

RECIBO DE ENTREGA DE TESIS
LIBRERIA AT 1 201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores
"CUAUTITLAN"

"SINTESIS E IDENTIFICACION DE TALIDOMIDA Y ESTABLECIMIENTO DE CONDICIONES PARA SU VALORACION"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N

Pascual Rojas Hernández
Rocío Anabell Martínez Rodríguez

Director de Tesis: M. C. VICENTE ALONSO PEREZ





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.

CONTENIDO

	Página
I INTRODUCCION	1
II OBJETIVOS	6
III GENERALIDADES	7
1. Monografía del fármaco	7
1.1 Nombre común	7
1.2 Nombre químico	7
1.3 Fórmula y peso molecular	7
1.4 Apariencia, color y sabor	7
1.5 Solubilidad	7
1.6 Punto de fusión	8
1.7 Propiedades espectroscópicas	8
1.8 Degradación y estabilidad	12
1.9 Síntesis	12
2. Farmacología	16
2.1 Propiedades farmacológicas	16
2.2 Interacción con drogas	17
2.3 Mecanismo de acción	18
2.4 Farmacocinética y metabolismo	18
2.5 Usos terapéuticos y toxicidad clínica	20
2.6 Preparados, dosis y vías de administración	21
3. Validación	23
3.1 Especificidad	23

		Página
	3.2 Linearidad	23
	3.3 Precisión	24
	3.4 Reproducibilidad	24
	3.5 Exactitud	24
IV	PARTE EXPERIMENTAL	26
	1. Equipo, materiales y reactivos	26
	2. Desarrollo	28
	2.1 Síntesis	28
	2.2 Determinación de propiedades físicoquímicas	29
	2.3 Método espectrofotométrico UV	31
	2.4 Validación del método espectrofoto- métrico UV	31
V	RESULTADOS	33
VI	DISCUSION	62
VII	CONCLUSIONES	65
VIII	BIBLIOGRAFIA	67

I INTRODUCCION

La necesidad de establecer las condiciones para valorar la talidomida, es la de emplearla adecuadamente debido a la eficacia que presenta en la actualidad al utilizarla en pacientes -- con reacciones leprosas (1) .

Esta reacción es impredecible y el desconocimiento de su etiopatogénia ha evitado contar con recursos efectivos contra los síntomas tan molestos que se presentan. En realidad los recursos terapéuticos de que se disponen para el tratamiento sobre la reacción leprosa no han tenido bases científicas y se han usado por años en forma empírica y poco a poco han ido evolucionando como se ha hecho últimamente con la talidomida (2).

A partir de 1966 el Dr. Jacobo Sheskin (3) emplea la talidomida en la terapéutica de la leproreacción, dando así a conocer los efectos milagrosos de está y en 1967 empieza a utilizar se nuevamente constatando los rápidos y efectivos resultados para la reacción leprosa de los casos lepromatosos. Una observación importante y que habría que hacer notar es lo referente a que la talidomida a partir de 1973 va incrementando su interés en el campo de la investigación dermatológica, al descubrir que este fármaco también puede ser utilizado con eficacia para el tratamiento de otras enfermedades.

Londoño, F. y Canan (4) en 1973 prueban la talidomida en el prurigo solar obteniendo excelentes resultados; para 1977 - Eravelly (5) y colaboradores reportaron una enfermedad conocida como Weben-Christian que cede con el uso de talidomida; últimamente se ha utilizado en otras enfermedades tales como hipertiroidismo, trastornos gástricos, asma bronquial y epilepsia -- con resultados variables.

Por otro lado, la talidomida estimula la adopción de medidas estrictas para el ensayo de nuevos medicamentos, también - dirige la atención hacia el potencial teratogéno de otros fármacos empleados durante el embarazo. Los médicos en la actualidad son más cautos en el empleo de toda clase de medicamentos durante el primer trimestre de embarazo; en una palabra la talidomida ha marcado la pauta para un mejor manejo en la administración de otros medicamentos (6) .

Por tal motivo nos inclinamos aún más a su estudio ya que contra lo que se cree y en base a los informes oficiales, no - hay menos lepra en México, sino más cada día; se descubren nuevos enfermos tanto en el Instituto Dermatológico Pascua (7) en la Ciudad de México y aún en las unidades móviles existentes - en circulación. Por lo que es necesario continuar las investigaciones sobre el uso terapéutico de la talidomida en la -- reacción leprosa con el objeto de poder incluirse nuevamente - en el cuadro básico de medicamentos, ya que resulta eficaz en un 91.76 % de los casos obtenidos a la fecha (8) .

Los dos únicos inconvenientes que presenta son que no es fácil administrarla a mujeres en edad de concebir sin el peligro de sus efectos teratógenos y que tampoco es fácil obtenerla porque su uso está limitado (1) .

En 1961 se reportó (9) que la talidomida provoca efectos teratogénicos por lo que se retiró del mercado a finales de ese año; en base a esto y en vista de la importancia actual del fármaco, el presente trabajo se concreta a la síntesis, identificación y establecimiento de condiciones para su valoración como materia prima y así enriquecer el estudio de la talidomida en el área químico analítica, debido a que en las referencias oficiales no se reportan métodos para efectuar su valoración.

El método de síntesis a seguir es con modificaciones de ciertas variables, sobre todo en el aspecto de los reactivos a utilizar ya que se trata de encontrar una vía alterna para la obtención de la talidomida con características y especificaciones adecuadas. La importancia del método de síntesis empleado es la obtención de productos intermedios de reacción como el ácido anhídrido N-ftalil glutámico (reactivo de importación), que es el reaccionante principal en la síntesis de talidomida.

Una vez sintetizada la talidomida se siguen los pasos necesarios para llevar a cabo la identificación de la materia prima. Entre los pasos generales para conocer el compuesto esta la determinación del peso y fórmula molecular; así como la detección de la presencia o ausencia de sus grupos funcionales; siendo --

los instrumentos más utilizados para identificar su estructura molecular los espectros, como el Infrarojo (IR) y el de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) (10) .

El espectro IR, se considera como la propiedad del compuesto que da más información acerca de su estructura, por ser indispensable en la investigación, análisis químico o el control de calidad. En los últimos 40 años el espectro IR es aceptado como una constante física más del compuesto en cuestión (11) .

La RMN ayuda al estudio de la estructura y conformación de la molécula del producto sintetizado, la proporcionalidad directa entre intensidades integradas y número de protones en la muestra significa que se puede utilizar la RMN como una técnica analítica cuantitativa (12) .

Otra propiedad empleada para llevar a cabo la identificación de la materia prima es el espectro de masas, que se utiliza como prueba confirmadora de identidad.

Por otro lado, a la fecha, los conceptos de Control Total de Calidad, de Validación y la normativa Internacional sobre Prácticas Correctas de Manufactura son, sin lugar a dudas, herramientas que nos permiten conocer mejor nuestros productos y los factores que afectan su calidad y esto nos lleva a lograr que el producto elaborado cumpla con características de calidad apropiadas.

Validar un determinado proceso significa comprobar, a través de un procedimiento formal y documentado que, en condiciones

preestablecidas y con todos los parámetros significativos bajo control, se obtiene un producto de calidad diseñada, por lo que se considera importante desarrollar una metodología específica para el producto que se desea validar (13) .

Por lo tanto, tomando en cuenta las propiedades del fármaco, su metabolismo, biodisponibilidad, farmacocinética y otros aspectos de importancia se considera para llevar a cabo su valoración el método espectrofotométrico ultravioleta que proporciona rapidez y buenos resultados para la determinación de la talidomida. En 1961 Green y Benson (14) describen un método espectrofotométrico ultravioleta para evaluar la talidomida.

Así, con lo expuesto y las investigaciones bibliográficas con que se cuenta se inicia una etapa importante dentro del análisis del fármaco, con el fin de incrementar su interés y control .

II OBJETIVOS

- a) Sintetizar la talidomida con la modificación de algunas variables de los procesos de producción establecidos.

- b) Identificar la materia prima mediante la evaluación de sus propiedades fisicoquímicas como: Solubilidad, Humedad, Punto de Fusión, Cromatografía en Capa Fina, Espectro Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear y Espectro de Masas.

- c) Establecer las condiciones para valorar la talidomida como materia prima.

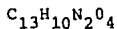
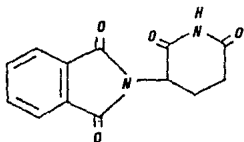
III GENERALIDADES

1. MONOGRAFIA DEL FARMACO

1.1 Nombre común : Talidomida

1.2 Nombre químico : 2-ftalimido glutarimida; 2-(2,6 di--
3-piperidinil)-1H-Isoindol-1,3(2H)-diona; N(2,5-dioxo-3-piperi-
dil) Ftalimida; 2,6-dioxo-3-ftalimido piperidina; N-ftalil --
glutarimida; Imida del ácido N-ftalil glutámico. En el Chemi -
cal Abstract: 1H-Isoindol-1,3(2H) diona, 2-(2,6-dioxo-piperidi-
nil) 50-35-1 .

1.3 Fórmula y peso molecular (PM) :



PM : 258.26 g/mol

1.4 Apariencia, color y sabor : Polvo cristalino blanco
que cristaliza en forma de agujas, insípido.

1.5 Solubilidad : En la Tabla No. 1 se reportan las solu-
bilidades para la talidomida .

Solvente	Clarke (15)	Index Merck (16)
Agua	Ligeramente soluble	Poco soluble
Dimetilformamida	---	Muy soluble
Metanol	---	Poco soluble
Etanol	Ligeramente soluble	Poco soluble
Cloroformo	Prácticamente insoluble	Insoluble
Eter	Prácticamente insoluble	Insoluble

TABLA No. 1

Solubilidad de Talidomida en diferentes solventes

1.6 Intervalo de fusión : De 269 - 271°C

1.7 Propiedades espectroscópicas:

a) Espectro Ultravioleta (UV) : El espectro de absorción - UV de talidomida en HCl 0.1 N exhibe máximos a 220 nm y 299 nm y la concentración de talidomida puede medirse con alta sensibilidad usando el primero de estos dos picos donde $E (1\%, 1\text{cm}) = 1.950$. En etanol absoluto el espectro muestra cambios menores, la longitud de onda máxima aparece a 218 nm ($E, 1\%, 1\text{cm} = 2.010$) y 292.5 nm. Cuando soluciones de talidomida en cualquiera de los dos solventes son tratadas con alcali, resulta una -- disminución en su coeficiente de extinción; esta disminución -- es proporcional a la concentración de talidomida presente y --

provee una base para un ensayo de esta sustancia (14) .

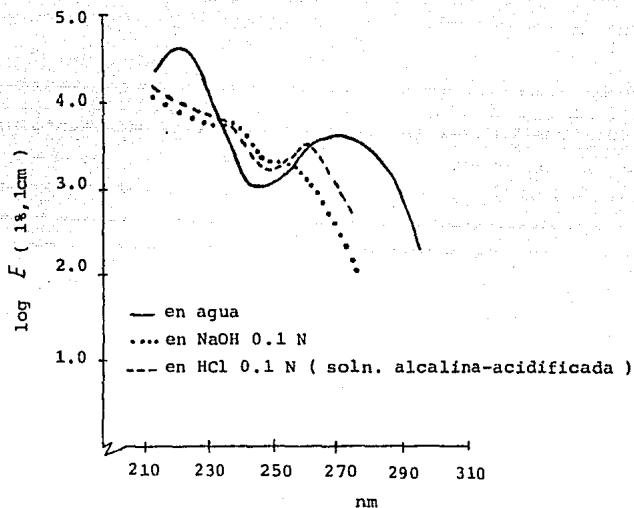


FIGURA No. 1

Espectro UV de la talidomida (17)

b) Espectro Infrarrojo (IR) : Los principales picos se presentan a los números de onda de : 1681, 727, 1205, 1250, --- 1316, 1110 cuando las muestras se preparan en Nujol (15).

En la Figura No. 2 se presenta el espectro IR de talidomida en Bromuro de Potásio (KBr) y en la Figura No. 3 el espectro IR de talidomida en Nujol.

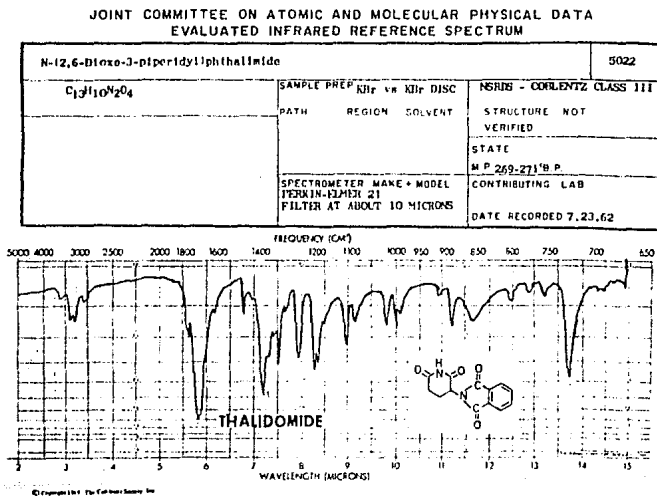
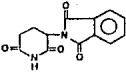
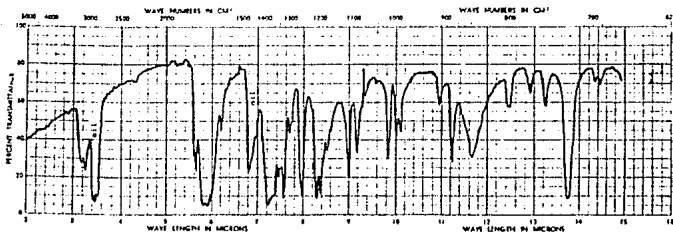


FIGURA No. 2

Espectro IR de Talidomida en KBr

JOINT COMMITTEE ON ATOMIC AND MOLECULAR PHYSICAL DATA
EVALUATED INFRARED REFERENCE SPECTRUM

N-(2,6-Dioxo-3-piperidyl)phthalimide TALIDOMIDE			7984	
C ₁₃ H ₁₀ N ₂ O ₄		PREP. Nujol mull	NSRDS-COBLENTZ CLASS III	
		PATH	REGION	SOLVENT
		(See 5072 for details)		
		SPECTROMETER	CONTRIBUTOR	
		Perkin-Elmer 21	Smith, Kline & French	
		NaCl prism	DATE RECORDED 8.27.57	



© December 1974, The Oxford Group, Inc.

FIGURA No. 3

Espectro IR de Talidomida en Nujol

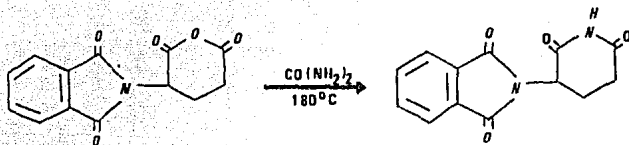
c) Espectro de Masas : Los principales picos a m/z para -
la talidomida son a : 76, 173, 104, 111, 148, 50, 169, 130 (15).

1.8 Degradación y estabilidad : En estudios realizados - (18) en la fórmula de la talidomida se ha encontrado que esta - da origen a productos de hidrólisis. La hidrólisis del anillo - ftalimídico puede ser determinada espectrofotométricamente; la apertura del anillo es seguida de una caída en extinción a 220 nm que es proporcional a la cantidad hidrolizada.

En experimentos realizados a diferentes pHs, se ha encontrado que la talidomida es estable en soluciones a pH muy por - debajo de 6.0; con valores superiores a pH 6.0 ésta se hidroliza espontáneamente y el grado y la velocidad de hidrólisis aumenta al aumentar el pH.

1.9 Síntesis : Un método para la obtención de derivados - de piperidinediona es el tratamiento de los anhídridos cíclicos correspondientes por fusión con urea. Usualmente para la obtención de talidomida 0.1 mol de anhídrido N-ftalil glutámico es - completamente mezclado con 0.05 mol de urea y calentado a 180°C.

La mezcla de reacción es mantenida a esta temperatura hasta detenerse el desprendimiento de CO₂; después de enfriarse el producto es recristalizado con ácido acético glacial o dioxano (19) . En la Figura No. 4 se muestra la síntesis de talidomida por este método.



Anhídrido N-ftalil
glutámico

Talidomida

FIGURA No. 4

Síntesis de Talidomida

Sabiniewicz, S. (20) propone la síntesis de la talidomida en dos etapas :

Etapa 1) 5.2 g de ácido anhídrido d,l - N-ftalil glutámico es disuelto en 5 ml de hidróxido de amonio al 26 % a 5°C y - mantenido en estas condiciones por 20 minutos; la solución formada es acidificada con HCl concentrado a pH 3.0; posteriormente se adicionan 3.5 ml de agua y 0.5 g de carbón activado formando una masa que se calienta a ebullición y se filtra.

En esta etapa se obtienen cristales que corresponden a la γ - amida del ácido dl - N-ftalil glutámico, los cristales son lavados con agua; el rendimiento es de 2.6 g equivalente al -- 46.8 % con un punto de fusión de 194-195°C .

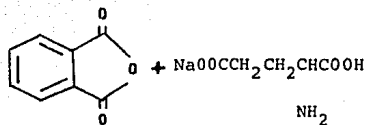
Etapa 2) 7.65 g de la γ - amida del ácido dl -N-ftalil glutámico se funden a 200°C, se enfria a 120°C y entonces son - adicionados 40 ml de ciclohexanona formandose una masa que se - calienta hasta ebullición. Se adicionan 0.5 g de carbón activa- do y se calienta por algunos minutos; la masa es filtrada, el - producto obtenido es lavado con metanol.

El rendimiento de talidomida en esta etapa es de 3.9 g --- equivalente al 55 % y el punto de fusión de 270-271°C.

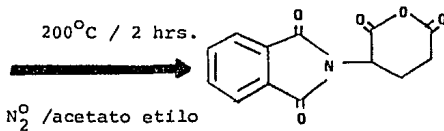
La Chemical Grünenthal de Alemania establece que la talido- mida es preparada por condensación alifática de ácidos dicarbo- xilicos con urea para la obtención de productos cíclicos (21) .

En la Figura No. 5 se muestra el proceso de síntesis propuesto por la Chemical Grünenthal a partir de glutamato de sodio y -- anhídrido ftálico como una primera etapa para la obtención de - talidomida.

Etapa 1)

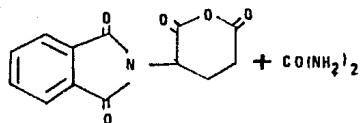


Anhídrido Ftálico Glutamato de sodio

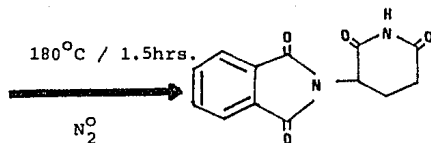


Acido ftalil glutámico

Etapa 2)



Acido ftalil glutámico Urea
P.f. 180°C



Talidomida
P.f. 269-271°C

FIGURA No. 5

Síntesis de Talidomida (21)

2. FARMACOLOGIA

La talidomida es considerada como hipnótico del grupo de las piperindiona con acción semejante a los barbitúricos.

2.1 Propiedades farmacológicas : La talidomida es una sustancia que inicialmente fue empleada en la terapéutica como un sedante hipnótico y tranquilizante; al inicio de las investigaciones sobre sus propiedades farmacológicas se encontró que este fármaco no produce efectos tóxicos cuando se administra oralmente a animales en dosis masivas. A nivel experimental, la talidomida produce con dosis elevadas (5g/kg) depresión del sistema nervioso central (SNC) (22) que se manifiesta principalmente por una disminución de la actividad motora; a diferencia de los barbitúricos, la talidomida no causa una excitación inicial en el ratón, incoordinación o narcosis. Esta potencializa la acción de otros depresores del SNC y antagoniza a los estimulantes cerebrales; la acción potencializada de la talidomida en combinación con otros fármacos de actividad central no es universal, pero asegura una potencialización de actividad central.

El más destacado efecto farmacológico en animales es la potencialización de una certera inducción del fármaco causante de efectos calmantes, por lo que otros aspectos farmacológicos no pueden explicar esta potencia como una inducción de agentes del sueño en humanos. Por estas hipótesis, se asume que el cambio de insomnio por sueño es asociado con la presencia de algunos endógenos o de sustancia metabólicas; esta teoría explica las

grandes dosis de talidomida que producen solamente una depresión limitada.

Debe tomarse en cuenta que los sedantes - hipnóticos y aún los tranquilizantes usuales en dosis adecuadas producen la pérdida de los reflejos derechos de los animales; ahora bien, la talidomida es de gran interés farmacológico porque carece de este efecto en los animales de laboratorio pero es sin embargo, un agente inductor del sueño efectivo en el hombre con una potencia comparable a los barbitúricos de acción corta (23) .

En estudios recientes se le atribuye a la talidomida una acción antiinflamatoria a nivel del lóbulo anterior de la hipófisis y estimulación por aumento de Hormona adrenocorticotrófica (ACTH) de la producción cortical de esteroides. Roath y colaboradores apoyan la teoría de una acción inmunosupresora al observar que este medicamento inhibe la transformación blástica de linfocitos (24) .

2.2 Interacción con drogas :

a) Combinación con analgésicos : Se reporta que la talidomida potencializa las propiedades analgésicas de la Aspirina -- Fenacetina - Cafeína en animales. Demostrando que la talidomida no altera significativamente la actividad analgésica de la morfina o codeína en el ratón .

b) Combinación con anticonvulsivantes : En combinación -- con anticonvulsivantes, la talidomida no tiene actividad potencial anticonvulsivante pero un dato sobre difenilhidantoína ---

ilustra que la potencialización es independiente sobre la dosis de talidomida, con 100 mg/kg de talidomida el efecto anticonvulsivante es potencializado con un factor de 2.3 .

c) Combinación con antipsicóticos : El efecto depresor de la clorpromazina se potencializa con la talidomida, con una no significativa alteración de estos efectos sobre la anulación condicional de la respuesta (23) .

2.3 Mecanismo de acción :

a) Se han llevado a cabo estudios experimentales (en ratas o enfermos de lepra) que han demostrado que la acción de la talidomida reside en la síntesis de anticuerpos IgM (25) .

b) Morales y Shannod se refieren a la acción antiinflamatoria y exponen que el fármaco inhibe la quimiotaxis de los neutrófilos humanos " in vitro " en respuesta a factores quimiotácticos (7).

c) En la supresión de la reacción leprosa la talidomida - inhibe probablemente el mecanismo inmunológico o bien produce la estabilización de los lisosomas (25) .

2.4 Farmacocinética y metabolismo : La talidomida se absorbe en el intestino y pasa a la sangre donde alcanza su máximo nivel sanguíneo a las 4 horas, se metaboliza en el hígado y se elimina después de las 24 horas en su mayor parte por la orina (68%), en forma de metabolitos (98%) y en menos cantidad -- por las heces (10.5%) (24) .

Cuando se administra oralmente a ratas el nivel máximo en

sangre se da a los 15 minutos después de su administración, -- indicativo de una rápida absorción del tracto gastrointestinal, mientras que en el cerebro la concentración máxima ocurre entre 30 - 60 minutos; se ha comprobado que la talidomida no se acumula en ningún órgano o sistema .

Estudios sobre su metabolismo han demostrado que la talidomida suministrada al hombre o a los animales de laboratorio da origen a productos metabólicos y sólo una parte de esta se elimina inalterada con la orina y las heces .

De la orina de conejos tratados con talidomida se aislaron en forma cristalina 12 metabolitos junto con una pequeña cantidad de talidomida; mediante extracciones con solventes, cromatografía en columna y capa fina de alumina. La orina de estos -- animales contenían también una serie de compuestos que son probablemente derivados de los ácidos 3 y 4 hidroxiftálicos .

El encuentro en la orina de todos los productos posibles - de hidrólisis de la talidomida sugieren que se pueden formar - por hidrólisis espontánea, la presencia de ciertos metabolitos en la orina depende de su valor de pH. Por ejemplo en la orina de animales cuyo pH es mayor de 7.0 (conejo, cuyo y ratón) -- contienen en mayor concentración respecto de otros productos de hidrólisis el ácido 4-ftalimido glutarámico, mientras que en ratas cuyo pH es inferior a 7.0 elimina principalmente la α -(carboxibenzamido) glutarimida, al igual que en la orina de perro, mientras que en el hombre es el ácido 4-ftalimido glutarámico -

(18). Los metabolitos de la talidomida pueden actuar como antagonistas vitamínicos o antimetabolitos; de sus metabolitos, el α - amino glutarimida es el único que tiene propiedades sedativas e hipnóticas como la talidomida .

Los metabolitos de la talidomida son derivados del ácido D-glutámico en lugar de la forma L-natural; un metabolito, el ácido N-(o-carboxibenzoil) glutámico es similar al ácido fólico; los metabolitos de la talidomida pueden actuar como antagonistas del ácido fólico y pueden ser usados como antineoplásicos (26) .

2.5 Usos terapéuticos y toxicidad clínica : La talidomida tiene utilidad en el manejo del eritema nodoso leproso (ENL), actúa sobre dos de los signos principales de esta enfermedad, la fiebre y las lesiones de la piel; la dosis se ajusta para aliviar las molestias intensas pero no para eliminar todo signo de reacción. Siendo la talidomida más apropiada que los corticosteroides y en dosis apropiadas pueden suprimir completamente el ENL, por lo que presenta un avance en el manejo del ENL (27).

En 1965 también se le usó como agente inmunosupresor dado que Hellan, Duke y Tucker observaron en ratas que la talidomida aumenta el tiempo de sobrevivencia de injertos de piel y se evita el " rechazo " a órganos transplantados (24) .

En 1973 Londoño y Calnan (4) prueban este fármaco en el prurigo solar y lupus eritematoso crónico obteniendo excelentes resultados. Basados en el hecho de que existen otras ----

enfermedades de tipo inmunológico aún no bien conocidas.

En el tratamiento con talidomida se requiere una vigilancia constante del paciente para juzgar correctamente la dosis y evitar reacciones tóxicas serias. No hay efectos colaterales -- importantes, se ha constatado constipación, somnolencia, prurito, náusea, sequedad de mucosa oral y nasal, edema, inapetencia y una leucopenia inicial transitoria; manifestaciones fugales -- que no requieren la suspensión del fármaco; algunos de estos -- efectos tienden a desaparecer espontáneamente sin suspender el tratamiento semanas o meses después .

A pesar de su potencia hipnótica su toxicidad es tan baja que sería imposible suicidarse tomando este fármaco dado su margen de seguridad, asociado con una baja incidencia de efectos -- producidos de una restringida disponibilidad del fármaco; utilizando dosis de hasta 210 mg en total, únicamente se ha presentado sueño (6,28) . Se ha especulado que su falta de toxicidad es asociada con su absorción limitada dada la insolubilidad de esta en agua (29) .

Christian y Sellen fallaron en la reproducción de los --- efectos teratógenicos de la talidomida en animales y se comprobó la dificultad en que se encuentra la teratología experimental; -- por las diferentes respuestas aún en una misma especie.

2.6 Preparados, dosis y vías de administración : La talidomida se presenta en tabletas ranuradas conteniendo 100 mg de N-ftalil glutarimida en frasco con 100 tabletas (30); este ---

medicamento es de importación por lo que su uso se encuentra li
mitado (25) .

Aunque la dosis oral diaria común es de 50 mg en niños y -
de 100 mg en adultos, nuevos conceptos terapéuticos incluyen --
una dosis inicial de 200-300 mg (tabletas de 100 mg) al día -
(en 1 ó 2 tomas) como dosis de inicio y de 25 ó 50 mg al día
como dosis de mantenimiento sobre todo en pacientes con reaccion
es subintrates (2); en casos especiales la dosis es de 400-500
mg en 24 horas (30) .

Se puede administrar por años sin interrumpir la terapia -
antileprosa específica con diamino difenil sulfona (DDS), --
otras veces se puede suspender la administración de talidomida
sin que haya recaídas (25) .

En el prúriga solar se recomienda una dosis de 100-300 mg
en una o dos tomas oral.

3. VALIDACION

Una vez que se desarrolla una técnica analítica, es común que el analista fundamente la linealidad, precisión y exactitud del método, por medio de reglas o condiciones establecidas para asegurar la garantía de los resultados que se obtengan con el mencionado método, es decir debe validarse.

Sin embargo, no hay un conjunto bien definido de reglas o condiciones de validación; tomaremos los siguientes puntos de validación como los más adecuados y mínimos aceptables para la validación de un método analítico para materia prima por espectroscopía ultravioleta.

3.1 Especificidad

Se denomina especificidad a la medición debida sólo a la sustancia que es determinada y no a otra u otras sustancias que interfieren en el análisis, como son los productos de degradación y sustancias relacionadas con el proceso de fabricación.

3.2 Linealidad

La linealidad es otra medida de la especificidad, esto es, el método debe dar resultados que presenten un comportamiento lineal. La estimación de la linealidad, se obtiene haciendo un gráfico de cantidad determinada contra cantidad adicionada y calculando los siguientes parámetros :

- 1.- Pendiente : La recta de regresión de los datos obtenidos debe tener pendiente de ≈ 1.0

- 2.- Ordenada al origen : La misma recta anterior debe tener su ordenada al origen de ≈ 0.0
- 3.- Factor de correlación : La misma recta de regresión anterior, debe tener un factor de correlación de ≈ 1.0
- 4.- Cada grupo de datos (o cada nivel de concentración) deberá tener un coeficiente de variación de no más de 1.5 % .

Nota :

$$\text{Coeficiente de variación} = \frac{\text{Desv. Std. (DS)}}{\bar{X}} \times 100$$

3.3 Precisión

Se determina empleando una sustancia de referencia; los resultados no varían bajo las mismas condiciones y equipo. El coeficiente de variación (C.V) no debe ser mayor de 1.5 % .

3.4 Reproducibilidad

Es el grado de concordancia mutua entre los resultados individuales; se expresa principalmente como la desviación estándar relativa o C.V que no deberá ser mayor de 2.0 %.

Será determinada con no menos de seis análisis por día, al nivel del 100 % por duplicado empleando el método con dos analistas.

3.5 Exactitud

Es una medida de la concordancia promedio entre un determinado valor experimental y el valor de referencia (muy próximo al 100 %), obtenido al aplicar el método sobre muestras del --

fármaco en presencia de excipientes adecuados. Se acostumbra -- determinar la exactitud aplicando el método en muestras del fármaco a niveles del 80, 100 y 120 % de la cantidad etiquetada, - seis veces cada nivel, y cada una de ellas por duplicado. Cada conjunto de datos de cada nivel, debe presentar un coeficiente de variación de no más del 2 % .

IV PARTE EXPERIMENTAL

1. EQUIPO, MATERIALES Y REACTIVOS

1.1 Equipo y materiales

- Espectrofotómetro UV / Visible Bausch E Lomb modelo 2000 equipado con graficador y celdas de cuarzo de 1 cm de espesor.
- Espectrofotómetro Infrarrojo Perkin Elmer modelo 1310
- Espectrofotómetro Infrarrojo Perkin Elmer modelo 399 B
- Espectrofotómetro Resonancia Magnética Nuclear Varian -- modelo EM - 390 90 MHz
- Espectrofotómetro de Masas Hewlett Packard modelo 5985 B
- Balanza Analítica Mettler modelo H 15
- Termómetro de 0-400°C marca Taylor
- Placas de vidrio de 10 x 20 cm cubiertas con una suspen--sión de Silicagel GF₂₅₄ (Merck)
- Cámara para cromatografía
- Gabinete oscuro equipado con fuente de luz ultravioleta de 254 nm
- Microjeringa Hamilton de 50 microlitros
- Agitador magnético Solbat
- Tubo de Thiele marca PYREX
- Material de vidrio marca KIMAX y PIREX
- Tanque comercial de nitrógeno de 99 % de pureza (INFRA)

1.2 Reactivos

- Dimetilformamida, Agua destilada, Cloroformo, Eter, Acido Clorhídrico, Acetato de butilo y metanol bajo en acetona grado reactivo (marca J.T. Baker) .
- Acetona, Alcohol Etílico y Aceite de Parafina grado reactivo (marca Merck)
- Bromuro de Potásio reactivo cristal (marca J.T. Baker)
- Hidróxido de sodio lentejas grado reactivo (marca J.T. Baker)
- Dimetil sulfóxido reactivo para espectrofotometria (marca J.T. Baker)
- Nujol grado reactivo (marca Merck)
- Urea grado reactivo (marca J.T. Baker)
- Glutamato de sodio grado reactivo (marca Sigma)

2. DESARROLLO

Se lleva a cabo la síntesis de dos lotes de talidomida y la evaluación de algunas de sus propiedades fisicoquímicas. Se realiza un estudio espectroscópico para confirmar su identidad y asegurar con ello el uso de esta en los estudios realizados - tomando como estándar a uno de los lotes (Lote 2) que cumple satisfactoriamente con las especificaciones reportadas (14, 16, 26, 33) .

2.1 Síntesis : El proceso de síntesis efectuado (21) para la obtención de talidomida se realiza en dos etapas :

Etapas 1) Se pesaron 249 g de glutamato de sodio y 250 g de anhídrido ftálico, la mezcla se calienta a 200°C con agitación constante y burbujeo de nitrógeno manteniendo estas condiciones por 2 horas.

Posteriormente la mezcla de reacción se disuelve en acetato de etilo y se filtra. En esta etapa se obtiene como producto el ácido ftalil glutámico el cual se microniza.

Etapas 2) 277 g de ácido ftalil glutámico se mezclaron - con 60 g de urea, se calienta a 180°C por 1.5 horas con agitación y burbujeo de nitrógeno .

Al término de la reacción se alcanza una temperatura de -- 220-225°C; la mezcla se enfría a 35-40°C. Se recristaliza con una solución hidroalcohólica (2:1) adicionando 0.3 g de carbón activado y se calienta por algunos minutos, la masa es filtrada y el producto es lavado con metanol.

2.2 Determinación de propiedades fisicoquímicas :

a) Solubilidad : Se determinó la solubilidad de la materia prima en agua y etanol a 25°C; para esto se disuelve el sólido hasta saturación a 30°C y se deja enfriar a 25°C, manteniendo la temperatura empleando un baño maria hasta que precipita el exceso de soluto (agitar para favorecer la precipitación) y después de una hora se filtra, desechando las primeras porciones del filtrado. La concentración de soluto en el filtrado se determina por evaporación a sequedad.

b) Humedad : Se pesaron exactamente 100 mg de los dos --- lotes utilizados, se determina la humedad de las muestras empleando el método Karl Fischer.

c) Punto de Fusión : Para la determinación de esta propiedad se empleó el tubo de Thiele.

d) Cromatografía en Capa Fina :

Preparación de la muestra : Se disolvieron 100 mg de la sustancia en 0.3 ml de hidróxido de sodio 1 N y 1.2 ml de metanol.

Soporte empleado : Silicagel GF₂₅₄

Sistema de disolventes : Dimetilformamida - metanol -agua (35 : 60 : 5) .

e) Métodos espectroscópicos :

1.- Espectro Infrarrojo : Se prepararon las pastillas de la siguiente manera :

Lote 1 . Se mezclaron 1.3 mg de sustancia con 260 mg de -- bromuro de potasio .

Lote 2 . Se mezclaron 1.0 mg de sustancia con 250 mg de -- bromuro de potásio.

Se determinó el espectro Infrarrojo (IR) en estas condiciones para ambos lotes. Realizando también la determinación en -- Nujol.

2.- Resonancia Magnética Nuclear : Para la determinación del espectro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) para ambos lotes, se disolvieron 20 mg de sustancia en dimetil sulfóxido deuterado (DMSO_d) .

3.- Espectro de masas : Se emplean 10 mg de sustancia, -- para obtener su espectro, la muestra se funde dentro de la cámara del aparato y se hace incidir sobre esta una energía de 70 - electrovolts (eV) .

4.- Espectroscopía Ultravioleta (UV) : Se determinó la concentración donde se tengan valores entre 0.2-0.8 de absorbancia. Para esto se disolvieron 16 mg de sustancia en 100 ml de solvente (agua, etanol y ácido clorhídrico 0.1 N), se toma un ml de cada solución y se aforar a 50 ml con el mismo solvente.

Nota :

Se determinó el punto de máxima absorbancia en agua, etanol y ácido clorhídrico 0.1 N para elegir el solvente y la longitud de onda adecuados para realizar las determinaciones en ultravioleta.

2.3 Método espectrofotométrico UV para la valoración de talidomida como materia prima .

a) Curva de calibración para ambos lotes : Se preparó una solución acuosa saturada de talidomida, a 9 ml de esta solución se le añadió 1 ml de dimetilformamida midiendo la absorbancia de esta solución a 299 nm . Tomando en cuenta que para una solución al 10 % w/v en dimetilformamida el ϵ (1 %, 1 cm) a 299 nm es 93.2, este valor es usado para calcular la concentración de talidomida en la solución preparada.

Se efectuaron diluciones de la solución acuosa saturada con ácido clorhídrico 0.1 N para obtener soluciones con una concentración de 1, 2, 3, 4 y 5 $\mu\text{g/ml}$, se determina la absorbancia de estas a 220 nm .

b) Curva de calibración para ambos lotes en etanol : Se pesó exactamente la cantidad de talidomida para preparar soluciones con una concentración de 1, 2, 3, 4 y 5 $\mu\text{g/ml}$ en etanol absoluto; se midió la absorbancia a la longitud de onda máxima obtenida para este solvente .

2.4 Validación del método espectrofotométrico UV para talidomida como materia prima .

a) Especificidad

Para determinarla, se midieron las absorbancias de soluciones de talidomida en etanol que habían sido incubadas a 37°C por 24 horas, se tomaron muestras a 1, 6 y 24 horas y se calcula su grado de hidrólisis.

La concentración de las soluciones empleadas es de 3.2 $\mu\text{g/ml}$ y la absorbancia se determinó a 218 nm .

b) Linearidad de la muestra (Lote 1)

Para obtener la linearidad, se prepararon soluciones que contenían 5, 10, 15, 20 y 25 mg de talidomida en etanol midiendo su absorbancia a 218 nm .

c) Precisión

Se realizó evaluando la desviación estándar de los resultados obtenidos de seis determinaciones de la muestra con una concentración de 3.2 $\mu\text{g/ml}$.

d) Reproducibilidad

Se realizó efectuando seis determinaciones por duplicado - de la muestra a una concentración de 3.2 $\mu\text{g/ml}$, se emplearon -- dos analistas por dos días, con el mismo equipo pero cada uno - de ellos lo acondicionó y preparó adecuadamente e independiente mente uno del otro .

V RESULTADOS

1. Síntesis : A partir del proceso de síntesis efectuado se obtiene un rendimiento de talidomida de 185 g equivalente al 67.86 % .

2. Determinación de propiedades fisicoquímicas :

Descripción : Polvo cristalino de color blanco

a) Solubilidad : En la Tabla No. 2 se muestran las solubilidades obtenidas para cada lote en agua y etanol a 25°C .

Solvente	Lote 1'	Lote 2
Agua	0.08 mg/ml	0.08 mg/ml
Etanol	0.125mg/ml	0.125mg/ml

TABLA No. 2

Solubilidad de talidomida en agua y etanol

En la Tabla No. 3 se reportan los resultados obtenidos para Porcentaje de Humedad, Punto de fusión y los valores de Rf - que representan el promedio de 5 determinaciones .

Determinación	Lote 1	Lote 2
% Humedad	0.6240	0.5016
Punto de Fusión (°C)	269 - 270.2	269.4 - 270.6
Rf	0.641	0.656

TABLA No. 3

Promedio de 5 determinaciones de Humedad, Punto de fusión y Rf para talidomida

3. Métodos espectroscópicos :

a) Espectro Infrarrojo : Se obtuvieron las siguientes fre
cuencias características de absorción Infrarroja .

- A parte de la banda carbonílica entre $1600-1688\text{ cm}^{-1}$ las amidas presentan absorción en la región de $3050-3550\text{ cm}^{-1}$ debido al alargamiento del enlace N - H y absorción debida a la flexión del enlace N - H en la región de $1600-1640\text{ cm}^{-1}$.
- Además un anillo aromático revela alargamiento del enlace C - H a $3000-3100\text{ cm}^{-1}$ y absorción debida a la flexión del enlace C - H en la región de $675-870\text{ cm}^{-1}$.
- Un enlace C - H alifático revela alargamiento a $2850-2960\text{ cm}^{-1}$ y absorción debida a la flexión del enlace C - H a $1350-1470\text{ cm}^{-1}$.
- Una amida sustituida o no, presenta la absorción debida al enlace C = O en la región $1690-1760\text{ cm}^{-1}$.
- El enlace del tipo C = C para la porción del anillo aromático revela alargamiento en la región de $1500, 1600\text{ cm}^{-1}$.
- El enlace de tipo C - N presenta un alargamiento en la región de $1180-1360\text{ cm}^{-1}$, caracterizado por dos bandas - debido a que se trata de un enlace tipo aromático.

En la Figura No. 6 y 7 se muestran los espectros Infrarrojo para los dos lotes en KBr y en la Figura No. 8 y 9 en Nujol.

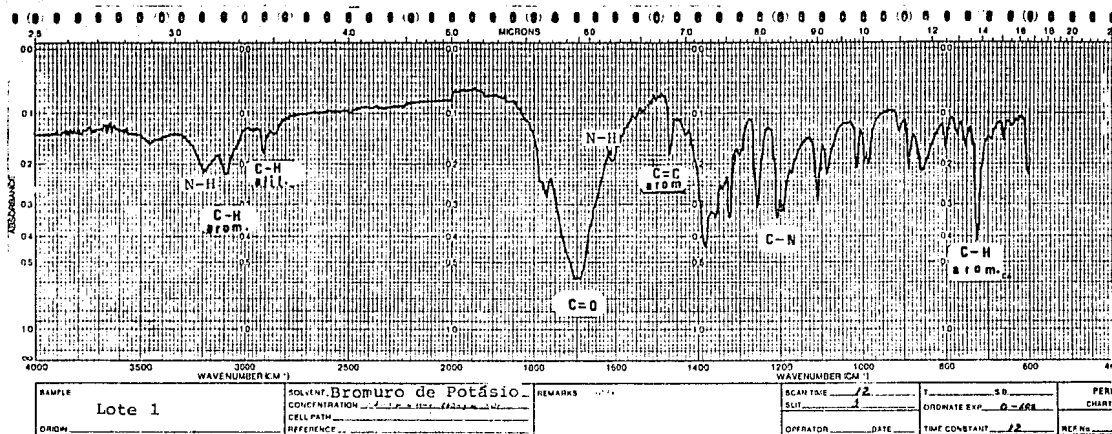


FIGURA No. 6

Espectro Infrarrojo del Lote No. 1 en KBr

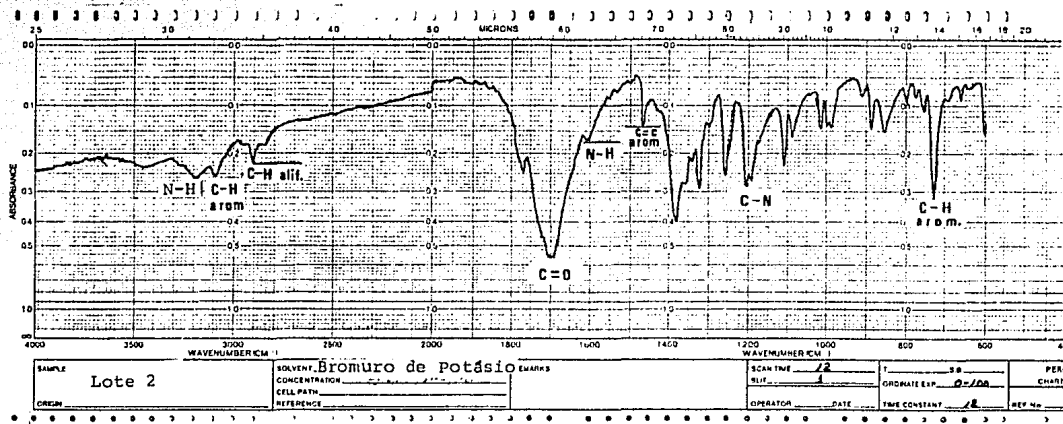


FIGURA No. 7

Espectro Infrarrojo del Lote No. 2 en KBr

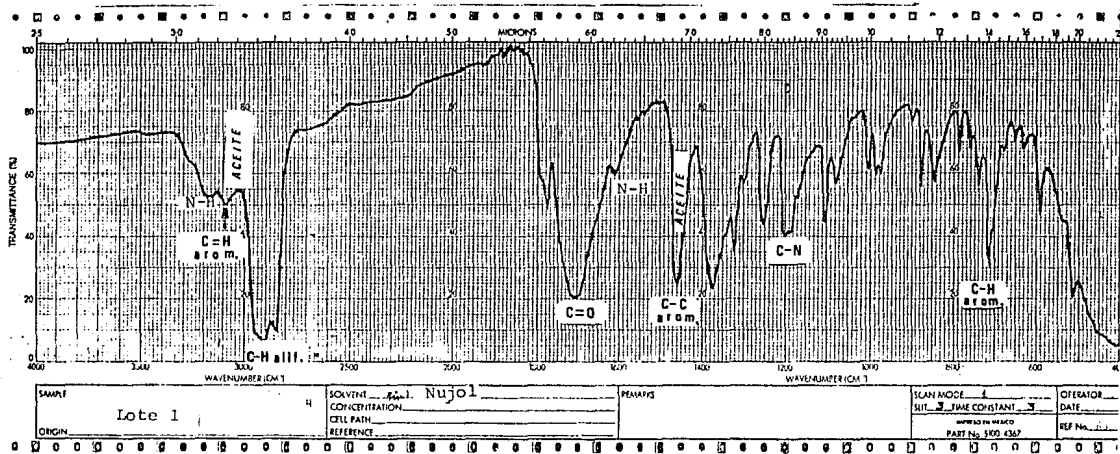


FIGURA No. 8

Espectro Infrarrojo del Lote No. 1 en Nujol

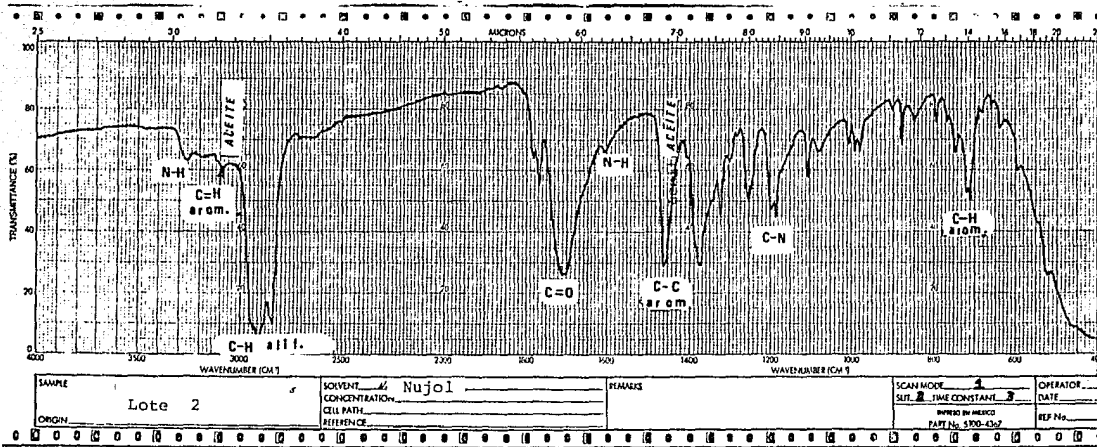


FIGURA No. 9

Espectro Infrarrojo del Lote No. 2 en Nujol

b) Resonancia Magnética Nuclear : Para disolver las muestras se empleo dimetil sulfóxido deuterado (DMSO_d) debido a la solubilidad de las muestras. En los espectros se observa para ambos lotes un multiplete a 2.5 ppm que se asigna al disolvente debido a que cuando es deuterado de un 100 % solo se obtiene en un 80 % (31) .

En la Figura No. 10 se muestran las regiones donde se localiza la respuesta debida al DMSO_d y el agua presente en la muestra analizada.

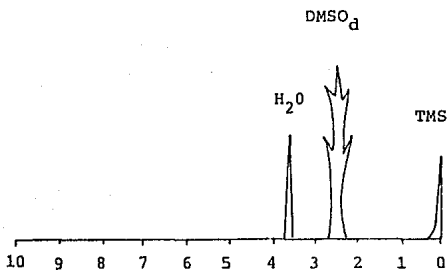
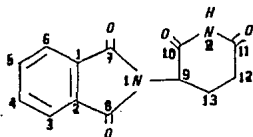


FIGURA No. 10
Respuesta del DMSO_d en RMN

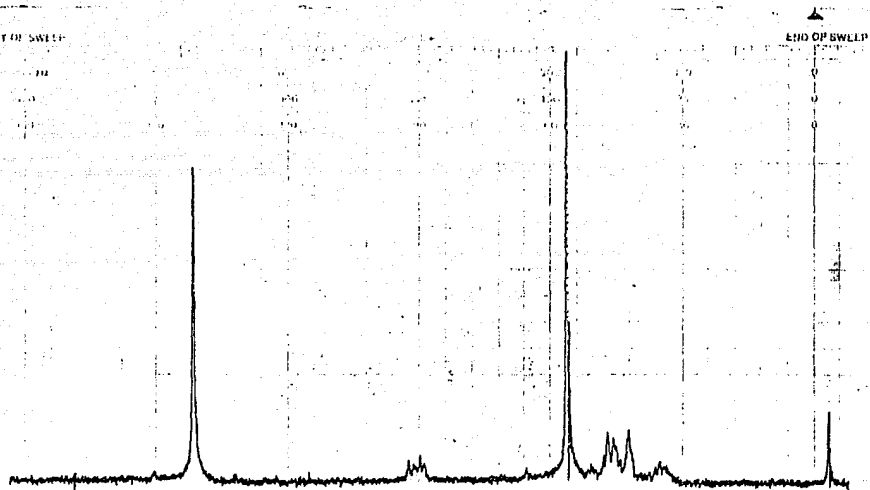
Se obtuvieron las siguientes respuestas características al realizar el espectro de RMN :

- En los espectros de los dos lotes se observa un singuleto ancho con un desplazamiento en ppm de 7.9-8.1 que --- corresponde a los protones de tipo aromático, de las posiciones 3-6 de la molécula .



- El multiplete que se presenta en 5-5.3 ppm se asigna al protón de la posición 9; a partir de esta señal se realiza la integración de señales obtenidas, para establecer el número y los diferentes tipos de hidrógeno presentes en la molécula.
- La señal que se tiene a 3.3 ppm corresponde a los hidrógenos de las posiciones 12 y 13 .
- El protón del nitrógeno de la posición 2 no se observa por presentar señal arriba de 10 ppm .

En la Figura No. 11, 12 y 13 se muestran los espectros de Resonancia Magnética Nuclear para los dos lotes de talidomida.



Amplitud espectro : 3000 Filtro : abierto Referencia Cero : TMS
Solvente : DMSO_d Temperatura muestra : 25°C Nucleos : ¹H

FIGURA No. 11

Espectro de RMN del Lote 1

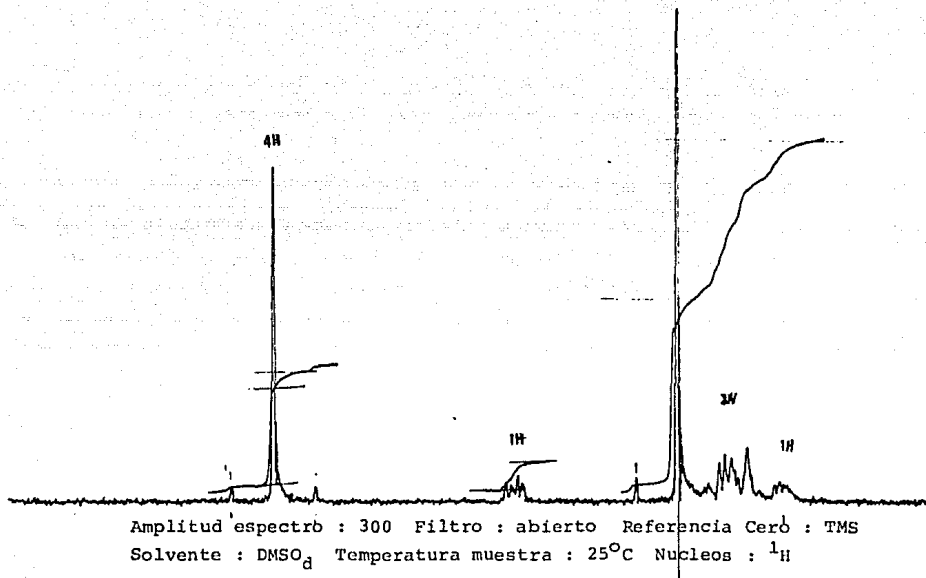


FIGURA No. 12
Espectro de RMN del Lote 1 - Integración -

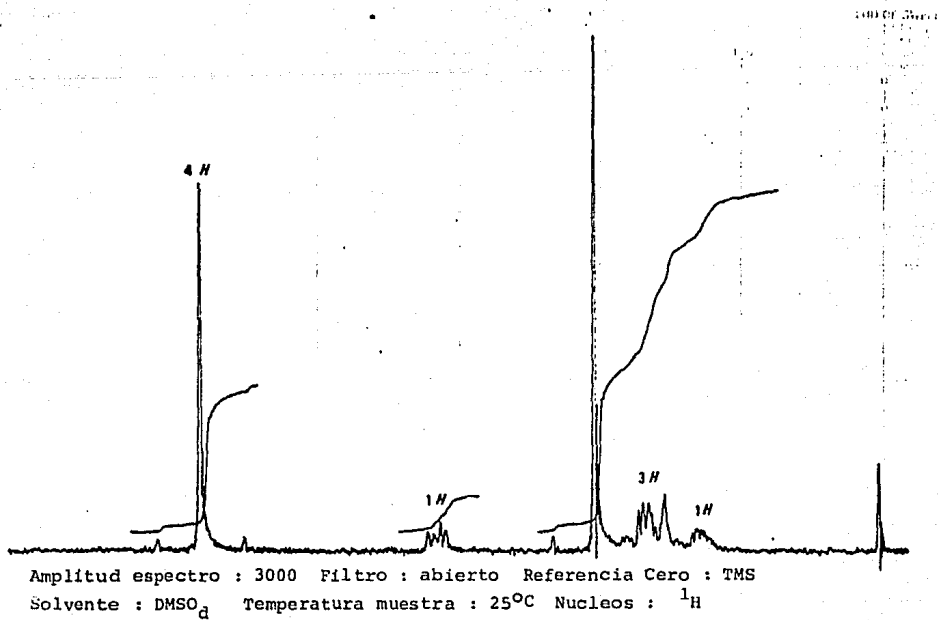


FIGURA No. 13
Espectro de RMN del Lote 2

c) Espectroscopía de masas :

El espectrómetro de masas ejerce tres funciones :

- Produce una fuente de iones de la sustancia muestra
- Clasifica estos iones de acuerdo con su relación masa / carga (m/z)
- Registra la abundancia relativa de cada especie de ion

En el espectrómetro de masas, se detecta el ion molecular (M^+) y otros iones derivados de el; el M^+ corresponde al peso molecular de la sustancia dado que cada tipo de ion tiene una razón de m/z y para la mayoría de los iones $z = 1$ por lo que m/z representa la masa.

Los datos que se obtienen con el espectro de masas son las intensidades relativas, al pico más intenso (Pico base) se le asigna el valor de 100 y las intensidades de los demás picos se expresan con relación a este.

En la Figura No. 14 se muestra el ion molecular de la talidomida y en la Tabla No. 4 se reportan las intensidades y picos principales del espectro de masas de la talidomida .

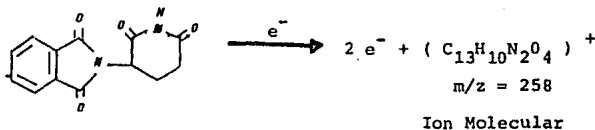


FIGURA No. 14

Ion molecular de la Talidomida

Principales picos a m/z	Intensidad relativa
258.2	3.2
273.1	100.0
76.1	60.1
104.1	53.4
148.1	42.0
111.1	40.0
50.0	22.5

TABLA No. 4

Intensidades y picos principales del
espectro de masas de la talidomida

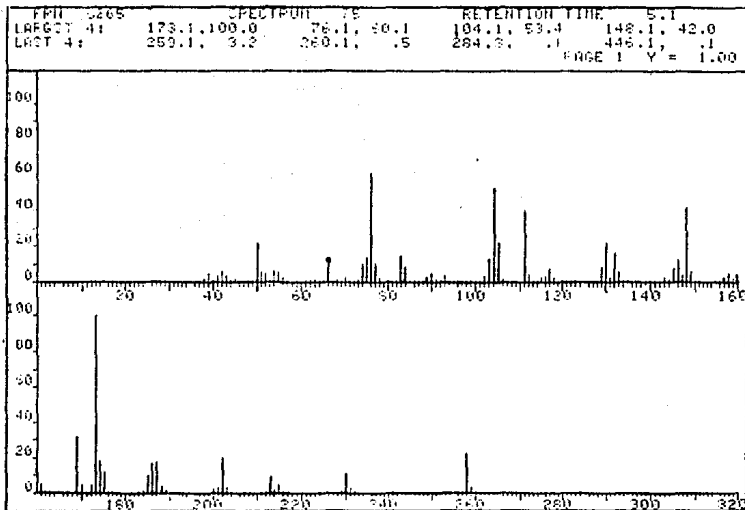


FIGURA No. 15

Espectro de masas de la Talidomida

d) Espectroscopía Ultravioleta (UV) : Se efectuó el --- barrido espectrofotométrico para obtener el punto de máxima absorbancia y elegir el solvente más adecuado para la preparación de las muestras y poder realizar las determinaciones analíticas.

Las muestras se prepararon a una concentración de 3.2 $\mu\text{g/ml}$ a la cual se tienen valores de absorbancia que son confiables, por encontrarse dentro de lo establecido según la ley de Beer (12) .

La longitud de onda máxima obtenida para la talidomida en los tres solventes se reportan en la Tabla No. 5 y la Figura -- No. 15 muestra el barrido espectrofotométrico de la talidomida en Etanol, Agua y Acido Clorhídrico 0.1 N a una concentración de 3.2 $\mu\text{g/ml}$.

Solvente	Longitud de onda máxima (λ_{max})
Etanol	218 nm
Agua	220 nm
Acido Clorhídrico 0.1 N	220 nm

TABLA No 5

λ_{max} . para la talidomida en Etanol, Agua y HCl 0.1 N

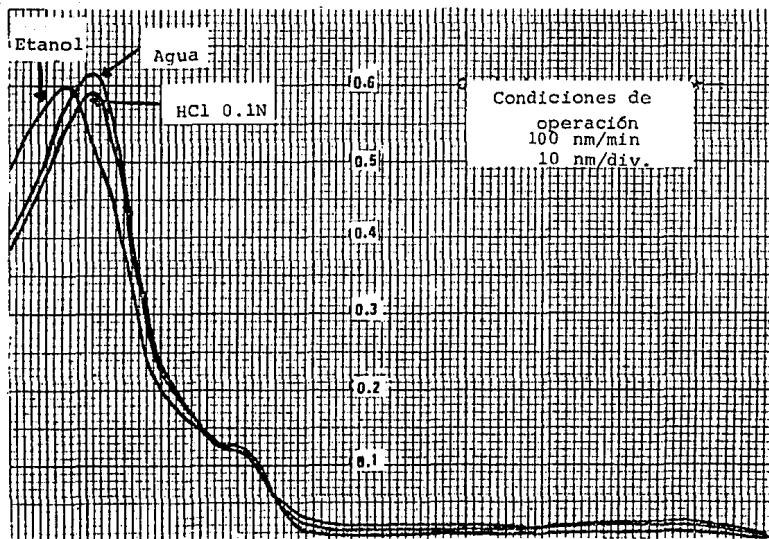


FIGURA No. 16
Espectro UV de talidomida en Etanol, Agua y
HCl 0.1 N a una concentración de 3.2 ug/ml

4. Método espectrofotométrico para la evaluación de talidomida como materia prima

a) Curva de calibración para ambos lotes en HCl 0.1 N

La figura No. 17 es la representación de la curva de calibración para los dos lotes de talidomida en HCl 0.1 N y la Tabla No. 6 representa los resultados del análisis estadístico (32) de la curva de calibración de talidomida en HCl 0.1 N.

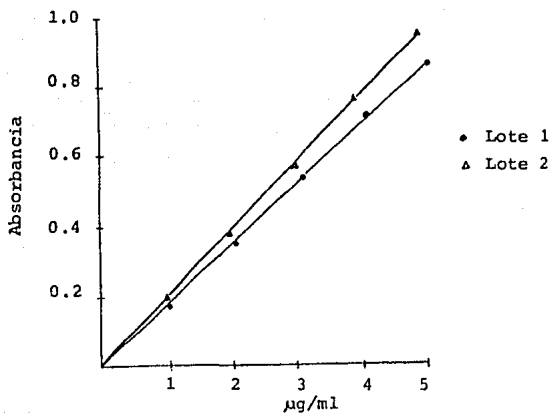


FIGURA No. 17
Curva de calibración para los Lotes 1 y 2
en HCl 0.1 N
a 220 nm

Parámetros Estadísticos	Lote 1	Lote 2
Número de observaciones	5	5
Ordenada al origen	0.0088	0.0096
Intervalo de confianza para la ordenada al origen (95%)	-1.0022 a 1.0198	-1.0476 a 1.0668
Pendiente (ml/μg)	0.1752	0.1826
Intervalo de confianza para la pendiente (95%)	-0.1296 a 0.4800	-0.1359 a 0.5011
Coefficiente de correlación (r)	0.99838	0.99962
Coefficiente de determinación (r ²)	0.99677	0.99924
Error estándar de regresión	0.63537	0.66445
t _{0,95} (teórica)	3.18250	3.18250
t _{ordenada al origen}	0.02770	0.02890

51

TABLA No. 6
 Análisis estadístico de la Curva de Calibración
 de talidomida en HCl 0.1 N

b) Curva de calibración para ambos lotes en etanol

La Figura No. 18 representa los resultados de la curva de calibración de ambos lotes de talidomida en Etanol; en la Tabla No. 7 el resumen del estudio estadístico de la curva de calibración en Etanol para los lotes de talidomida.

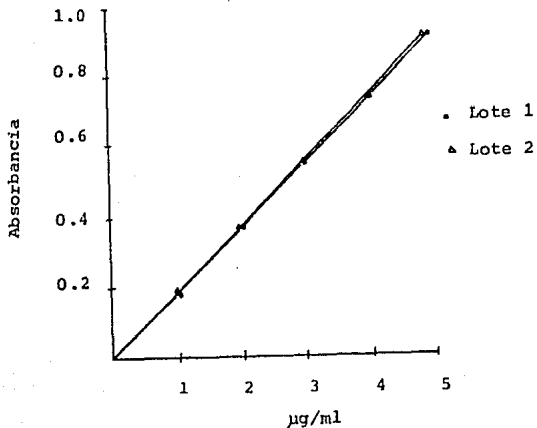


FIGURA No. 18

Curva de calibración para los Lotes 1 y 2
en Etanol a 218 nm

Parámetros Estadístico	Lote 1	Lote 2
Número de observaciones	5	5
Ordenada al origen	0.0045	0.0080
Intervalo de confianza para la ordenada al origen (95%)	-1.001 a 1.010	-1.0502 a 1.0662
Pendiente (ml/ug)	0.1837	0.1832
Intervalo de confianza para la pendiente (95%)	-0.1342 a 0.5016	-0.1357 a 0.5021
Coefficiente de correlación (r)	0.99981	0.99999
Coefficiente de determinación (r ²)	0.99962	0.99998
Error estándar de regresión	0.66330	0.66650
t _{0.95} (teórica)	3.18250	3.18250
t ordenada al origen	0.01357	0.02406

TABLA No. 7
Análisis estadístico de la Curva de Calibración
de talidomida en Etanol

5. Validación del método espectrofotométrico UV para talidomida como materia prima

Para llevar a cabo el análisis de este punto, se consideró el Lote 2 como referencia, por cumplir completamente con las especificaciones reportadas (15) como son punto de fusión, espectroscopía Infrarroja, masas, Resonancia Magnética Nuclear y Ultravioleta; no conociendo su pureza exacta por no contar con un estándar debido a que solo se obtiene de importación y su uso está limitado, por lo que al obtener resultados satisfactorios con las determinaciones anteriores se establece que el Lote 2 presenta una pureza considerable.

a) Especificidad

Antes de llevar a cabo la validación del método UV se procedió a demostrar su especificidad. Con este fin se sometieron muestras de materia prima de ambos lotes a condiciones de degradación. Las condiciones fueron: incubación a 37°C por 24 horas en etanol y muestreando a 1,6 y 24 horas.

Los resultados de esta determinación se presentan en la Tabla No. 8 y en la Tabla No. 9 se muestra el Porcentaje de hidrólisis de ambos lotes.

Tiempo incubación (hr.)	Lote 1	Lote 2
1	0.5430	0.5590
6	0.4630	0.4890
24	0.1060	0.1180

TABLA No. 8

Resultados de absorbancia de Lote 1 y 2
para especificidad a 218 nm

Tiempo incubación (hr.)	Lote 1	Lote 2
1	8.89 %	6.21 %
6	22.31 %	17.95 %
24	82.21 %	80.20 %

TABLA No. 9

Grado de Hidrólisis de Lote 1 y 2 en
etanol

b) Linearidad de la muestra (Lote 1)

Los resultados de la linealidad para el lote 1 se muestran en la Tabla No. 10, en la Figura No. 19 la gráfica correspondiente. En la Tabla No. 11 se reporta el estudio estadístico .

mg adicionados	mg recuperados	% recuperado
5	5.06	101.20
10	10.08	100.80
15	14.95	99.66
20	19.81	99.05
25	25.06	100.12

TABLA No. 10

Resultados de Linearidad de la muestra

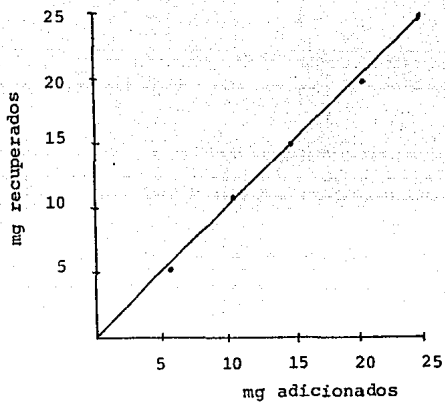


FIGURA No. 19
Linealidad de la muestra

Parámetros Estadísticos	Lote 1
Número de observaciones	5
Ordenada al origen	0.0730
Intervalo de confianza para la ordenada al origen (95%)	0.0487 a 0.0973
Pendiente	0.9946
Intervalo de confianza para la pendiente (95%)	0.98924 a 0.99996
Coefficiente de correlación (r)	0.99991
Coefficiente de determinación (r^2)	0.99982
Error estándar de regresión	19.11300
$t_{0.95}$ (teórica)	3.18250
t ordenada al origen	0.00764
t pendiente	0.00937

TABLA No. 11
 Análisis estadístico de la Linealidad
 de la muestra (Lote 1)

c) Precisión

En la Tabla No. 12 se dan los resultados obtenidos de --
seis determinaciones de la muestra (Lote 1) con una concentra-
ción de 3.2 µg/ml .

Determinación No.	Cantidad adicionada	Cantidad recuperada	Porciento Recuperado
1	8.0 mg	7.95 mg	99.375 %
2	8.0 mg	7.98 mg	99.750 %
3	8.0 mg	7.90 mg	98.750 %
4	8.0 mg	7.93 mg	99.125 %
5	8.0 mg	7.88 mg	98.500 %
6	8.0 mg	7.90 mg	98.750 %
Media aritmetica		99.0416 %	
Desviación estándar		0.4654	
Coeficiente de variación		0.4699 %	
Intervalo de confianza para media poblacional		98.5978 - 99.4853 %	

TABLA No. 12
Resultados de la Precisión

d) Reproducibilidad

Se analizó el Lote 1 efectuando seis determinaciones por duplicado, utilizando dos analistas en dos diferentes días. En la Tabla No. 13 se muestran los resultados y parámetros encontrados al realizar el análisis estadístico .

Día	Analista 1	Analista 2
1	100.000 %	100.312 %
	100.125 %	99.812 %
	99.625	100.500 %
	100.812 %	100.500 %
	100.125 %	100.125 %
	100.000 %	100.812 %
2	100.500 %	100.500 %
	100.125 %	100.125 %
	100.500 %	100.312 %
	100.812 %	101.000 %
	100.812 %	100.500 %
	100.625 %	99.625 %
Media		100.341 %
Desviación estándar (DS)		0.3803
Coeficiente de variación		0.3790 %

TABLA No. 13
Reproducibilidad del método

VI DISCUSION

Tomando en cuenta las referencias (19,20,21) para la síntesis de talidomida, se parte del glutamato de sodio y anhídrido ftálico para obtener el ácido anhídrido ftalil glutámico -- que es el reactivo principal en los procesos de síntesis reportados; el cual no es fácil adquirir en México por ser de importación .

Otra justificación del proceso de síntesis realizado es - el rendimiento que se obtiene (67.86 %) comparado con el reportado por Sabiniewics (20) que es de 55 % .

Con la espectroscopía infrarroja, se obtienen los principales picos a la longitud de onda que se reporta (15) para talidomida tanto en las preparaciones en bromuro de potásio como en Nujol. Además al comparar los espectros teóricos con los obtenidos se observa que se superponen aún en la zona denominada " Huella Dactilar " del compuesto que se considera el criterio de mayor significancia para establecer que se trata de un mismo compuesto . El espectro infrarrojo ayudó a identificar la -- estructura indicando los grupos funcionales de la molécula.

El espectro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) nos indicó las regiones donde se localizan los diferentes tipos

de hidrógeno que contiene la talidomida dependiendo esto de la fuerza del campo magnético, con lo que se realizó la identificación de la molécula .

Los principales picos obtenidos en el espectro de masas corresponden a los reportados (15), el espectro de masas resultó ser la prueba confirmadora de la identidad de la materia prima empleada, ayudandonos también a conformar la estructura de la talidomida indicando la presencia de ciertas unidades estructurales en la molécula del compuesto.

La concentración de trabajo se determinó en base a reportes publicados (14) acerca del coeficiente de extinción y el comportamiento del compuesto, además, de que se encuentra dentro de los límites de linealidad propuesto por la ley de Beer (12) .

En cuanto a los parámetros de operación seleccionados, no hay duda de que la elección de estos de manera experimental -- fue la más accesible debido a los reportes consultados (14,17), basandose en la determinación de datos bibliográficos del compuesto y de allí se parte con ciertos límites, hacia experimentos de ensayo - error que se propone por tratarse de una muestra de síntesis y de un compuesto que fue retirado del mercado sin haberle realizado amplios estudios en el area químico analítica.

Con el establecimiento de condiciones para la valoración

de talidomida con el método espectrofotométrico UV se obtie
ne un coeficiente de variación de 0.4699 % siendo el límite
de 1.5 %, resultado de un análisis estadístico con lo que -
se comprobó la precisión y reproducibilidad del método.

El método no se considerará del todo específico ya que a
pesar de que se presenta una disminución en la absorbancia
al haber más degradación, no se puede afirmar que este efec
to sea causado solo por la talidomida, sino que se puede --
deber a sus metabolitos .

VII CONCLUSIONES

1. Con el proceso de síntesis empleado además de obtener un buen rendimiento se evita el empleo de reactivos - de importación.
2. Se identificó la materia prima a partir de sus propiedades fisicoquímicas, con lo que se puede decir con seguridad que se trata de Talidomida .
3. El trabajo realizado da inicio a la posibilidad de -- poder incluir a la talidomida en el cuadro básico de medicamentos, dada la importancia que tiene en el tratamiento de las reacciones leprosas y otras enfermedades que han sido tratadas con este fármaco con resultados satisfactorios bajo estricto control médico .
4. A través del presente trabajo se dan a conocer las -- condiciones de valoración para talidomida como materia prima; pues se trata de un método que a la vez - que es rápido, es también muy sencillo puesto que no implica preparaciones complejas ni tardadas en ninguno de sus pasos .

5. Se considerará que el método espectrofotométrico puede emplearse para evaluación de talidomida como materia prima y servir como base para estudios posteriores.

VIII BIBLIOGRAFIA

1. Latapí, F., Amado, S. y Gómez-Vidal, M. " Talidomida en el tratamiento de la reacción leprosa " Gaceta -- Médica de México. 99 (10), 917 (1969).
2. Amado, S. " Lecciones de Dermatología " Ed. Francisco Mendez Cervantes, México, D.F. 1980 .
3. Sheskin, J.M.D. " Thalidomide in the treatment of - reaction leprosum " Pharmacology and Therapeutics 6 (3), 303 (1965) .
4. Londoño, F. " Prúrigo solar. A propósito de su tratamiento con talidomida " Informe preliminar. Memorias del VI Congreso Ibero Latinoamericano sobre Lepra . Venezuela. 475 (1973) .
5. Eravelly, J. & Water, M.F. " Thalidomide in Weber - Christian disease " Lancet I. 8005 , 251 (1977) .
6. Goth, A. " Farmacología Médica ", Ed. Interamericana México, D.F. 1979 .
7. Estudillo, E.M. " Los enfermos de lepra en el Centro Dermatológico Ladislao de Pascua " Tesis, SSA (1981).
8. Amado, S. " La talidomida en la reacción leprosa " El Médico. 2, 10 (1968) .

9. Goldstein, A. y Aronon, L. " Farmacología ", Ed. Limusa, México, D.F. 1979 .
10. Morrison, T.R. y Boyd, N.R. " Química Orgánica " Ed. Fondo Educativo Interamericano, México, D.F. 1982 .
11. Ingham, A.M. & Henson, R.C. " Drug Identification from their infrared spectra " J. Chem. 61, 704 (1984) .
12. Connors, K. " Curso de Análisis Farmacéutico ", Ed. Reverté, Barcelona, España. 1980 .
13. Berry, I.R. " Practical process validation of pharmaceutical products " Drug & Cosm. 139 (3), 36 (1986) .
14. Green, J.N. & Benson, B.C. " The spectrophotometric determination of thalidomide in body fluids " J. - Pharmaceutical Pharmacology. 13, 117 T (1961) .
15. Clarke, E.G.C. & Fric M.A.Ph.D.D.Sc. " Isolation and Identification of Drug. The Pharmaceutical Press . Second Edition. The Pharmaceutical Society of Great Britain. 1986 .
16. The Merck Index. The Merck and Co., INC. publisher Rahway, N.J., U.S.A. 1983 .

17. Beckmann, R. & Kampf, H.H. " Zur quantitativen Bestimmung und zur qualitativen Nachweis von N-Phthalyl - glutamin saure-imid (Thalidomid) " Arzneimittel -- Forsch. 11, 45 (1961) .
18. Fabro, S.E., Schumacher, H. & Smith, R.L. " Metabolismo Della Talidomide " Bolletino Society Ital. Biol. Sper. 39, (24), 1921 (1963) .
19. Helm, F.C.H., Friderichs, E., Graudums, I. & Flohe, L. " Comparative Teratological Investigation of Compounds structurally and pharmacologically Related to -- Thalidomide " Arzneimittel Forsch / Drug Res. 31 I, Nr 6, 941 (1981) .
20. Sabiniewicz, F. " Preparation of 2,6-dioxo-3-phthalimido piperidine " Przemysl Chem. 44 (5), 253 (1965) .
21. Kunz, J. & Muckter, H. " Aminopiperidine 2.6-dione derivatives " Brit. Chemie Grünenthal G.m.b.H. 768, 821 (1957) .
22. Somers, G.F. " Pharmacological properties of thalidomide (α - phthalimido glutarimide), a new sedative hypnotic Drug " British Journal Pharmacology. 15, 111 (1960) .
23. Kuhn, W.L. & Van Maanen, E.F. " Central Nervous system effects of thalidomide " Journal Pharmaceutical -

Explt. Therap. 134, 60 (1961) .

24. Bueno, D.D. " Talidomida en neurodermitis corticoes-tropeada. Estudio preliminar en 15 pacientes " Tesis SSA (1979) .
25. Rodríguez. C.R. Vademécum Académico de Medicamentos. Tomo II. texto Universitario. Facultad de Medicina México, D.F. 1984.
26. Martindale. " The Extra Pharmacopoeia " Twenty eigh edition. Edited By Ainley Wade London. The Pharmaceu tical Press. 1760 (1982) .
27. Thorn, G., Adams, R., Braunwald, E., Isselbacher, K., Petersdorf, R. " Medicina Interna.Harrison " Tomo I. Ed. La Prensa Médica Mexicana, México, D.F. 1979 .
28. Di Palma. J.R. " Drill's Pharmacology in Medicine " Ed. Mc. Graw Hill. Fourth edition. New York U.S.A 1979 .
29. Mac Kenzie, R.D. & Mc Grath, W.R. " Absortion of - Thalidomide in the rat " Proc. Soc. Explt. Biol. Med. 109, 511 (1962) .
30. Cuadro Básico de medicamentos. Sector Salud. México D.F. 1984 .

31. Pretsch, C.S. " Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds " Chemical Laboratory Practice Springer- Verlag. Berlin H.N.W Tokio. 1983 .
32. Christensen, H.B. " Estadística paso a paso ", Ed. Trillas, México, D.F. 1983 .
33. Frahm, M. Gottesleben, A. & Soehring, K. " Die Identifizierung von Schlafmitteln aus wässrigen Lösungen " Pharmaceutica Acta Helvetica. 38, (11) 785 (1963) .