados	mg Recuperados	% de Recuperación
DM-HBr	1.0	1.01	101.0
3 µl	1.0	0.99	99.5
	1.0	1.00	100.0
1 mh/ml	1.0	1.01	101.0

Tabla 4.7. Evaluación de un método para la detección del DM.
Tomado de: Rev. Soc. Quím. Mex. 22(6), 427-32 (1978)

Este método es importante ya que se puede utilizar para la evaluación de la pureza y estabilidad de otros fármacos.

4.3.4 DETERMINACION DE DM POR CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCION (CLAR).

Desde los años 70's ha habido un rápido aumento en el uso de la CLAR en el análisis de fármacos. De hecho estos métodos son

usados cada vez con más frecuencia que la CG en el control de calidad requerido en las grandes empresas farmacéuticas, de cualquier modo el uso rutinario de la CLAR para la identificación de fármacos es limitado debido a que esta técnica tiene un poder de resolución menor que la CG. Este problema ha sido resuelto en gran medida utilizando la CLAR en fase inversa usando como soporte octasdecilsilano, sílica tipo spherosil, fenil spherisorb o fenil-nucleosil-RP y un par iónico entre la droga y la fase estacionaria (p. ej. 1-octilsulfonato de sodio (1-OCSS), dioctilsulfosuccinato de sodio (DOSCCSS)).

En todos los reportes en los que se ha cuantificado el DM y otros fármacos los detectores que se han usado son los de Ultravioleta (UV) de longitud de onda variable o dos detectores de UV operando en serie a diferentes longitudes de onda.

Las fases móviles usadas para la separación de DM son mezclas de disolventes de alta polaridad como: MeOH-H₂O-THF; MeOH-NH₃; MeCN-H₂O-AcOH; MeCN-H₂O; etc. en diversas proporciones según la mezcla que se tenga que separar (Tabla 4.8). Estos líquidos se introducen en la columna usando diversos tipos de inyectores por ejemplo el U6K, W₁ SP 712 o bucles de inyección de 6 válvulas M-7000 y bombas de pistón recíproco M-6000A y M-45, generalmente todos estos accesorios así como el cromatografo de líquidos, computadora, etc. son comercializados en su mayor parte por la empresa Water filial de la transnacional Millipore.

El DM se ha detectado por esta técnica junto con espectrantes tales como Alimemazina¹²⁵, Pseudoefedrina^{126,127,128}, Guayacolato de Glicerilo^{129,130,131}, Fenilpropanolamina y Fenilefrina^{128,132} y antihistamínicos como por ejemplo Metilendisilicato de Prometazina y clorhidrato de Isotiofenidilo¹²⁵, Maleato de bromofeniramina, Clorofeniramina, Feniramina, Pirilamina y Metoxifenamina^{127,128,132} y en algunos casos antipiréticos como Acetaminofen¹²⁹.

En la determinación de DM por CLAR primeramente se prepara un STD, I el cuál puede ser una solución en metanol de O-nitrobenzono, clorhidrato de bencenacetamida o Codeína grado USP,

etc.^{129,131,132}, luego se determina la respuesta del aparato, determinando en muestras de concentración conocida los ingredientes que contienen los jarabes, para lo cual se pesan de 0.3 a 10 mg de éstos disolviéndolos en la fase móvil junto con el STD, I para inyectar en seguida de 15 a 50 μ l en el cromatografo que opera bajo las condiciones que se indican en la tabla 4.6. Para analizar muestras auténticas se utilizan de 1 a 3 ml de jarabe y se preparan en la misma forma que las muestras de referencia. La concentración de las muestras problema se determina por comparación de la altura de los picos de las muestras de referencia con las que se calibró el cromatografo¹²⁵⁻¹³² los resultados obtenidos tienen una buena precisión y exactitud.

Los resultados obtenidos indican que la CLAR de fase inversa es aplicable a un gran número de aminas comunmente encontradas en formulaciones contra la tos. Este método es capaz de separar las aminas de interés de los colorantes, preservativos y saborizantes normalmente encontrados en jarabes, en tiempos menores a 20 minutos.

La determinación de DM y sus metabolitos principales, Dextrorfán, 3-metoximorfinano y 3-hidroximorfinano, se ha realizado por CG^{42,118,124} con buenos resultados, aunque recientemente se ha publicado métodos en los cuales se realizan estos análisis por CLAR.

Cuando se determina el DM en orina, se toman muestras de 1 o 0.25 ml y se hidrolizan por 12 horas a 37°C con 0.02 ml de la enzima β -glucuronidasa/ β -arilsulfatasa¹³¹ o con 0.02 ml de glucosidasa³⁸ manteniéndolo el pH en 5.0 con un buffer de acetato^{38,131}, terminada la hidrólisis se eleva el pH hasta 11.3 con un buffer de glicina, la muestra se extrae con hexano-alcohol n-butílico (1:1), luego de eliminar el disolvente por destilación a 40°C en un baño maria, del extracto se inyectan en 0.20 ml en el cromatografo de líquidos bajo las condiciones indicadas en la tabla 4.8^{38,131}.

APARATO	DTC	CLM cmxmm	FASE ESTACIONARIA	FASE MOVIL	tr o V _f	%R	REF
CWA BM-6000 IM-U6K	UV227	MTCA 30x4	PMAEDVB	MeOH(28:3) NH ₃ (99:1)	-	99.7- 100.1	28
CM BCPR IA	UV280	30x3.9	μBPK C18 OS de 10 μm	MeCN-H ₂ O-AcOH (4:6:1) con 1-OCSS 0.1N	20min.	100.1	127
CWA BM-6000 IM-U6K	UV280 M-440	Fisher S-5000 30x4	μBPK C18OS	NH ₃ -H ₂ O-HCO ₂ H (3:3:3), pH= 5.6	2ml/m	99.3- 101	129
CM BCPR IM-LC	UV254	MTCA 30x4	μBPK C18OS	MeCN-H ₂ O (55: 45) con OCSS NH ₄ NO ₃ 0.005M	15 min. 3ml/mn.	99.7	130
CWA BM-6000	UV290 P-E LL858	25x4.6	ZxCN/NCPR	H ₂ O-MeCN-HCO ₂ H Ac. Metansulfonico. (500:500: 1:1).	20 min 1ml/mn	100	128
CM BCPR- 110	UV254 M- UVIII	30x4.0	μBPK C18OS de 10 μm	MeOH-H ₂ O-THF (680:290:40) DOSCCS er. H ₃ PO ₄ 85%	14.9min.	98.5- 101	132
CWA BM-6000 Bc/I-6V	UV280 M-LMC SM-25	1)30x4 2.4x4	1)Li-Ch-CN de 10 μm 2)PH-Sb 5 μm	KH ₂ PO ₄ -MeCN (1:1) pH 4 con H ₃ PO ₄	100.5 21.4 ml/min.	-	131
CWA BM-45 IA-W ₁	UV270	30x4	Nucleosil- RP-Ph-ET250 de 7 μm	MeCN-MeOH (2:1), OCSS KH ₂ PO ₄ 70%	1.3 ml/min.	-	38
CWA BCPR	UV270	MTCA 15 μm	Sc-TS de 5 μm	MeOH-H ₂ O-THF (17:7:1)	20 min.	-	133
CWA BM-6000 IM-U6K	UV280 dual	MTCA 30x3.9	Porosil ba- se silica de 10 μm	MeOH 2N-NH ₃ 1N-NH ₄ NO ₃	3.5min 2ml/min.	-	134

Tabla 4.8. Condiciones de Operación para la Determinación de DM por CLAR. En esta tabla CWA=Cromatografo Waters Assoc.; BM-X=Bomba modelo X; P-E=Perkin-Elmer; IA=inyector automatico; BCPR=Bomba de Piston reciproco; IM-X=inyector modelo X; IM-LC=inyector modelo LC; CM=Cromatografo modular; DTC=deteoctor; CLM=Columna; MTCA=Metallaco; OCSS=1-octilsulfonato de sodio; DOSCCS=Diocilsulfosuccinato de sodio; PMAEDVB =Polimetacrilato-estireno-divinitolbenzeno; μBPK C18 OS=μ-Bondopak C18 de octadecilsilano; Li Ch-CN=Li-Chromosorb-CN Ph-Sb=Phenil-Spherisorb; ZxCN/NC-PR = Zorbax CN, cianopropil enlazada; Bc/I-dV=Bucle de 6 valvulas; Sc-Ts=Silica tipo spherosil; tr tiempo de retencion; V_f= velocidad de flujo; NR=Recuperación.

En seguida se indica la efectividad de la CLAR para el análisis de DM en orina.

DETERMINACION DE DM EN URINA		
Compuesto	Cantidad	Encontrada
($\mu\text{g/ml}$)	%R ³⁸	%R ¹³³
1.76	95.6 + 4	89 + 6
3.62	98.6 + 2	
9.00	99.1 + 2	87 + 8
27.00	99.8 - 0.1	

Tabla 4.9. Ensayo del DM por CLAR en Orina.
 NR = % recuperación. Tomado con modificaciones de: J. Chrom. 422, 340 (1967) y Biochem. Pharmacology, 37(10), 3155 (1968).

Zysset et. al.³⁸ determinaron los niveles de DM en sangre utilizando muestras de 100 a 200 μl amortiguadas a un pH de 11.3 con un buffer de glicina 1M y 50 ng de Levallorfán (STD.I) realizando la extracción con hexano (conteniendo 0.1% de trietilamina), terminada la extracción se destiló el disolvente en baño maria a 40°C, el extracto obtenido se disolvió en 200 μl de fase móvil (Tabla 4.8) inyectando a continuación 100 μl en la columna del cromatografo, el DM recuperado con esta técnica fue superior al 90% (10 determinaciones).

Debido a la gran eficacia que se logra en la separación de mezclas farmacéuticas complejas por CLAR. Con esta técnica Caude y Le Xuan¹³³ cuantificaron DM-HBr en formulaciones que incluyen también: Fenobarbital, Clorhidrato de Benzocaina, Clorhidrato de papaverina, Meperidina, etc. usando una columna de 15 cm empacada con sílica tipo spherosil con tiempos de análisis menores a 20 minutos las condiciones de operación se indican en la tabla 4.8.

Poco tiempo después Baker, Skelton y Cheng-yu Ma¹³⁴ caracterizaron más de 100 sustancias, incluido el DM, usando tres sistemas de disolventes (A:B:C).

- A: Metanol-Agua (2:1) con NaH_2PO_4 0.025M.
- B: Metanol-Amónico 2N-Nitrato de Amonio 1N (27:2:1).
- C: Amónico-Diclorometano (2:1.01).

Con el sistema A se separaron: Acido barbitúrico, Aspirina, Morfina, Codeina, Naloxona, etc. Con el sistema B se caracterizaron: DM, Codeina, Morfina, Fenilefrina, etc. Y con C se pudieron separar: Naloxona, Diazepam, Procaina, etc. Las sustancias usadas en este estudio fueron USP, se usó como STD, I Morfina, disuelta en la fase móvil, la velocidad de flujo fue de 2 ml/mín.

El sistema B dió los mejores resultados con las drogas básicas como el DM.

Kubiak y Munson¹³⁵ hicieron una mezcla sintética de DM, Dimetilanilina y 3-hidroxi-N-metilmorfinano. Para la separación usaron una fase móvil de MeCN-H₂O-NH₄NO₃ y dioctilsulfoxinato de sodio 0.05M. Las condiciones de operación se indican en la tabla 4.8, los tres componentes fueron separados con una buena recuperación para el DM.

4.4 DETERMINACION DE DM POR METODOS FISICOS.

Estos métodos se han usado para analizar tanto cualitativamente como cuantitativamente moléculas orgánicas de muchos tipos desde las más simples como alcoholes, aminas, hidrocarburos, hasta las más complejas como alcaloides, proteínas, ácidos nucleicos y otras que en la mayoría de los casos son sustancias de interés farmacéutico.

4.4.1 DETERMINACION DE DM POR ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA (UV).

La técnica ultravioleta fue una de las que primero se hecho mano en este siglo como herramienta analítica para la identificación de productos naturales y medicamentos.

Formilo y Levi¹³⁶ publicaron un artículo sobre el análisis de un gran número de fármacos (>90), entre las que se incluyen DM, Morfina, Codeina, Racemorfan, etc., observando que el pH tiene una gran influencia en estas determinaciones. Este trabajo fue

complementado varios años después por Siek et. al.¹⁰⁷ quienes analizaron por UV más de 300 sustancias de naturaleza diversa, incluido el DM, éstas se agruparon de acuerdo con: 1) estructura química, 2) perfil de absorción (λ vs A), 3) efecto del cambio de pH, 4) cambio de polaridad del disolvente con respecto al agua y 5) intensidad de la banda de absorción.

En este estudio se encontró que el DM presenta dos máximos uno a 226 ± 6 nm y otro a 273 ± 7 nm en ácido clorhídrico diluido. En disolventes menos polares que el agua hay un ligero corrimiento a longitudes de onda menores, el efecto del cambio de pH es moderado. Las demás sustancias analizadas presentan perfiles de absorción típicos que permiten su identificación relativamente fácil. En la tabla 4.10 se indican los datos de absorción en el UV de varias sustancias de interés farmacéutico.

COM PUES	LONGITUD DE ONDA MAXIMA ($\lambda_{max.}$) en nm			DATOS DE ABSORBANCIA.		
	Acido diluido	Base diluida	Otro disol.	λ	ϵ	Disol.
DM	218, 278, 283; HCl 0.10 N	278, 282; NaOH 0.1N	221, 278, 288 EtOH	218, 278	7560, 2000	HCl dil
CD	211, 240, 284 278 0.10 N	238, 284, 278; NaOH 0.1 N	211, 239, 286 EtOH	212 285 239	25275 1612 4680	HCl dil EtOH
NEP	220, 279; HCl 0.10 N	241, 293; NH ₄ OH 0.4%	225, 281; EtOH	279 341	4400 8100	HCl dil NaOH d
EP	222, 278; H ₂ SO ₄ 0.1N	245, 280, 286; NaOH 0.1 N	230, 281 MeOH	273 281	4400 4900	HCl dil MeOH
CF	227, 272; HCl 0.01N	227, 272; NaOH 0.1 N	273 EtOH	273	10000	EtOH
CLF ^a	273.7 H ₂ SO ₄ 0.5N	-	-	273	-	H ₂ SO ₄ 0.5N
MF	210, 240, 284, 280; HCl 0.1 N	251, 298; NaOH 0.1 N	208, 241, 286 EtOH	210 285 298, 251	27050 1611 2662, 2920	HCl dil NaOH

Tabla 4.10. Datos de Absorción en el Ultravioleta de: DM (I), Codeína (CD), Norepinefrina (NEP), Epinefrina (EP), Cafeína (CF), Clorfeniramina (CLF) y Morfina (MF). Tomado con modificaciones de: J. Forensic Sci. 21(3), 525-51 (1976) y de Rev. Fac. Farm. Univ. Cent. Venez. 29, 31-55 (1974).

Debido a las dificultades que hay para la determinación de Romilar en jarabes por UV causadas por interferencias de absorción de ingredientes que no han podido ser separados completamente por extracción con disolventes, se han desarrollado métodos^{130,139} para la cuantificación de DM en jarabes por espectroscopia en el UV previa separación por Cromatografía en Capa Fina.

Para entender la metodología seguida en este trabajo¹³⁰ tomaremos de más de 10 mezclas analizadas el ejemplo de un jarabe que contiene DM, Clorofeniramina, disolventes y colorantes. El análisis empieza extrayendo con éter del jarabe acidificado con HCl dil., seguido por neutralización con sosa y nueva extracción ahora con cloroformo. una vez que se ha destilado disolvente se completa la separación por cromatografía de capa fina (CCCF) usando como disolvente de desarrollo una mezcla de CHCl_3 - $(\phi\text{-H})$ - MeOH-NH_3 (70:20:10:1), ya identificadas las manchas éstas se disolvieron por separado en HCl 0.1 N y en H_2SO_4 0.5 N haciendo la determinación en un espectrofotómetro UV Beckman DB Recorder (Esquema 4.1).

Terminada la serie de determinaciones de absorción se realizaron los cálculos de la concentración de cada fármaco usando la ecuación siguiente:

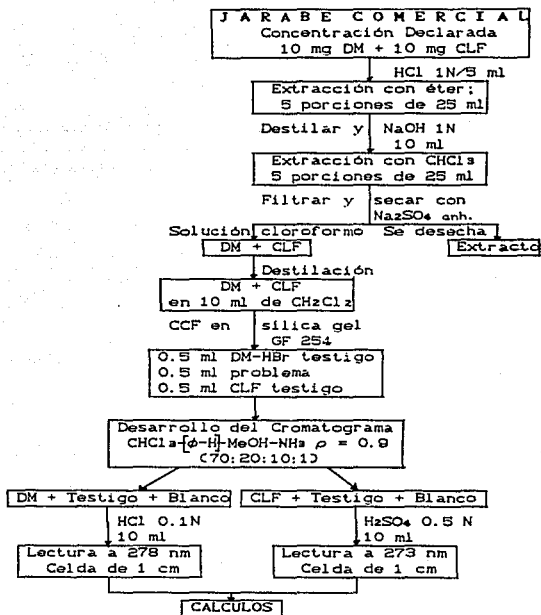
$$\text{Ecuación 4.2) } \text{mg Fármaco} = \frac{t \times A_p}{A_t} \times \frac{V_{\text{declarado}}}{V_{\text{medido}}}$$

Donde: t = mg de testigo en 10 ml de solución.

A_p = absorbancia del problema.

A_t = absorbancia del testigo.

Una vez estandarizado el método se lograron recuperaciones de más del 98% para el DM y de 100% para el Maleato de Clorofenamina.



Esquema 4.1. Separación de DM y Clorofentramina (CLF) jarabes y Detección por Espectrofotometría UV previa Separación por CCF. Tomado con modificaciones de: Rev. Farm., Univ. Cent. Venez. 20, 31-35 (1974).

Tan y Salvador¹⁴⁰ encontraron que es posible cuantificar muestras sólidas (cápsulas y tabletas) que contienen Romilar, Guaifenosina y Fenilpropanolamina realizando una oxidación previa

con metaperiodato de sodio sin que el DM y la Guaifenosina sean afectados. En esta técnica la celda de referencia contiene Fenilpropanolamina y la celda para la muestra contiene Fenilpropanolamina oxidada, Guaifenosina y DM. Bajo estas condiciones el DM presentó dos máximos de absorción en metanol, uno a 278 nm y otro a 286 nm, la Guaifenosina tiene un máximo a 272 nm y el espectro diferencial para la Fenilpropanolamina presenta un máximo a 251 nm correspondiendo a la absorción neta de la muestra y un mínimo a 275 nm que corresponde a la absorción para la solución de referencia (Fenilpropanolamina sin oxidar) con un punto isosbástico a 272 nm (figura 4.9). Para probar el método los autores prepararon tabletas conteniendo DM (28.9 a 29.7) y Fenilpropanolamina (24 a 26.4 mg) detectando 99.5 y 99.2% respectivamente. Los resultados obtenidos para tabletas comerciales están de acuerdo con lo que indican los fabricantes.

Jones et. al.¹⁴¹ utilizaron un método llamado de mínimos cuadrados, en el cual son necesarias varias determinaciones a longitudes de onda crecientes, logrando analizar mezclas complejas, por ejemplo con este método se analizaron tabletas conteniendo DM, Pseudoefedrina, Tripolidina y sus sales, a longitud de onda de 275 a 300 nm para el DM y la Tripolidina y de 252 a 300 para la Pseudoefedrina.

Recientemente se propuso un método¹⁴² para la determinación directa de DM en presencia de Pseudoefedrina y Clorfeniramina como sus sales en tabletas usando un espectrofotómetro UV provisto con un aditamento (diodo) capaz de realizar análisis de multicomponentes, la sensibilidad de este método es de 7.5 µg/ml para la Pseudoefedrina, 1.0 µg/ml para Clorfeniramina y 5.0 µg/ml para el DM, cuando se usa la segunda derivada de la absorción con respecto a la longitud de onda, el análisis se hizo entre 240 y 300 nm en celdas de 1 cm y un pH de 5 (con un buffer de acetato de sodio). Los resultados son comparables a los encontrados con la CLAR.

4.4.2. DETERMINACION DE DM POR ESPECTROSCOPIA INFRAROJA (IR).

Como se ha discutido el DM-HBr se ha analizado utilizando la cromatografía, espectrometría UV y polarimetría, con resultados confiables y seguros, sin embargo, dentro de un trabajo presentado por Thompson et. al.¹⁴³ para la identificación de aminas, estudiaron las características de absorción del DM-HBr. El DM-HBr presenta dos bandas, una ancha a 2440 cm^{-1} y otra aguda a 2500 cm^{-1} , aunque la localización de estas bandas depende mucho de la existencia de agua de hidratación, ya que el agua desplaza las bandas a frecuencias elevadas. El espectro es atribuido a un estiramiento del enlace $\overset{\ominus}{\text{N}}\text{-H}$ (Figura 4.1). La forma de esta banda y su intensidad característica hace difícil confundirla con la banda respectiva de aminas primarias y secundarias.

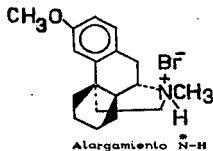


Figura 4.10. Estructura del DM-Hbr con el círculo punteado ** indica la parte de la molécula analizada en el infrarrojo.

5.0 CONCLUSIONES.

En el desarrollo de éste trabajo se logro reunir esencialmente toda la información sobre el dextrometorfán, la que da una idea sobre el auge que han tenido y tienen los antitusivos en general y el DM en particular, en la industria farmacéutica.

Como se puso de manifiesto en el capítulo uno el DM ha ido afianzando su permanencia en el mercado nacional desde su introducción.

En los procedimientos de síntesis para el DM, se concluye, después de analizar el número de pasos, disponibilidad de materias primas y vigencia de patentes, que los mejores esquemas de síntesis son: 3.2, 3.3, y 3.10 (Capítulo tres).

En el esquema 3.2, en dos pasos se obtiene el intermediario II y con tres pasos más se completa la síntesis del DM. Las materias primas se pueden conseguir en el país con excepción del ácido d-tartárico.

Es muy atractiva la síntesis que se indica en el esquema 3.3; en este caso se utiliza como material de partida la 2-(1-ciclohexenil)-etilamina y como en el caso anterior se completa la síntesis del DM en cinco pasos. En esta síntesis existe el inconveniente que el p-metoxifenilacetaldehído clave para la preparación del DM no se obtiene en el país, pero se tiene la ventaja que esta síntesis puede incluso iniciarse desde el ciclohexanol o la ciclohexanona con dos o tres pasos más.

Además dado que las patentes que amparan estas síntesis ya no son vigentes, no habría problema en su utilización.

También sería muy atractiva la síntesis directa del DM según el esquema 3.10, en el que el paso clave es una hidrogenación enantioselectiva usando el catalizador BINAP-Ru(II). En esta síntesis sería necesario importar el catalizador y el ácido p-metoxifenilacético.

Debido a la importancia comercial del DM y la exigencia de una alta pureza, ha impulsado a las grandes empresas farmacéuticas a investigar diversos métodos de análisis para el DM. Este fármaco se cuantificó con elevada precisión en jarabes, tabletas e incluso en fluidos biológicos utilizando principalmente la cromatografía en varias de sus modalidades; dando muy buenos resultados el acoplamiento de las técnicas cromatográficas con la espectrofotometría en el Ultravioleta. Además en las farmacopeas se consignan varios procedimientos para la detección cualitativa del DM contenido en diversas formulaciones, procedimientos también citados en este trabajo (capítulo 4.1).

Por lo que se ha citado anteriormente concidero que los métodos para la determinación cualitativa y cuantitativa del Dextrometorfán son lo suficientemente confiables y completos.

- 1) Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. PLM, 37a Edición México 1991.
- 2) Anuario Estadístico de Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Subsecretaria de Comercio Exterior. Dirección General de Política de Comercio Exterior. Bancomext, 1975 a 1991.
- 3) Camara Nacional de la Industria Farmacéutica, 1991.
- 4) Benson, W. M.; Stefko, P. L. and Rondall, L. O. Comparative Pharmacology of Levorphan, Racemorphan, Dextrorphan and Related Methyl Ethers. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 109, 189-200 (1953).
- 5) Schnider, O. and Grüssner, A. Process for the Preparation of Optically Active Non-narcotic Effective Antitussive. *US 2 676 177*, Apr. 20, 1954.
- 6) Magid, L. Pharmaceutical Aspects of Dextromethorphan Hydrobromide. A Safe Non-narcotic Effective Antitussive. *Drug Cosmetic Ind.* 93(5), 620-22 y 757 (1963).
- 7) Cass, L. J. and Frederic, W. S. Cuantitative Comparison of Cough-Suppressing Effects of Romilar and Other Antitussives. *J. Lab. Clin. Med.* 48, 879-85 (1956).
- 8) Bickerman, H. A.; German, E. et. al. The Cough Response of Healthy Human Subjects Stimulated of Citric Acid aerosol. Part II: Evaluation of Antitussive Agents. *The Am. J. Med. Sci.* 1912-205 (1957).
- 9) Maurer, H. The Cough-Inhibiting Action of Compounds of the Dromoran Series. *Deut. Med. Wochschr.* 80, 351-3 (1955).
- 10) Reichle, C. and Friebel, H. Inhibition of the Cough Reflex by Agents Acting on the Central Nervous System. *Naunyn.-Sch. Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.* 226, 558 (1955).
- 11) Yuichiro, Itsushima. Medicin a New Antitussive. *Shinyaku to Rinsho.* 5, 115-18 (1956).
- 12) Verde de Martínez, C. Antagonismo del Efecto Tisigeno del Ioduro de 1,1-Dimetil-4-fenilpiperazinio, Para Diferentes Sustancias. *Rev. Fac. Farm., Univ. Cent. Venez.* 13(26), 51-71 (1973).

- 13) Gero, A. Interacción of Narcotic and Their Antagonist with human Serum Estearase VIII: Further Studies on the Affinity of Drugs for the Substrate-Binding Site of the Enzyme. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 231(1), 42-8 (1978).
- 14) Empey, D. W. et. al. Comparison of the Antitussive Effects of Codeine phosphate 20 mg, Dextromethorphan 30 mg and Noscapine 30 mg Using Citric Acid-Induced Cough in Normal Subjets. Eur. J. Clin. Pharmacol. 16(6), 397-7 (1979).
- 15) Kamei, J. et. al. Effect of Naloxone on the Cough Depressant Activities of Antitussive Drugs. Nippon Yakurigaku Zasshi. 87(6), 641-8 (1986).
- 16) Lal .J. Comparative Antitussive Effects of Dextrophan, Dextromethorphan and Phensiclidine. Arzneim.-Forsch. 36(7), 1075-8 (1986).
- 17) Rondall, L. O. and Selitto, J. J. Anti-Inflammatory Effects of Romilar CF. J. Am. Pharm. Assoc. 47(5), 313-14 (1957).
- 18) Nelson, E. L. Dextromethorphan for Trating Dysmenorrhea. Eur. Ep. 81 823, 22 Jun, 1983. US 329 550 Dic 10, 1981.
- 19) Kigoshi, Shigero et.al. Effect of the Centrally Acting Antitussives on Ascites Tumor Cell. Jpn. J. Pharmacol. 33(2), 343-8 (1983).
- 20) Kokubo, Mamoru Experimental Studies on the Antitumor Activity of the d-Morphinan Derivatives. Juzen Igakkai Zasshi, 94(5), 983-98 (1985).
- 21) Tortella, F. C. and Musacchio, J M. Dextromethorphan and Carbetapentane: Centrally Acting Non-Opioid Antitussive agents with Novel Anticonvulsant Properties. Brain Res. 383(1-2), 314-18 (1986).
- 22) Musacchio, J. M.;Martine, K. and Santiago, L. J. Allosteric Modulation of Dextromethorphan Binding Sites. Neuropharmacol. 26(7B), 997-1001 (1987).
- 23) Tortella, F. C.; Ferkany, J. W. et. al. Anticonvulsant Effects of Dextrophan in Rats: Possible Involment in Dextromethorphan-Induced Seizure Protection. Life Sci. 42, 2209-14 (1988).
- 24) Musacchio, J. M. et. al. High Affinity Dextromethorphan Binding Sites in Guinea Pig Brain Further Characterization and Allosteric Interactions. J. Pharm. Exptl. Ther. 247(2), 424-31 (1988).

- 25) Musacchio, J. M. and Klein, M. Dextromethorphan Binding Sites in the Guinea Pig Brain. *Cel. Mol. Neurobiology*. 8(2), 149-56 (1988).
- 26) Klein, M.; Paturzo, J. J. and Musacchio, J. M. The Effects of Prototypic σ Ligands on the Binding of C^3H Dextromethorphan to Guinea Pig Brain. *Neurosci. Let.* 97, 175-80 (1989).
- 27) Anon. N. Exemption of Diamthazole Dihydrochloride and Dextromethorphan Hydrobromide Preparations from Prescription Requirements. *Federal Register*. 21, 4341 (1956).
- 28) La Berre, J. Toxicomanic Properties of Dextromethorphan derivatives. *Therapie*. 25(3), 565-78 (1970).
- 29) Schallek, W. and Walz, D. Cardiovascular and Central Nervous System Effects of Morphinan Series. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 87, 233-6 (1954).
- 30) Chakravarty, N. K.; Matallana, A. et. al. Central Effects of Antitussive Drugs on Cough and respiration. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 117, 127-35 (1955).
- 31) Chou, D. I. and Wang, S. C. Studies on the Localization of Central cough Mechanism: Site of Action of antitussive Drug. *J. Pharmacol. Exptl. Ther.* 194(3), 499-505 (1975).
- 32) Aviado, D. M.; Bianchi, A. and Drimal, J. Antitussive Drugs II. Bronchopulmonary Effects of dextromethorphan and Doxylamine. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 216, 216-24 (1975).
- 33) Ralph, N. Evaluation of a New Cough Suppressant. *Am. J. Med. Soc.* 227, 291-6 (1954).
- 34) Takemori, A. E. and Mannering, G. A. Metabolic N and O-Demethylation of Morphine and Morphinan-Type analgesics. *J. Pharmacol. Exptl. Ther.* 123, 171-9 (1958).
- 35) Kamm, J. J.; Taddeo, A. B. and Van Loon, E. J. Metabolism and Excretion of Tritiated Dextromethorphan by the Rat. *J. Pharm. Exptl. Therap.* 158, 437-58 (1967).
- 36) Ramachander, G.; Williams, F. D. and Emole, J. F. Determination of dextromethorphan in Plasma and evaluation of Bioavailability of dextromethorphan Hydrobromide in Humans. *J. Pharm. Sci.* 66(7), 1047-8 (1977).

- 37) Schmid, B.; Bircher, J. et. al. Polymorphic dextromethorphan Metabolism: Co-Segregation of Oxidative O-Demethylation with Debrisoquin Hydroxylation. Clin. Pharmacol. Ther. 38(6), 618-24 (1985).
- 38) Zysset, T.; Zeuglin, T. and Küpfer, A. In-Vivo and In-Vitro Dextromethorphan Metabolism in SD and DA Rat. An Animal Model of the Debrisoquine-Type Polymorphic Oxidation in Man. Biochem. Pharm. 37(16), 3155-60 (1988).
- 39) Noirfalice, A. Dosage du Dextrométhorphane Dans le Plasma par Chromatographic en Phase Gazeuse. J. Chromatgr. 90, 392-3 (1974).
- 40) Litter, M. Manual "Farmacología Experimental y Clínica" Cap. 27. Farmacología de las Vías Aereas o Tracto Respiratorio pp. 876-80 y 889-90. Ed. El Ateneo. México (1977).
- 41) USP XXI Pharmacopeia, pp. 298 (1985).
- 42) Gutiérrez, C. R. y Garzón, A. Determinación Cuantitativa de Metronidazol Bromhidrato de Dextrometorfán y Clorhidrato de Difenhidramina. Sustancias de Referencia por Cromatografía de Gas-Líquido. Rev. Soc. Quím. Mex. 22(6), 427-31 (1978).
- 43) Illescas, F. R. (Edit.). "Fármacos 1973 México", pp. 282-284 Editorial Camara Nacional de la Industria de Laboratorios Químico-Farmacéuticos. México 1973.
- 44) Häflinger, Von O.; Brossi, A. et. al. Hydroxy-Morphinane. Über ein Photooxidationsprodukt von (+)-3-Methoxy-N-methyl-morphinan. Helv. Chim. Acta. 39(7), 2053-62 (1956).
- 45) Sawa, Y. K.; Meada, S. and Adachi, M. Abnormal Osmium Tetroxide Oxidation of N-Methylmorphinan Derivatives. Tet. 31, 953-6 (1975).
- 46) Boccardi, G. Mezzanzanica, P. et. al. Photochemical Iron (III)-Mediated Autoxidation of Dextromethorphan. Chem. Pharm. Bull. 37(2), 308-10 (1989).
- 47) May, A. J. and Widdicombe, J. G. Depression of the Cough Reflex by Pentobarbitone and Some Opium Derivatives. British. Pharmacol. Chemotherap. 9, 335-40 (1954).
- 48) Kase, Y. New Methods of Stimating Cough Depressing action. Nippon Yakurigaki Zasshi. 2, 7-13 (1953).

- 49) Tedeschi, R. E.; tedeschi, D. M. et. al. A New Antitussive Method Involving Mechanical Stimulation in Unanesthetized Dogs.
J. Pharmacol. Exptl. Therap. 126, 338-44 (1959).
- 50) Winter, C. A. and Flataker, L. Antitussive Compounds: Testing Methods and Results.
J. Pharm. Exptl. Therap. 112, 99-108 (1954).
- 51) Rosiere, C. E.; Winder, C. U. and Wax, J. Comparative Antitussive Bioassays of Four Morphine Derivatives and Methadone in terms of Ammonia Thesholds.
J. Pharmacol. 116, 296-316 (1956).
- 52) Gravenstein, J. S.; Devloo, R. A. and Beecher, H. K. Effect of antitussive Agents on Experimental and Pathological Cough in Man.
J. Applied Physiology. 7(2), 119-39 (1954).
- 53) Bob, J. R. and Ellis, S. Production of Cough and its Supression in the Unanesthetized Dog.
Am. J. Physiol, 167, 768-9 (1951).
- 54) Domenjoz, R. Zur Bedeutung Pontiner Atmungssubstrate Arzneimittel.
Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 215, 19-24 (1952).
- 55) Stefko, P. L. and Benson, M. W. A Method for the Evaluation of antitussive agents in the Unanesthetized Dog.
J. Pharmacol. Exptl. Therap. 108, 217-23 (1953).
- 56) Granier-Doyeux, M.; Horande, M. and Kucharski, W. Méthode D'évaluation Quantitative des agents antitussigènes.
Arch. Int. Pharmacodyn. 121, 287-96 (1959).
- 57) Hahn, K. J. and Friebel, H. Effect of Cough-Inhibiting Drugs in the Cough Center.
Med. Pharmacol. Exptl. 14(1), 87-97 (1966).
- 58) Hillis, B. R. and Kelly, J. C. Effect of Hexamethonium Iodide on Lobeline-Stimulated Coughing.
G. Med. J. 32, 72-6 (1951).
- 59) Sanzari, N.; Fainman, F. and Emele, F. J. Cough Induced by 1,1-Dimethyl-4-phenil Piperizinium Iodide: A New antitussive Method.
J. Pharm. Exptl. Therap. 182, 190-5 (1968).
- 60) Bickerman, H. A.; (Modell, W., Ed.) "Drugs of Choice 1974-1975". Chap. 27 "Antitussive Drugs pp. 399-412. Sain Louis U.S.A. (1975).

- 61) Kirk-Othmer. "Encyclopedia of Chemical Technology". Third Edition Vol. 9 John Wiley & Sons. pp. 548-52 y 399-412. New York. 1978.
- 62) Rondall, L. O.; Conroy, J. K. C. et. al. Pheripheral Effect of the Optical Antipodes of 3-Hydroxy-N-methylmorphinan and Some of Their Derivatives. Arch. Exper. Phat. U. Pharmacol., Bd. 220, 26-39 (1953).
- 63) Cruhzt, C. C. Chemoreflex activity of Dextromethorphan (Romilar), Dextrorphan, Codein, and Morphine in the Cat and Dog. J. Pharm. Exptl. Therap. 120, 399-407 (1957).
- 64) Craviso, G. L. and Musacchio, J. M. High affinity Dextromethorphan Binding Sites in Guinea-Pig Brain. II Competition Experiments. Mol. Pharmacol. 23, 629-40 (1983).
- 65) Murray, T. F. and Leid, M. E. Interaction of dextrorotatory Opioids with Phenciclidina Recognition Sites in Rat Brain Membranes. Life Sci. 34, 1899-911 (1984).
- 66) Borison, H. L. electrical Stimulation of the Neural Mechanism regulating Spasmodic respiratory acts in the Cat. Am. J. Physiol. 154, 55-62 (1948).
- 67) Bucher, K. "Physiological Pharmacology" Vol. II pp. 175-200. Academic Press. New York, 1965.
- 68) Santiago, L. J.; Klein, M and Musacchio, J. M. Effect of anticonvulsant Drugs and Other Agents on the High Affinity Binding of dextromethorphan to Guinea Pig Brain. Soc. Neurosci. Abstr. 13, 1157 (1987).
- 69) Salonen, R. O. Comparison of the Effects of Two Opioids Antitussives Vadocaine Hydrochloride, Clobutinol and Lidocaine on Lung Mechanics in Guinea Pigs. Arzneim.-Forsch. 38(4A), 609-12 (1988).
- 70) Anand, D. R. Pharmacological Studies on the Structure-Activity relationship of Morphine Antagonist. Arzneim.-Forsch. 15(5), 564-7 (1965).
- 71) Furukawa, T. and Okabe, M. The Antitussive Action of Dextromethorphan Hydrobromide. Igaku Kenkyu. 28, 1643-7 (1958).
- 72) Expert Committe on Drug Dependence. World Healt Organization. Technic Reports No. 407, pp. 24 (1969).

- 73) Deichmann, W. B. and Gerarde, H. W. "Toxicology of Drugs and Chemical". Academic Press, pp. 203. New York. 1969.
- 74) Küpfer, A.; Schmid, B. and Pfaff, G. Pharmacogenetics of Dextromethorphan O-Demetilation in Man. *Xenobiotica*, 16(5), 421-33 (1986).
- 75) Gibaldi, M. and Grundhofer, B. Absortion of Tritium-Labeled Dextromethorphan Hydrobromide in the Rat. *Can. J. Pharm. Sci.* 9(1), 8-11 (1974).
- 76) Cooper, M. J. and Tskemory, A. E. Kinetics of Microsomal Metabolism and Binding of Enantiomerically Related Sustrates. *Drug Metab. Dispos.* 1(4), 642-4 (1973).
- 77) Cooper, M. J. and Anders, M. W. Metabolic and Pharmacodinamic Interactions of Propoxyphene and Methorphan. *Life Sci.* 15(9), 1665-72 (1974).
- 78) Larrey, D.; Distlerath, L. M.; Dannan, G. A. et. al. Purification and Characterization of the Rat Liver Microsomal Cytochrome P-450 involved in the 4-Hydroxylation of Debrisoquine, a Prototype of Genetic Variation in Oxidative Drug Metabolism. *Biochem.* 23, 2787-95 (1984).
- 79) Koepfel, C.; Tenczer, J. and Ibe, K. Urinary Metabolism of Dextromethorphan in Man. *Arzneim.-Forsch.* 37(11), 1304-6 (1987).
- 80) Ramachander, G.; Bapatla, K. R. and Emele, J. F. Sex Differences in Plasma Half-Life of Dextrorphan in Rats Administered Dextromethorphan. *J. Pharm. Sci.* 67, 1326-36 (1978).
- 81) Grewe, R.; Mondon, A. und Nolte, E. Die Total Synthese des Tetrahydro-desoxicodeins. *Just. Lieb. Ann. Chim.* 564, 161-98 (1949).
- 82) Roche Products Ltd. Isoquinoline derivatives. *Brit.* 677 472, Aug. 20, 1952.
- 83) Grewe, R. (to Hoffmann-La Roche Inc.). Hydroxy and Alcoxy Derivatives of N-Methylmorphinan. *US* 2 638 472, May. 12, 1953.
- 84) Schnider, O. und Grüssner, A. Synthese von Oximorphinen. *Helv. Chim. Acta* 32(106), 821-28 (1949).

- 85) Schnider, O. and Grüssner, A. (to Hoffmann-La Roche & Co.).
Hydrophenanthrene Derivatives.
US 2 524 856, Oct. 10, 1950.
- 86) Hoffmann-La Roche & Co. Hydrophenanthrene Compounds.
Swiss. 252 755, Oct. 16, 1948).
- 87) Schnider, O. and Hellerbach, J. (to Hoffmann-La Roche & Co.)
Synthesis of Morphinans II.
Helv. Chim. Acta 33, 1437 (1950).
- 88) Hoffmann-La Roche & Co. 3-Hydroxy-N-Methylmorphinan.
Swiss. 280 674, Jun. 3, 1952.
- 89) Henecka, H. Neve Synthesen in der Morphinanreihe.
Just. Lieb. ann. Chem. 583, 110-28 (1953).
- 90) Henecka, H. (to Farbenfabriken Beayer). 3-Hydroxy-N-methyl-
morphinans.
Ger. 904 176, Feb. 15, 1954.
- 91) Hoffmann-La Roche & Co. Morphinan Derivatives and Salt
Thereof.
Brit. 685 634, Jun. 7, 1953.
- 92) Schnider, O. and Grüssner, A. (to Hoffmann-La Roche Inc.)
Piperidophenanthrene Derivatives.
US 2 524 856, Oct. 10, 1950.
- 93) Gates, M. and Webb, W. G. The Synthesis and Resolution of
3-Hydroxy-N-methylmorphinan.
J. Am. Chem., Soc. 80, 1186-94 (1958).
- 94) Hoffmann-La Roche & Co. (to Roche Products Ltd.) 3-hydroxy
and 3-Methoxy-N-methylmorphinans.
Brit. 684 367, Dic. 17, 1952.
- 95) Hoffmann-La Roche & Co. (+)-3-Hydroxy-N-methylmorphinan.
Swiss. 297 196, May. 17, 1954.
- 96) Schnider, O. und Grüssner, A. (F. Hoffmann-La Roche & Co.)
Hydroxymorphinanes III. 3-Hydroxymorphinanes Optically
Actives.
Helv. Chim. Acta. 34, 2215-17 (1951).
- 97) Meyers, A. I. and Bailey, T. R. An Asymmetric Synthesis of
(+)-Morphinans in High Enantiomeric Purity.
J. Org. Chem. 51, 872-5 (1986).
- 98) Sawa, Y. K.; Tsuji, N. and Maeda, S. Elimination of the
4-hydroxyl Group of the Alkaloids related to Morphine-I.
Tet. 15, 144-53 (1961).

- 99) Sokolova, V. N.; Magidson, O. Y. and Dizer, A. E. Preparation of Demorphan.
Med. Prom. SSSR 17(10), 14-16 (1963).
- 100) Kitamura, M.; Hisiao, Y. and Noyory, R. General Asymmetric Synthesis of Benzomorphans and Morphinans Via Enantioselective Hydrogenation.
Tet. Let. 28(41), 4829-32 (1987).
- 101) Brunner, H. (Bailey, T. R., Editor). "The Chemistry of the Metal-Carbon Bond. Chap. 4 Enantioselective Synthesis with Optically Active Transition Metal Catalysts".
New York. 1989.
- 102) Grewe, R. et. al. Naturwissenschaften 33, 333 (1946).
- 103) Grewe, R. and Mondon, A. Chem. Ber. 81, 279 (1948).
- 104) U.S. Pharmacopeia National Formulary; U.S.P. XIX (1975).
- 105) Cantwell, F. F. and Hussain, Y. M. Photometric acid-Base Titrations in the Presence of an Immiscible Solvent.
Anal. Chem. 51(2), 218-23 (1979).
- 106) Guttenderff, R. J. et. al. Simplified Phenotyping with Dextromethorphan by Thin-Layer Chromatography: Application Clinical Laboratory Screening for deficiencies in oxidative Drug Metabolism.
Ther Drug Monit. 10(4), 490-8 (1988).
- 107) Harrison, A. J. and Cook, A. Case History of Drug Addiction and a Thin-Layer Chromatographic System for the Separation and Identification of Some Drugs of Addiction in Sub-Microgram Amounts.
J. Forensic Sci. Soc. 9(3-4), 165-7 (1969).
- 108) Kaista, K. K.; Tadrus, R. and Janda, R. Simultaneous Detection of a Wide Variety of Commonly abused Drugs in a Urine Screening Program Using Thin-Layer Identification Techniques.
J. Chrom. 107, 359-79 (1975).
- 109) Partridge, S. M. and Swain, T. Nature. 166, 272 (1950).
- 110) Blackburn, S. J. Biochem. 48, 126 (1951).
- 111) Fenix, K.; Krekels, A. Physiol. Chem. 290, 78 (1951).
- 112) Mc Farren, E. F. Anal. Chem. 23, 168 (1951).
- 113) Carles, J. E. and Woodhead, H. B. Nature 168, 203 (1951).
- 114) Brossi, A. Häfliger, O. and Schnider, O. Hydroxymorphinan VI. Paper Chromatography of Derivatives and Study of Their Excretion in the Dog.
Arzneim.-Forsch. 5, 62-6 (1955).

- 115) Schmall, M.; Wollish, E. G. and Shafer, E. G. E. Chromatography of Organic Bases on Multibuffered Paper. *Anal. Chem.* 28(9), 1373-6 (1956).
- 116) Fisher, R. and Otterbeck, N. Recognition of Analgesic Substances (Opium alkaloids their derivatives and synthetic substances) by test Tube Chromatography. *Sci. Pharm.* 25, 242-8 (1957).
- 117) Hishita, C. and Laubach, R. G. *J. Pharm Sci.* 58, 745 (1969).
- 118) Bernhart, J. W. and Mussad, E. N. Determination of dextromethorphan in Serum by Gas Chromatography. *J. Chrom.* 163, 340-5 (1979).
- 119) Mario, E. and Meehan, L. G. Simultaneous determination of Nonderivatized Phenylpropanolamine, Glyceryl Guaiacolate, Chloropheniramine and Dextromethorphan by Gas Chromatography. *J. Pharm. Sci.* 59(4), 538-40 (1970).
- 120) Chen, Lain-Shyh Gas Chromatographic Analysis Part 2. Simple Analytical Method for Anticough Preparations. *Tai-wan Yao Hsueh Tsa Chih.* 29(1-2), 7-14 (1977).
- 121) Geobbeler, K. H. Quantitative Gas Chromatographic Simultaneous determination of Dextromethorphan, Chlorpheniramide, Norephedrina and Salicylamide from Tablets. *Deut. Apoth. Ztg.* 111(35), 1291-2 (1971).
- 122) Degkwits, R. *Nervenarzt.* 35, 412 (1964).
- 123) Furlanut, M.; Cima, L.; Bonatello, P. and Giusti, P. Gas-Liquid Chromatographic determination of Dextromethorphan in Serum and Brain. *J. Chrom.* 140, 270-4 (1977).
- 124) Bauman, P. and Jonzier-Perey, M. GC and GC-MS Procedures for Simultaneous Phenotyping with Dextromethorphan and Mephentoin. *Clim. Chim. Acta* 171(2-3), 211-22 (1988).
- 125) Tatzuzawa, M.; Yamamiya, T.; Ejima, A. and Takai, N. determination of Antitussive, Expectorant and Antihistaminic Compounds in Anti-Cold Preparation by High-Speed Liquid Chromatography Using New Copolymer Tipe Paking Materials. *Benseki Kagaku* 27(12), 753-8 (1979).
- 126) Manz, A. and Jacin, H. The Quantitative Determination of Dextromethorphan Hydrobromide in Cough Remedies by High Precision Liquid Chromatography (HPLC). *Liq. Chromatogr. Anal. Food Beverages* 2, 397-409 (1979).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 127) Chao, M. K.; Holcomb, I. J. and Fusari, S. A.
J. Pharm. Sci. 68(11), 1467-4 (1979).
- 128) Halstead, G. W. determination of Amine Ingredients in Cough-Cold liquids by Reversed-Phase Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatography.
J. Pharm. Sci. 71(10), 1108-12 (1982).
- 129) Mc Sharry, W. O. and Savage, I. V. E. Simultaneous High-Pressure liquid Chromatographic determination of Acetaminophen, Guaiphenosin and Dextromethorphan Hydrobromide in Cough Syrup.
J. Pharm. Sci. 69(2), 212-14 (1980).
- 130) Gibbs, V. and Zaidi, Z. Evaluation of High-Performance liquid Chromatography for Quantitation of Dextromethorphan Hydrobromide in Cough Cold Syrup Preparations.
J. Pharm. Sci. 73(9), 1248-51 (1984).
- 131) Motassim, N.; Decolin, D. et. al. Direct determination of Dextromethorphan and its Three Metabolites in Urine by High-Performance Liquid Chromatography Using a Precolumn Switching System for Sample Clean-Up.
J. Chromatogr. 422, 340-5 (1987).
- 132) Tsun, M. C.; Joette, R. P. and Daly, R. E. High-Pressure Liquid Chromatographic Assay of Dextromethorphan Hydrobromide, Guaiphenosin and Sodium Benzoate in an Expectorant Syrup.
J. Chrom. Sci. 26, 636-9 (1988).
- 133) Caude, M. and Le Xuan, P. Analysis of Pharmaceutical Associated in various Formulations by High-Speed Liquid Chromatography.
Chromatographia 9(1), 20-9 (1976).
- 134) Baker, J. K.; Skelton, R. E. and Cheng-Yu Ma. Identification of Drugs by High-Pressure Liquid Chromatography with Dual Wavelength Ultraviolet Detection.
J. Chrom. 168, 417-27 (1979).
- 135) Kubiak, E. J. and Munson, J. W. Determination of Dextromethorphan Hydrobromide by High Performance Liquid Chromatography Using Ion-Pair Formation.
J. Pharm. Sci. 69(12), 1380-4 (1980).
- 136) Formilo, C. G. and Levi, L. Physical Methods for the Identification of Narcotics III A-B. Ultraviolet Spectrophotometric Method.
Bull. Narcotics U.N. Dept. Social Affairs 6(3-4), 18-70(1954).

- 137) Slek, T. J. et. al. Identification of Drugs and Other Toxic Compounds from Their Ultraviolet Spectra. Part III: Ultraviolet Absortion Properties of 22 Structural Groups. J. Forensic Sci. 21(3), 525-51 (1976).
- 138) Pluchino, R. Nuevo Método Para el Control del Bromhidrato de Dextrometorfán y del Maleato de Clorofeniramina en Análisis Farmacéutico por Espectrofotometria Ultravioleta Previa Separación por Cromatografía de Capa Fina. Rev. Fac. Farm., Univ. Cent. Venez. 29, 31-55 (1974).
- 139) Pan, T. C. Studies on the Detection Methyods Devised for Identifying Compounds Added to Chinase Folk Medicine VI. Detection of Antihistaminics, Antitussives and Caffeine Added to The Folk Medicine Pei-Pa Syrup. T'ai-wan K'o Hsueh 33(1), 41-4 (1979).
- 140) Tan, H. S. I. and Salvador, G. C. Difference Spectrophotometric assay of Mixtures of Phenylpropanolamine Hydrochloride with Guaiphenosin or Dextromethorphan Hydrobromide in Solid Cough Formulations. Anal. Chem. Acta 176, 71-6 (1985).
- 141) Jones, R.; Orchard, M. J. and Hall, K. The Use of Derivative and Least-Squares Methods to analyze a Polypharmaceutical Product by UV Spectrophotometry. J. Pharm. Biomed. anal. 3(4), 335-42 (1985).
- 142) Waltha, J. C.; Thomas, J. N. and Galen, R. W. Simultaneous Determination of Pseudoephedrina Hydrichloride, Chloropheniramide and Dextromethorphan Hydrobromide by Second-Derivative Photodiode Array Spectroscopy. J. Pharm. Sci. 77(8), 715-8 (1988).
- 143) Thomson, W. E.; Warren, R. J. et. al. Identification of Primary, Secondary and Tertiary Pharmaceutical Amines by the Infrared Spectra of Their Salts. J. Pharm. Sci. 54(12), 1819-21 (1965).