

71
28j



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DETERMINACIÓN DE MEBENDAZOL
EN SUSPENSIONES

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A
LUZ MARIA LOPEZ MARIN

MEXICO, D. F.



EXÁMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

C O N T E N I D O

	pág.
Lista de figuras	i
Lista de tablas	ii
Nomenclatura	iii
1. Introducción	1
2. Generalidades	
2.1 Mebendazol	4
2.2 Validación de métodos analíticos	15
3. Parte experimental	
3.1 Desarrollo del método	21
3.2 Método	23
3.3 Validación	26
4. Resultados	33
5. Conclusiones	48
6. Bibliografía	50
Anexo. Tablas de resultados	54

LISTA DE FIGURAS

	pág
1. Espectro de absorción del mebendazol en ácido fórmico/agua (3/1000)	23
2. Linealidad del sistema	35
3. Linealidad del método	38
4. Tolerancia; efecto de la cantidad de ácido fórmico	41
5. Reproducibilidad del método	43

LISTA DE TABLAS

	pág
2.1 Solubilidades de saturación de polimorfos de mebendazol en agua	7
2.2 Solubilidad de mebendazol en algunos disolventes	8
2.3 Resultados del empleo de mebendazol en diferentes dosis en el tratamiento de diversas helmintiasis intestinales	10
3.1 Formulación de los placebos utilizados	28
3.2 Condiciones extremas estudiadas (especificidad)	28
4.1 Exactitud y precisión del método	37
4.2 Tolerancia	40
4.3 Estabilidad de la muestra	44
4.4 Aplicación del método a lotes comerciales	45
4.5 Resumen de resultados	47

NOMENCLATURA

A : absorbancia

A_m : absorbancia obtenida con la preparación de la muestra

A_s : absorbancia obtenida con la solución estándar

b : intercepto u ordenada al origen

CV : coeficiente de variación

m : pendiente

MBZ : mebendazol

n : número de datos

r : coeficiente de correlación

rpm : revoluciones por minuto

S : desviación estándar

X_i : concentración de analito

Y_i : resultado de la prueba

\bar{Y} : promedio de resultados

1. INTRODUCCION

En México, las enfermedades parasitarias constituyen un problema de primera magnitud. Gran parte de la población sufre de helmintiasis. Estas enfermedades presentan síntomas molestos para quienes las padecen como: pérdida de sangre, interferencia de absorción de proteínas, producción de diarrea y otros trastornos gastrointestinales. Causan cuadros pulmonares y visceromegalias. Por consiguiente, existe también un deterioro en la capacidad de trabajo y de aprovechamiento escolar, además de pérdidas socioeconómicas. Incluso, en algunos casos las complicaciones son fatales (2).

Desgraciadamente, la falta de información sobre medidas higiénicas que existe en el país, especialmente en la población rural, así como de recursos provoca que las parasitosis

se presenten con alta frecuencia. Se menciona que en algunos lugares (a nivel mundial) las helmintiasis causan pérdidas económicas hasta en el 52% de las familias y, que la pérdida económica por familia es equivalente al ingreso de dos meses (2).

Por todo lo anterior, el empleo de medicamentos antiparasitarios ha tomado un gran auge tanto en México como en el mundo.

De entre los antihelmínticos sintetizados en los últimos tiempos destaca el mebendazol, el cual tiene gran aplicación en la terapia de numerosas parasitosis intestinales. Este fármaco se administra frecuentemente en suspensión; no obstante, en México no se cuenta con un método oficial para su determinación en esta forma farmacéutica. Por ello se realizó la presente tesis, cuyo objetivo fue la implementación de un método para tal determinación.

El trabajo fue realizado en la Jefatura de Control de Calidad del Instituto Mexicano del Seguro Social. En esta Dependencia se efectúa el control de calidad de los medicamentos que compra el Instituto, entre ellos las suspensiones de mebendazol. Este producto, al igual que otros, se adquiere de diferentes laboratorios farmacéuticos (proveedores del IMSS), por lo tanto las suspensiones que se reciben son distintas entre sí. Debido a ello, el método fue desarrollado tomando

en consideración las formulaciones reportadas por varios proveedores.

La tesis comprende las siguientes partes: en el capítulo 2 se señalan las principales características del mebendazol como farmoquímico, las cuales sirvieron de base para la implementación del método. También se hace una descripción de los parámetros elegidos para la validación del mismo. Por otro lado, en los capítulos 3 y 4, se menciona la parte experimental: el desarrollo y la validación del método y los resultados obtenidos, así como su análisis. Finalmente, en el capítulo 5 se presentan las conclusiones.

2. GENERALIDADES

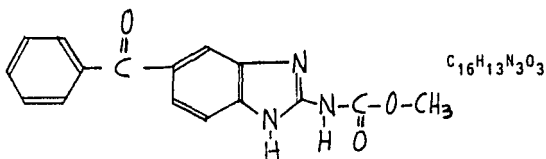
2.1 Mebendazol

El mebendazol es un agente antihelmíntico de amplio espectro, que fue sintetizado por Janssen Pharmaceutica de Beerse, Bélgica en 1968. Este fármaco se introdujo al mercado en 1972; desde entonces se usa en numerosos países del mundo y su empleo se incrementa año con año (2).

El mebendazol fue incluido en la lista publicada por la OMS entre los 200 fármacos esenciales, donde es considerado como el antihelmíntico de elección.

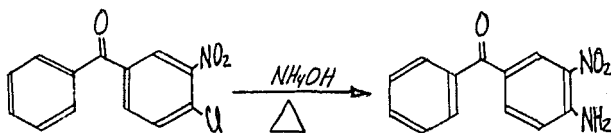
2.1.1 Propiedades fisicoquímicas

El mebendazol es el metiléster del ácido (5-benzoil-1H-benzimidazol-2-il) carbámico. Su fórmula es la siguiente: •



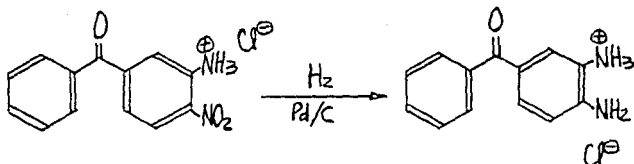
Este fármaco es un antiparasitario de la serie de los benzimidazoles, a la cual pertenecen también el tiabendazol, levamisol, parbendazol, fenbendazol, oxfendazol, cambendazol, carbendazina y albendazol.

El mebendazol se obtiene mediante las reacciones que se muestran a continuación (11):



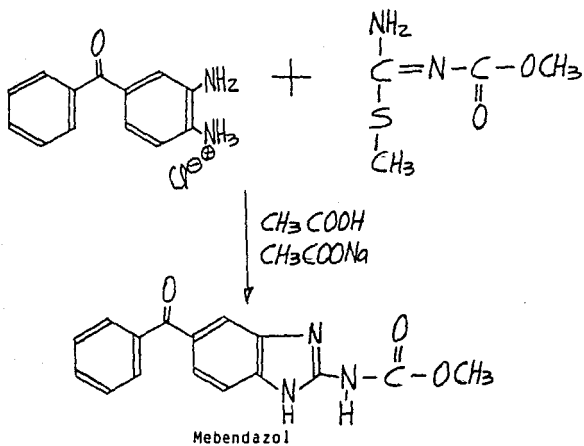
4-cloro-3-nitro-
benzofenona

4-amino-3-nitro-
benzofenona



clorhidrato de 4-amino-
3-nitrobenzofenona

clorhidrato de 3,4-
diaminobenzofenona



Mebendazol

El mebendazol sufre hidrólisis al ser calentado con álcalis. El producto de degradación correspondiente es el 2-amino-5-benzoilbencimidazol, compuesto de color amarillo (17). Este producto no puede estar como impureza de síntesis, como

se observa en las reacciones correspondientes.

El mebendazol se presenta en tres distintas formas polimórficas denominadas A, B, y C. Estas formas pueden identificarse, entre otras técnicas, mediante: análisis térmico diferencial, espectroscopía infraroja y medidas de solubilidad (ver tabla 2.1). Cada una de ellas puede obtenerse usando procedimientos controlados de cristalización.

Tabla 2.1 Solubilidades de saturación de polimorfos de mebendazol en agua

Forma polimórfica	Solubilidad de saturación (mg/ml) x 10 ²
A	0.984 ± 0.005
B	7.13 ± 0.05
C	3.54 ± 0.05

El mebendazol es un polvo de color blanco a blanco amarillento, inodoro, que funde arriba de 280°C con descomposición (aproximadamente a 290°C).

Este compuesto es estable al aire y a la luz y con el tiempo no sufre alteración; no es higroscópico. Las suspensiones de mebendazol son muy estables a altas temperaturas

(30°, 40°, 60°C) si se mantienen dentro de un intervalo de pH de 4 a 8 (15).

El mebendazol es prácticamente insoluble (menos de 0.05%) en: agua, HCl 0.01N, hexano, éter, cloroformo, metanol etanol, isopropanol, acetona, acetato de etilo, benceno, propilénglico y polietilénglico; es parcialmente soluble en ácido acético glacial y en benzaldehído y muy soluble en ácido fórmico y ácido perclórico. En la tabla 2.2 se presentan algunos datos de solubilidad (11).

Tabla 2.2 Solubilidad de mebendazol en algunos disolventes

DISOLVENTE	g MBZ/100 ml
Acido fórmico (HCO ₂ H)	22
HCOOH 80% en agua	14
HCOOH 50% en agua	3.3
HCOOH 20% en agua	0.1
Acido acético	0.6
Acido láctico	4.3
Dimetilformamida	0.1
Dimetilacetamida	0.1
Dimetilsulfóxido	2.4

El mebendazol muestra absorción de la luz ultravioleta observándose dos picos máximos en varios sistemas, por ejemplo: ácido fórmico 0.05% en isopropanol (248 y 313 nm), ácido clorhídrico 0.1N en isopropanol (234 y 288 nm), hidróxido de sodio 0.01N en isopropanol (270 y 355 nm),(5); ácido perclórico 0.01M en agua (234 y 288 nm), (25).

2.1.2 Uso Clínico

El mebendazol es un antiparasitario de amplio espectro, efectivo para el tratamiento de infecciones de numerosas especies de céstodos y nemátodos. Su mayor aplicación se encuentra en la terapia de las helmintiasis intestinales comunes y, es muy útil en pacientes con infecciones parasitarias múltiples. En la tabla 2.3 se muestran algunos resultados obtenidos con el empleo de este fármaco.

También se ha demostrado que el mebendazol actúa contra infecciones por céstodos como T. saginata, T. solium, H. nana, E. granulosus y E. multilocularis. Es muy importante su actividad contra estas dos últimas especies, que son causantes de enfermedades conocidas como hidatosis, difíciles de combatir. Asimismo, se ha demostrado que el mebendazol es efectivo en la terapia de la triquinosis. Desde luego, los estudios con estos helmintos deben ampliarse para establecer la efectividad y seguridad en su tratamiento.(2, 3, 14).

Tabla 2.3 Resultados del empleo de mebendazol en diferentes dosis en el tratamiento de diversas helmintiasis intestinales (2).

		100 mg una vez	300 mg una vez	400 mg una vez	100 mg bid/3d	100 mg bid/4d	200 mg bid/4 d
Ascaris lumbricoides	T	289	-	10	1176	155	31
	C	215		10	1118	150	31
	%	74.39		100	95.06	96.77	100.0
Enterobius vermicularis	T	560	-	-	281	-	28
	C	532			280		27
	%	95.00			99.64		96.42
Trichuris trichiura	T	62	10	1	2577	166	-
	C	34	0	1	2133	151	
	%	54.83	0.0		82.77	90.96	
Uncinarias	T	42	9	3	999	160	116
	C	11	8	1	791	92	105
	%	26.19	88.88		79.17	57.50	90.51
Strongyloides stercoralis	T	6	-	-	154	150	-
	C	3			106	37	
	%	50.00			68.83	24.66	
Taenia sp	T	-	-	-	26	-	35
	C				18		28
	%				69.23		80.00
Hymenolepis nana	T	-	-	-	72	-	-
	C				30		
	%				41.66		
Trichostrongylus sp	T	-	-	-	57	-	-
	C				46		
	%				80.70		
Ternidens deminutus	T	-	-	-	18	-	-
	C				18		
	%				100.00		
T = tratados C = curados % = porcentaje bid = cada doce horas d = días							

2.1.3 Mecanismo de acción

Los primeros experimentos al respecto demostraron que el mebendazol inhibe la captación de glucosa del parásito de manera irreversible. Esto provoca un decremento de glicógeno y, por lo tanto, una disminución en la formación de ATP (indispensable para la supervivencia y reproducción del helmineto). Sin embargo, el mebendazol no parece afectar los niveles sanguíneos de glucosa en el huésped (2, 14, 21).

En estudios más recientes se ha observado, además, que este fármaco provoca una degeneración en los microtúbulos citoplasmáticos de el parásito (14). Este deterioro provoca un bloqueo del transporte de gránulos secretorios del aparato de Golgi. Entonces, la muerte del helmineto puede ocurrir por:

- a) autólisis, al salir enzimas hidrolíticas o proteolíticas de los gránulos secretorios;
- b) falta de enzimas requeridas para la absorción o digestión de nutrientes en el sitio de absorción, o;
- c) bloqueo en el transporte de materiales del recubrimiento celular (a partir de los gránulos secretorios) y, por consiguiente, disminución en la protección de la pared celular.

2.1.4 Farmacocinética

La información publicada sobre la farmacocinética del mebendazol es un tanto limitada. Se sabe que es muy pobre su absorción, lo cual representa una ventaja terapéutica en el tratamiento de parasitosis intestinales; sin embargo, se requieren altas dosis orales para combatir a helmintos que infectan los tejidos.

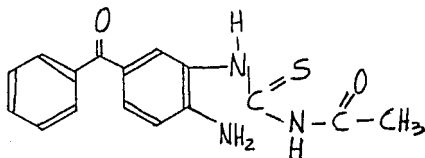
Se ha observado que la mayor parte de la dosis se excreta por las heces en un período de 24 a 48 horas, principalmente como mebendazol inalterado. Las pequeñas cantidades absorbidas se eliminan rápidamente por la orina; en algunos estudios se ha encontrado que la baja biodisponibilidad del mebendazol se debe tanto a su baja solubilidad (y, por lo tanto, absorción limitada) como a un alto efecto de primer paso (8).

También se encontró que la biodisponibilidad aumenta cuando el mebendazol se administra disperso en aceite de oliva (dentro de cápsulas de gelatina blanda); ésto tiene importancia para el tratamiento de parasitosis en las que se requiere de un efecto sistémico.

Los metabolitos de mebendazol carecen de actividad antihelmíntica; los principales son el 2-amino-5-(α -hidroxi-

bencil)benzimidazol y el 2-amino-5-benzoilbenzimidazol. Existe discrepancia sobre cuál de estos dos es el que se encuentra en mayor proporción (8, 10, 14, 21).

Recientemente se inició el estudio de un profármaco del mebendazol, cuya fórmula es la siguiente:



Esta estructura es estable en medio ácido y neutro y, al administrarse en ratas se convierte rápidamente en mebendazol. Los estudios han mostrado que con el profármaco se obtienen mayores niveles sanguíneos; además, los metabolitos que se han detectado al usar este compuesto son los mismos que los encontrados al administrar mebendazol (9).

2.1.5 Toxicidad

Debido, probablemente, a su mínima absorción el mebendazol no causa toxicidad sistémica en su uso clínico, aún en presencia de anemia y desnutrición. En raras ocasiones se han observado efectos secundarios, entre los que se cuentan: dolor abdominal a la expulsión de parásitos, diarrea, mareos, cefalea, gastralgia, náusea, vómito y prurito. En 5285 casos

estudiados, sólo el 0.006% de los pacientes presentaron alguno de estos efectos (2).

Por otro lado, el mebendazol no se prescribe a mujeres embarazadas, porque ha causado efectos teratógenos y embriotóxicos en ratas (2, 3, 14). Desde luego, tampoco es utilizado en pacientes que han mostrados reacciones alérgicas al mismo.

2.1.6 Formas farmacéuticas y dosificación

En México, las formas farmacéuticas que se preparan son tabletas de 100 mg y, suspensión oral de 100 mg de mebendazol/5 ml.

El esquema de tratamiento de este medicamento no cambia con la edad o peso corporal ya que no provoca efectos secundarios. La dosis común es de 100 mg cada 12 horas durante tres días consecutivos, pero varía en función de la infección a tratar.

Algunos nombres comerciales con los que se conoce al mebendazol son: Vermox, Mebutar, Pantelmin, Nemasole y Vermirax.

2.2 Validación de métodos analíticos

La validación de un método analítico es el proceso mediante el cual queda establecido, por estudios experimentales, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada (1).

Los parámetros analíticos que generalmente se consideran en la validación de métodos de valoración para formas farmacéuticas son:

- linealidad y rango
- especificidad
- precisión
- exactitud
- tolerancia
- estabilidad de la muestra

Desde luego, el criterio para validar métodos analíticos no es uniforme. La elección de los experimentos para la validación de un método depende de: la aplicación que se le va a dar, las necesidades de cada laboratorio, los requerimientos oficiales y la persona que la realiza.

A continuación se muestra una breve descripción de los parámetros arriba señalados (1, 10, 19).

2.2.1 Linealidad

La linealidad de un método analítico se define como la capacidad de éste para dar resultados directamente proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado. Estos resultados pueden ser obtenidos directamente o mediante previo tratamiento matemático a los datos obtenidos del análisis.

La linealidad se expresa, usualmente, como la variancia de la curva de regresión calculada a partir de los resultados de la prueba contra la concentración del analito, por el método de mínimos cuadrados.

Las ecuaciones utilizadas en el análisis de regresión son:

$$\text{Coef. de correlación (r)} = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i)(\sum Y_i)}{\sqrt{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2} \sqrt{n \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2}} \quad (1)$$

$$\text{Pendiente (m)} = \frac{n \sum X_i Y_i - \sum X_i \sum Y_i}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2} \quad (2)$$

$$\text{Intercepto (b)} = \frac{\sum Y_i - m \sum X_i}{n} \quad (3)$$

en donde,

n : número de datos

X_i : concentración de analito i

Y_i : resultado de la prueba

El método se considera lineal (1) cuando: $r \geq 0.99$

$a \sim 1$

$b \sim 0$

2.2.2 Rango

El rango es el intervalo comprendido entre los niveles superior e inferior de analito para los cuales se comprueba que el método es preciso, exacto y lineal.

2.2.3 Especificidad

Este parámetro es la capacidad del método para proporcionar resultados debidos únicamente al analito y no a otras sustancias que estén presentes en el producto, como excipientes o productos de degradación. En otras palabras, la especificidad es la medida del grado de interferencia (o de ausencia de ella) en el análisis de muestras complejas.

La especificidad se determina por comparación de los resultados en muestras que contienen impurezas con aquellas que no las tienen o, por análisis de placebos.

Cuando los productos de degradación no están disponibles o identificados, los resultados de esta prueba suelen ser complementados con ensayos adicionales de pureza (cromatografía, termogramas, etc.) en muestras sometidas a condiciones extremas.

2.2.4 Precisión

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados individuales obtenidos al aplicar el mismo repetidamente a una muestra homogénea. Este parámetro se mide con la reproducibilidad y la repetibilidad. La reproducibilidad muestra la variación entre los resultados encontrados por diferentes analistas, mientras que la repetibilidad lo hace entre resultados de una misma persona.

La precisión se expresa como la desviación estándar o como el coeficiente de variación obtenidos, los cuales se calculan mediante las ecuaciones 4 y 5 respectivamente.

$$\text{Desviación estándar } (S) = \sqrt{\frac{\sum (Y_i - \bar{Y})^2}{n - 1}} \quad (4)$$

$$\text{Coeficiente de variación } (CV) = (S / \bar{Y}) . 100 \quad (5)$$

en donde,

Y_i : resultado individual

\bar{Y} : promedio de todos los resultados individuales

n : número de resultados

2.2.5 Exactitud

La exactitud es una medida de la concordancia entre los resultados obtenidos por el método y los valores reales. Frecuentemente se expresa como el porcentaje de recobro encontrado:

$$\% \text{ recobro} = \frac{\text{cantidad de analito encontrada}}{\text{cantidad de analito real}} \times 100 \quad (6)$$

Generalmente, los estudios de recobro se realizan por aplicación del método a un placebo adicionado del principio activo en cantidades conocidas. Otra alternativa es realizar lo mismo utilizando un producto terminado en lugar de el placebo. Cada una de estas dos formas tiene sus ventajas y desventajas: con el producto terminado se utilizan excipientes ya expuestos al proceso de producción, pero no se pueden obtener resultados para contenidos menores al declarado en el mismo; un placebo, en cambio, no ha pasado por el mismo proceso que aquél, pero sirve para realizar estudios en contenidos menores y mayores al 100%. También en ocasiones, el prin cipio activo se adiciona a una mezcla de todos los excipien-

tes, hecha en el laboratorio, que funciona como placebo.

El criterio general para la aceptación de un método analítico como preciso y exacto, en el caso de suspensiones, es (1):

El coeficiente de variación (CV) \leq 3.0% y, el porcentaje de recobro = 97 - 103 %.

2.2.6 Tolerancia

La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad entre resultados obtenidos del análisis de una muestra homogénea bajo condiciones de prueba diferentes. Estas condiciones pueden ser: diferentes lotes de reactivos, de días, instrumentos, analistas, temperaturas de análisis, etc.

2.2.7 Estabilidad de la muestra

Para determinar si la muestra mantiene constante su propiedad medible, los resultados que se obtienen el día de su preparación se comparan con aquellos obtenidos después de un tiempo determinado. De esta manera se puede saber si es posible preparar la muestra y medir su respuesta después de un período.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Desarrollo del método

La elección del método analítico tomó en consideración las siguientes características:

- * Exactitud y precisión requeridas
- * Disponibilidad de material y equipo
- * Utilidad para el análisis de formulaciones diferentes de mebendazol en suspensión
- * Posibilidad de realizarse por cualquier persona, bajo las condiciones establecidas
- * Tiempo y costo del análisis

Se eligió la técnica de espectrofotometría debido a la disponibilidad del equipo en el laboratorio en el que se desa

rolló el tema y a la necesidad de implementar un método sencillo y económico.

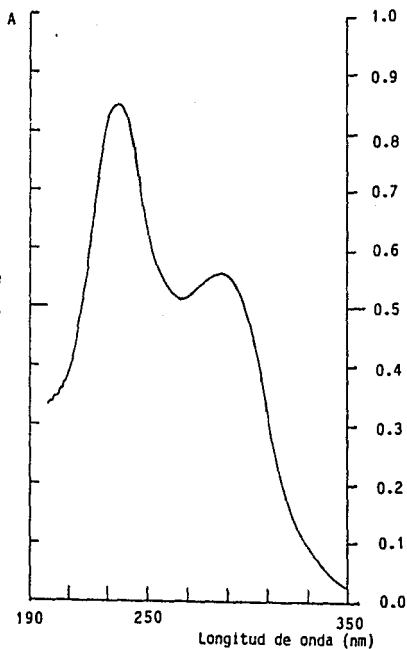
El sistema de disolventes que se decidió usar fue una mezcla de ácido fórmico en agua (3/1000), ya que es adecuado para la disolución del principio activo y su costo no es elevado. El espectro obtenido con una solución estándar de mebendazol se muestra en la figura 1. En este sistema, los excipientes contenidos en suspensiones de mebendazol mostraron interferencias importantes; por ejemplo, el colorante usado por uno de los fabricantes dio una absorbancia a 288 nm equivalente a un 2% del contenido de mebendazol etiquetado. Por consiguiente, fue necesario un tratamiento previo para la eliminación de interferencias.

Basándose en las solubilidades del mebendazol en agua y en ácido fórmico, se propuso un método con centrifugaciones. Las primeras, con agua, para eliminar la mayoría de los excipientes y; las posteriores, con ácido fórmico, para extraer el principio activo del sedimento resultante de aquellas.

Los volúmenes de agua y los tiempos de centrifugación en las extracciones fueron establecidos con seis formulaciones, correspondientes a diferentes fabricantes nacionales de la suspensión (proveedores del IMSS).

Por último, para determinar la validez del método, se realizaron los experimentos señalados en el inciso 3.3.

Figura 1
Espectro de absorción de
mebendazol en ácido fórmico/agua (3/1000).
Absorbancias máximas a
288 y 234 nm.



3.2 Método

Material y equipo.- Se utilizó una centrifuga Beckman modelo TJ-6 y un agitador mecánico (vortex). Las medidas de

absorbancia fueron leídas en espectrofotómetros Beckman modelos DU-7 y DU-8, con repetibilidades fotométricas de $\pm 0.25\%$ A y de $\pm (0.001 \text{ a } 0.004)$ A respectivamente, e intervalos de longitud de onda de 190-800 nm. Se usó material de vidrio de uso común en el laboratorio y una Autobalanza Perkin Elmer modelo AD-22.

Sustancia de referencia de mebendazol (estándar).

Acido fórmico R.A. y agua destilada.

Preparación de la solución estándar.- Pesar con exactitud una cantidad aproximada a 10 mg de la sustancia de referencia de mebendazol, transferir a un matraz volumétrico de 100 ml, adicionar 3 ml de ácido fórmico, agitar hasta disolver y aforar con agua destilada y mezclar. Transferir una alícuota de 10 ml de esta solución a un matraz volumétrico de 100 ml, aforar con agua y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 10 μg de mebendazol/ ml.

Preparación de la muestra.- Mezclar el contenido de cinco frascos y transferir una alícuota de 5 ml a un tubo de centrífuga de 50 ml, agregar 25 ml de agua destilada, agitar en vortex un minuto y centrifugar a 3500 rpm 15 minutos. Desechar la mayor parte posible del sobrenadante, de manera que no se pierda sedimento. Repetir la operación dos veces más, resuspendiendo el sedimento de la tercera centrifugación en 2 ml del sobrenadante. Adicionar 30 ml de ácido fórmico, a-

gitar en vortex hasta dispersar por completo y centrifugar a 3500 rpm 5 minutos. Transferir el sobrenadante a un matraz volumétrico de 100 ml. Añadir 15 ml de agua destilada al tubo de centrifuga con el sedimento restante, agitar, centrifugar a 3500 rpm 5 minutos. Reunir el sobrenadante de esta última centrifugación con el de la anterior en el matraz de 100 ml. Aforar con agua destilada y mezclar. Transferir una alícuota de 1 ml de esta solución a un matraz volumétrico de 100 ml, aforar con agua y mezclar.

Procedimiento.- Obtener las absorbancias de la preparación de la muestra y de la solución estándar a la longitud de onda de máxima absorción (288 ± 1 nm) usando como blanco una mezcla de ácido fórmico en agua (3/1000) y celdas de 1 cm.

Calcular los miligramos de mebendazol en 5 ml de la suspensión por medio de la ecuación 7

$$\frac{\text{mg MBZ}}{5 \text{ ml}} = 10 C \left(\frac{A_m}{A_s} \right) \quad (7)$$

en donde,

C : concentración de la solución estándar en microgramos por mililitro ($\mu\text{g/ml}$)

A_m : Absorbancia obtenida con la preparación de la muestra

A_s : Absorbancia obtenida con la solución estándar

3.3 Validación del método

Para validar el método se determinaron los siguientes parámetros: linealidad del sistema, especificidad, precisión y exactitud del método, linealidad del método, tolerancia y estabilidad de la muestra.

3.3.1 Linealidad del sistema

Con el objeto de conocer la respuesta del sistema y saber la factibilidad del método para proporcionar resultados lineales se realizó un estudio de linealidad con soluciones estándares de mebendazol.

Se prepararon soluciones de mebendazol en concentraciones de 5, 7.5, 9.0, 10.0, 11.0, 12.5 y 15.0 ug/ml, correspondientes a un intervalo de 50 a 150% de la concentración final teórica al aplicar el método. Las absorbancias de cada solución se leyeron en el espectrofotómetro a la longitud de onda de máxima absorción de 288 ± 1 nm. Esto se realizó por duplicado, en dos días diferentes y con distintos lotes de reactivos. Los datos y resultados se muestran en la tabla A1.

3.3.2 Especificidad

El estudio de este parámetro se dividió en dos partes:

estudios con placebos y, estudios con suspensiones mantenidas bajo condiciones extremas.

3.3.2.1 Estudios con placebos

Se aplicó el método a dos diferentes placebos preparados en el laboratorio (tabla 3.1). Las cantidades de excipientes y procedimientos de preparación se basaron en las formulaciones reportadas por seis proveedores del IMSS.

3.3.2.2 Estudios con suspensiones mantenidas bajo condiciones extremas

En la tabla 3.2 se observan las condiciones que se mantuvieron en este estudio.

Posteriormente, cada muestra se analizó con el método propuesto y los resultados se complementaron con preparaciones de cromatografía en capa delgada. Los resultados se muestran en el capítulo 4.

3.3.3 Exactitud y precisión del método

Para la determinación de estos parámetros, se prepararon suspensiones por adición de cantidades conocidas de mebenzazol a cada uno de los dos placebos utilizados en el estudio de especificidad.

Tabla 3.1 Formulación de los placebos utilizados

Placebo 1		Placebo 2	
Nipasol	0.050 g	Nipasol	0.050 g
Nipagin	0.150 g	Nipagin	0.180 g
Glicerina	8.000 g	Azúcar	15.000 g
Azúcar	27.500 g	Propilénglicol	10.000 g
Sacarina sódica	0.200 g	Alcohol 96°	0.60 ml
Alginato sódico	0.300 g	Carbopol 934	0.063 g
Tween 80	0.050 g	Goma de tragacanto	0.068 g
Tween 20	0.050 g	Metil celulosa	0.250 g
EDTA disódico	0.030 g	CMC sódica	0.013 g
Acido cítrico	0.120 g	Avicel	0.500 g
Citrato de sodio	0.800 g	Acido cítrico	0.050 g
Amarillo no. 6	0.030 g	Antiespumante	0.020 g
Esencia de cereza	0.200 ml	Rojo No. 3	0.001 g
Lauril sulfato de sodio	0.100 g	Trietanolamina	0.200 g
Agua destilada cbp	100 ml	Agua destilada cbp	100 ml

Tabla 3.2 Condiciones extremas estudiadas

MUESTRA	Temperatura	Tiempo
Producto comercial adicionado de agua destilada	Temperatura ambiente	4 semanas
Producto comercial adicionado de NaOH 0.1N (pH = 12.1)	60 - 62°C	1 semana
Producto comercial adicionado de HCl 0.1N (pH = 1.3)	60 - 62°C	4 semanas
Placebo correspondiente al producto comercial adicionado de HCl 0.1N (pH = 1.2)	60 - 62°C	4 semanas

El intervalo elegido para estudiar exactitud y precisión del método fue de 50 a 150% de contenido en el producto (50 a 150 mg MBZ/5 ml). De esta manera, existe confiabilidad en la medición del contenido del principio activo, aunque se encuentre fuera de los límites de aceptación. Por otra parte con un intervalo amplio pueden hacerse variaciones en la cantidad de suspensión a medir, ya sea por falta de material o de muestra.

Para llevar a cabo la prueba de exactitud se adicionaron cantidades de 50, 100 y 150 mg MBZ/5 ml de placebo y se mezcló para obtener suspensiones homogéneas. Se aplicó el método a cada una y se calculó el porcentaje de recobro. Con el objeto de estudiar al mismo tiempo la precisión, se realizaron seis determinaciones a cada concentración; en total se recavaron doce datos (seis correspondientes a cada placebo). Los datos se muestran en la tabla A2.

3.3.4 Linealidad del método

Para el estudio de la linealidad del método, se obtuvieron datos de recobro a dos concentraciones más: 75 y 125 mg de MBZ/5 ml. Así, se reunieron una serie de resultados que proporcionaron una curva de cantidad recuperada VS cantidad adicionada, con la cual se evaluó este parámetro de una manera representativa. Los datos se muestran en la tabla A3.1.

3.3.5 Tolerancia y reproducibilidad del método

3.3.5.1 Tolerancia

Se analizaron muestras de la suspensión de un fabricante del producto cambiando algunas condiciones del método. El propósito de esta prueba fue determinar si existen pasos críticos del análisis, que requieran de especial cuidado para obtener resultados confiables, por ello:

a) se consideró importante variar la cantidad de ácido fórmico adicionada a las muestras. El mebendazol mostró dos absorbancias máximas, como se aprecia en la figura 1; se eligió leer las muestras a 288 nm debido a que en esta longitud de onda el ácido fórmico no mostró absorción, como en la de 234 nm (ésto se determinó al correr un espectro de ácido fórmico contra aire como blanco). Sin embargo, se prepararon muestras con diferentes volúmenes de ácido (27, 30 y 33 ml) para asegurar que ésto no afectara los resultados;

b) se realizaron centrifugaciones con agua en un día, y se continuó con el análisis el día siguiente. Lo anterior se hizo para comprobar la factibilidad de preparar la muestra en dos días consecutivos;

c) se varió también la concentración comercial de ácido

fórmico (Baker 88% a Merck 98-100%), para saber si puede cambiarse una por otra según su disponibilidad o costo, y;

d) se realizó el método extrayendo dos veces con ácido fórmico (15 ml cada vez), en lugar de una sola extracción con 30 ml. El propósito fue determinar si se pueden utilizar tubos de centrifuga más pequeños, en los que no podrían adicionarse 30 ml de una sola vez.

Los datos se muestran en la tabla 4.1.

3.3.5.2 Reproducibilidad del método

Dos analistas diferentes aplicaron el método a una muestra homogénea. Para ésto se eligió un lote que cumplió satisfactoriamente con los límites de aceptación del producto. Cada analista realizó seis determinaciones de la muestra. Los datos se muestran en la tabla A.4.

3.3.6 Estabilidad de la muestra

Las muestras, listas para ser leídas en la prueba de reproducibilidad del método, se leyeron nuevamente en el espectrofotómetro después de 72 horas de su preparación. Los resultados se compararon con los obtenidos el mismo día, para saber si la muestra mantiene estable su absorción. Datos en

la tabla 4.3.

3.3.7 Aplicación del método a lotes comerciales

Finalmente, el método propuesto se aplicó a seis lotes, pertenecientes a tres diferentes proveedores del IMSS. Se eligieron formulaciones con distintos tipos de excipientes y de viscosidades entre aquellas que se utilizaron para el desarrollo del método.

4. RESULTADOS

4.1 Linealidad del sistema

Con el objeto de tener una mayor apreciación de los resultados y debido a que los datos de absorbancia varían de un día a otro como resultado de diferente calibración del equipo de celdas o de lotes de reactivos, se calculó el porcentaje de recobro en cada medición con una variación de la ecuación 6:

$$\% \text{ RECOBRO} = \frac{\text{Cantidad encontrada}}{\text{Cantidad adicionada}} \cdot 100 \quad (6)$$

en donde,

Cantidad adicionada: concentración de mebendazol ($\mu\text{g/ml}$) en cada solución preparada.

Cantidad encontrada: concentración de mebendazol ($\mu\text{g/ml}$) calculada a partir de la línea de regresión de la curva Cantidad adicionada VS Absorbancia obtenida.

El sistema proporcionó datos de absorbancia que variaron de manera lineal con respecto a la concentración de mebendazol, es decir que se cumplió la ley de Beer.

El sistema se considera lineal, ya que el coeficiente de correlación fue de 0.9999, la pendiente de 1.0002 y, el intercepto de -0.0026 ug/ml . Estos resultados se aprecian en la figura 2 (Datos en la tabla A1).

4.2 Especificidad

4.2.1 Estudios con placebos

Al aplicar el método a los placebos 1 y 2, la mayoría de los excipientes se disolvieron en agua y, por lo tanto se eliminaron al centrifugar con ella. Se encontró que otros excipientes, como el avicel, sedimentaron con agua, igual que el mebendazol; sin embargo, no se extrajeron con ácido fórmico, ya que no son solubles en él, por lo que fueron eliminados.

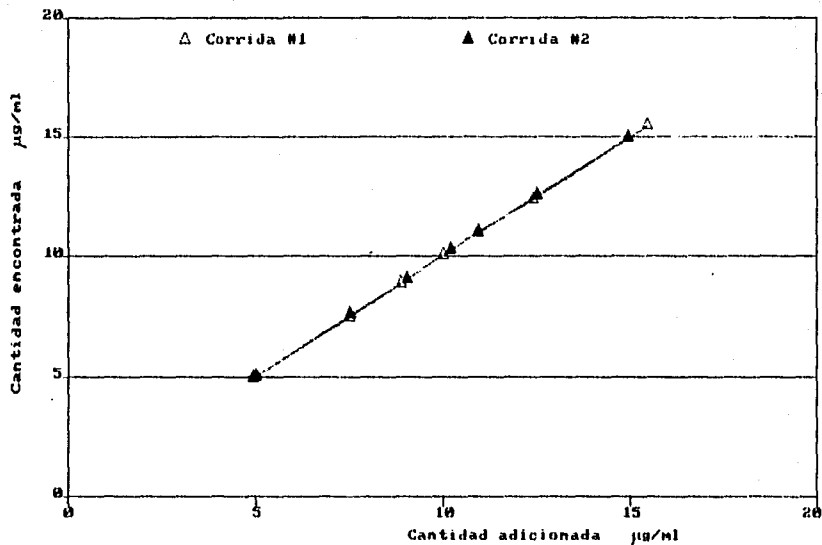


Figura 2. Linealidad del sistema.

Parámetros estadísticos: $r = 0.9999$, $m = 1.0002$ y,
 $b = -0.0026 \mu\text{g/ml}$

Aunque se observó que no se desecharon los excipientes en su totalidad, éstos no interfirieron en las lecturas de absorbancia del principio activo.

4.2.2 Estudios con suspensiones mantenidas bajo condiciones extremas

Al considerar como referencia al producto adicionado de agua, se obtuvieron los siguientes resultados:

- a) la adición de álcali a la suspensión (mantenida a un pH de 12.1), provocó su degradación en una semana. Como se mencionó en el capítulo 2.1, el mebendazol sufre hidrólisis alcalina. Esto fue comprobado al realizarse una cromatografía en capa delgada de la muestra y no detectar mebendazol. Por otra parte, al aplicar el método propuesto, tampoco se identificó el principio activo; se observó que no hubo sedimento al centrifugar con agua (donde se encontraría el mebendazol), ni aún cuando se cambió previamente el pH a 5.3. De estos resultados se dedujo que el producto de degradación formado no afecta en la determinación;

- b) la muestra mantenida a pH ácido (1.3) sufrió modificaciones en su aspecto: la suspensión fue inestable y sedimentó aunque pudo ser resuspendida con facilidad. Al valorar mebendazol se obtuvieron iguales resultados que con la mues-

tra de referencia (adicionada de agua). Sin embargo, mediante cromatografía en capa delgada se detectó otra mancha de menor tamaño a un $RF = 0.42$ además de la correspondiente a mebendazol. Esa mancha fue debida a excipientes, lo cual se demostró al observarla también en una cromatoplaaca corrida con el placebo correspondiente mantenido bajo las mismas condiciones. Lo anterior comprobó que los excipientes se degradan al pH estudiado.

4.3 Exactitud y precisión del método

En la tabla 4.1 se muestran los promedios de los datos obtenidos en la determinación de estos parámetros (datos completos: tabla A2). Como se observa, los porcentajes de recobro y coeficientes de variación estuvieron dentro de los límites de aceptación para esta prueba (inciso 2.2).

Tabla 4.1 Exactitud y precisión del método

mg MBZ adicionados	mg MBZ encontrados	% RECOBRO	C. V.
50.0	49.9	99.81	0.64%
100.0	100.0	100.02	0.61%
150.0	149.9	99.96	0.50%

4.4 Linealidad del método

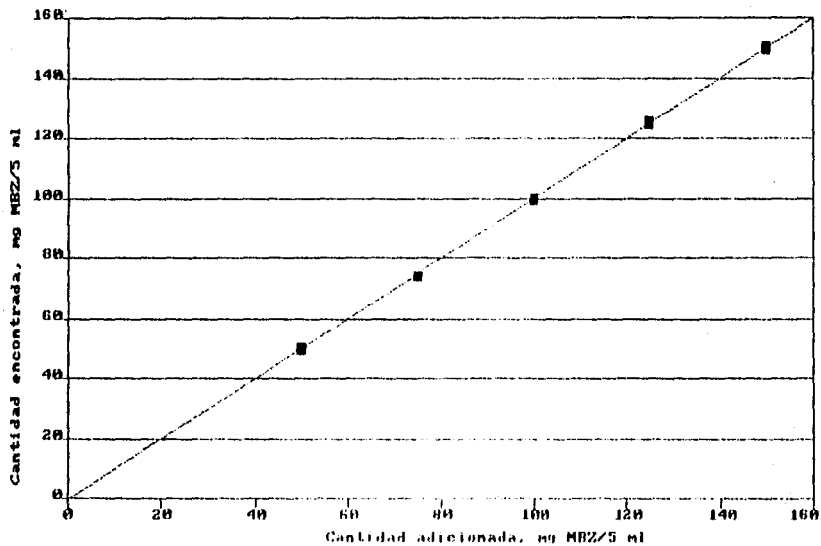


Figura 3. Linealidad del método

Parámetros estadísticos: $r = 0.9999$, $m = 1.0016$ y, $b = -0.2400$
 (mg MBZ/5ml)

Con los resultados de recobro del estudio anterior y los obtenidos para concentraciones de 75 y 125%, se recavaron cinco pares de datos (de contenido y porcentaje de recobro). Con ellos se evaluó la linealidad del método. En la figura 3 se representan los resultados, que corresponden a la tabla A3.

El análisis de regresión proporcionó los siguientes resultados: el coeficiente de correlación (r) = 0.9999, la pendiente (m) = 1.0016 y, la ordenada al origen (b) = -0.2400. Estos valores se encuentran dentro de los límites de aceptación para linealidad, por lo que el método se considera lineal.

4.5 Tolerancia y reproducibilidad

4.5.1 Tolerancia

En la tabla 4.2 se observa el contenido de mebendazol encontrado en una suspensión, después de haber realizado el método con las variaciones mencionadas en el inciso 5.3.5.2.

Los resultados obtenidos en esta prueba fueron equiparables a los obtenidos en la prueba de precisión del método (los coeficientes de variación fueron similares). Por lo tanto, las diferencias que se observaron en cada determinación

Tabla 4.1 Tolerancia

Variación del procedimiento	mg MBZ/5 ml	Contenido prom.	C. V.
a) Análisis normal	90.41		
b) 27 ml de ácido fórmico	89.72		
c) 33 ml de ácido fórmico	91.07		
d) Centrifugaciones con agua en un día y continuación del método al día siguiente	90.34	90.23 $\frac{\text{mg}}{5 \text{ ml}}$	0.64%
e) Cambio de concentración comercial de ácido fórmico	90.41		
f) Dos extracciones con ácido fórmico (15 ml c/u)	89.43		

no se debieron a los cambios señalados, ya que la misma desviación se encontró al repetir el análisis sin variar estas condiciones (prueba de precisión).

En la figura 4 se muestra cómo la cantidad de ácido fórmico adicionado no afectó (con los volúmenes estudiados) en la absorbancia a 288 nm, pero sí lo hizo a 234 nm. Por consiguiente, la lectura de absorción debe hacerse a la longitud de onda de 288 nm. De esta manera, un error en la medición de ácido fórmico no afecta los resultados.

4.5.2 Reproducibilidad del método

En la figura 5 se muestran los contenidos de mebendazol

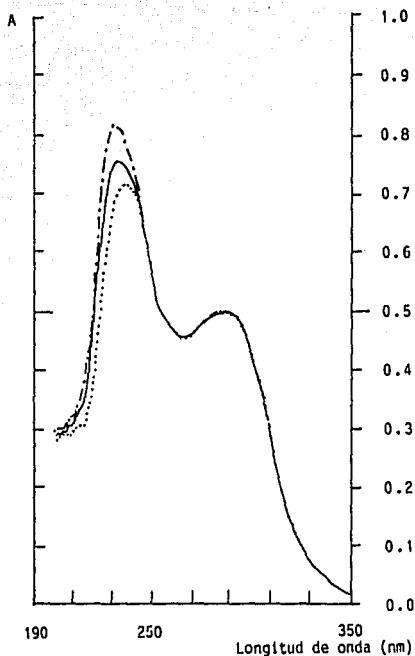


Figura 4. Tolerancia,
efecto de la cantidad de ácido fórmico

		Absorvancias máximas
4.A (—)	Análisis normal 30 ml de HCOOH	0.755 a 234 nm; 0.495 a 288 nm
4.B (- - -)	con 27 ml de HCOOH	0.713 a 237 nm; 0.492 a 288 nm
4.C (·····)	con 33 ml de HCOOH	0.812 a 232 nm; 0.499 a 288 nm

Equipo utilizado: espectrofotómetro Beckman DU-8.

encontrados por los dos analistas en el lote seleccionado para la realización de esta prueba.

Entre las 12 determinaciones se obtuvo un coeficiente de variación (CV) de 1.40%. El contenido promedio encontrado fue de 93.05 mg MBZ/ 5 ml (la formulación de marbete contiene 2.0 g de MBZ y vehículo cbp 100 ml).

Con el fin de visualizar mejor los resultados, se tomó el contenido promedio encontrado como un 100%, como se observa en la figura 5. Ahí se muestra que la variación estuvo dentro de los límites de aceptación para esta prueba, aunque no fue semejante a la obtenida en el estudio de precisión.

Es importante mencionar que el analista 2, no fue el mismo que realizó la prueba de precisión. Por lo mismo, se deduce que el método puede ser aplicado por diferentes analistas y obtener la misma variación.

La desviación encontrada por el analista 1, se debió probablemente a errores al azar, ya que ambos analistas utilizaron el mismo tipo de material, reactivos y equipos.

4.6 Estabilidad de la muestra

Las muestras listas para ser leídas en el espectrofotó-

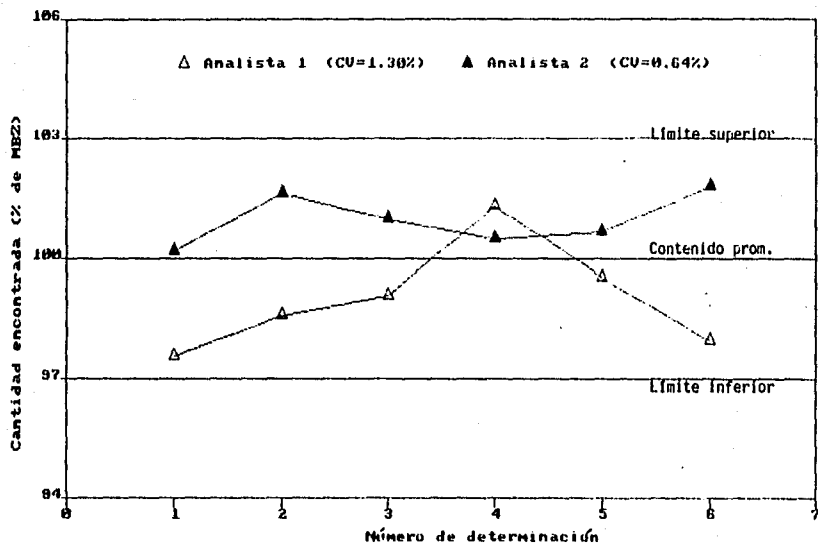


Figura 5. Reproducibilidad del método

Los límites superior e inferior se calcularon con base en el coeficiente de variación aceptable (3%).

metro mantuvieron estable su absorción después de un período de 72 horas (a temperatura ambiente); este lapso equivale a un fin de semana. Los resultados se muestran en la tabla 4.3

Tabla 4.3 Estabilidad de la muestra

Analista	No. de muestra	Contenido encontrado (mg MBZ/5 ml)	
		Inicial	A las 72 hs (T amb)
2	1	93.21	92.89
	2	94.57	93.79
	3	93.97	93.19
	4	93.51	92.58
	5	93.66	92.89
	6	94.72	93.79
1	1'	90.98	91.56
	2'	91.73	92.01
	3'	92.18	92.61
	4'	94.27	95.16
	5'	92.63	93.36
	6'	91.13	91.71
Contenido promedio		93.05	92.96
S		1.30	1.01
C. V.		1.40%	1.08%

Como se esperaba, el mebendazol no se degradó signifi-

cativamente en los disolventes empleados durante el tiempo estudiado. La diferencia obtenida en las desviaciones estándar pudo ser atribuida a la calibración del espectrofotómetro.

Se aplicó la prueba de t para comparación de los contenidos promedio encontrados (iniciales y después de 72 horas), obteniéndose un valor de $t = 0.1222$. Para una confiabilidad de 95%, el valor teórico de t es de 2.2281, por lo tanto los dos grupos de mediciones mostraron contenidos promedio iguales.

4.7 Aplicación del método a lotes comerciales

El método fue aplicado, tal como se describió en el inciso 3.2, a tres formulaciones diferentes. Los resultados se muestran en la tabla 4.4.

En todos los lotes analizados se encontraron contenidos dentro de los límites de aceptación del producto (90 - 110 mg de MBZ/5 ml).

Tabla 4.4 Aplicación del método a lotes comerciales

Proveedor	Lote	Contenido (mg MBZ/5ml)			Contenido prom.	C.V.
		1º	2º	3º		
X	A	89.37	89.98	90.99	90.11	0.90%
X	B	96.48	94.48	95.15	95.37	1.07%

Tabla 4.4 ...Continuación

Proveedor	Lote	Contenido (mg MBZ/5 ml)			Contenido prom.	C. V.
		1º	2º	3º		
Y	C	98.70	99.97	98.51	99.06	0.80%
Y	D	104.16	103.80	104.52	104.16	0.34%
Z	E	95.65	94.57	96.36	95.53	0.94%
Z	F	96.58	97.48	97.12	97.06	0.47%

Al realizar el método, los sobrenadantes de las primeras centrifugaciones (con agua), se observaron diferentes: unos más translúcidos que otros. En cualquier caso, lo importante es apreciar una separación clara entre el sobrenadante y el sedimento después de cada centrifugación.

4.8 Resumen de resultados

A partir de los resultados resumidos en la tabla 4.5, se dedujo que el método tiene la exactitud y la variabilidad requeridos. Por lo tanto, es posible su aplicación para la determinación de mebendazol en suspensiones.

Tabla 4.5 Resumen de resultados

PARAMETRO	Criterios de aceptación	RESULTADOS
LINEALIDAD DEL SISTEMA	$r \geq 0.99$ $m \sim 1$ $b \sim 0$ $CV \leq 0.7\%$	$r = 0.9999$ $m = 1.0002$ $b = -0.0026$ $CV = 0.31\%$
EXACTITUD Y PRECISION DEL METODO*	$\% \text{ RECOBRO} = 97-103\%$ $CV \leq 3.0\%$	$\text{RECOBRO} = 99.93\%$ $CV = 0.58\%$
LINEALIDAD DEL METODO*	$r \geq 0.99$ $m \sim 1$ $b \sim 0$	$r = 0.9999$ $m = 1.0016$ $b = -0.2400$
TOLERANCIA Y REPRODUCIBILIDAD DEL METODO*	$CV \leq 3.0\%$	Tolerancia: $CV = 0.64\%$ Reproducibilidad: $CV = 1.40\%$

* Límites para métodos en suspensiones (1).

5. CONCLUSIONES

Por todo lo expuesto en el capítulo anterior, se concluye que el método desarrollado cumple satisfactoriamente con las características necesarias para su uso:

- a) tiene la precisión, exactitud y especificidad requeridos, como se demostró con las pruebas correspondientes;
- b) puede ser realizado por cualquier analista, bajo las condiciones de prueba establecidas. Además, el método tolera de terminados cambios sin que ello altere los resultados: se pueden utilizar diferentes concentraciones comerciales de ácido fórmico, la muestra puede leerse un día o un fin de semana después de su preparación o bien, puede prepararse en dos días consecutivos cuando el tiempo disponible en uno so

lo no es suficiente;

- c) es aplicable a formulaciones diferentes de mebendazol en suspensión, lo cual se deduce a partir de los resultados obtenidos con las pruebas a lotes de distintos proveedores. Esta característica es fundamental para su aplicación en un laboratorio evaluador porque permite el análisis de suspensiones de varios fabricantes a un mismo tiempo y utilizando los mismos reactivos. Desde luego, queda fuera del alcance del método el aseguramiento de su funcionalidad para reformulaciones del producto por parte de los proveedores;
- d) la duración aproximada del análisis es de tres horas. Este período es adecuado, ya que podemos encontrar análisis más cortos, pero no funcionales para todas las formulaciones consideradas en este estudio. Por otro lado, el sistema de disolventes empleado es muy económico: se compone de ácido fórmico y agua, ésta en mayor proporción.

Por último, por no existir un método oficial o farmacopeico para el análisis de mebendazol en suspensiones, se propone el expuesto en este trabajo para dicho objetivo. Se sugiere, sin embargo, una validación del método para los laboratorios que deseen aplicarlo a su formulación, debido a posibles diferencias en excipientes con respecto a los de este estudio.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Alcántara, A. (1987), Apuntes del curso "Validación de métodos analíticos", CSEBIOFAR AP, México, D. F.
2. Biagi, F. y Alcántara R. (1986), El mebendazol como antihelmíntico, *Inv. Med. Intern.*, Vol. 13, No. 3, pp 167-74.
3. Bowman, W. C. and Rand, M. J. (1984), *Farmacología. Bases Bioquímicas y Patológicas*, 2a. edición, Cap. 37, Interamericana, México, D. F.
4. Chavarría, A. P. et al (1973), Mebendazol, un efectivo antihelmíntico de amplio espectro, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, Vol. 22, pp. 592-5.

5. Clarke, E. G. C. (1975), Isolation and Identification of drugs, Vol. 2, The Pharmaceutical Press, London, p. 1056.
6. Cuadro Básico de Medicamentos del Sector Salud (1984), México, D. F., p. 176.
7. Daniel, W. W. (1984), Bioestadística: Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud, Editorial Limusa, S. A. de C. V., México, D. F.
8. Dawson, M., Allan, R. J. and Watson T. R. (1982), The Pharmacokinetics and Bioavailability of mebendazole in man: a pilot study using [^3H]-mebendazole, Br. J. Clin. Pharmac., Vol. 14, No. 3, pp. 453-5.
9. Dawson, M. and Watson, T. R. (1983), 4-amino-3-(3'-methoxy-carbonyl-2'-thioureido)benzophenone, a prodrug of mebendazole, Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet., Vol. 8, No. 4, pp. 329-34.
10. Dawson, M., Watson, T. R. (1985), The effect of dose form on the bioavailability of mebendazole in man, Br. J. Clin. Pharmac., Vol. 19, No. 1, pp. 87-90.
11. González, L. (1980), Estudio monográfico del mebendazol, Tesis monográfica, Fac. de Química, UNAM.

12. Himmelreich, M., Rawson, B. J. and Watson, T. R. (1977), Polymorphic forms of Mebendazole, Aust. J. Pharm. Sci., Vol. 6, No. 4, pp. 123-5.
13. Kar, A. (1979), Spectrophotometric determination of Mebendazole in Pure and Dosage Forms by Complexation with Potassium Bismuth (III) Iodide, Analyst, Vol. 110 (Aug) pp. 1031-3.
14. Keystone, J. S. and Murdoch, J. K. (1979), Mebendazole, Ann. of Intern. Med., Vol. 91 (Oct), pp. 582-6.
15. Kwan, H., Kun, Y., Kil, K., and Young, H. (1976), Chemical Abstracts 85:130448t
16. Martindale, The Extra Pharmacopeia (1982), 28th Ed., The Pharmaceutical Press, London, p. 525.
17. Patel, A. A., Gandhi, T. P., Patel, P. R. and Patel, V.C (1978), Chemical Abstracts 89:169176k.
18. Pharmacopieal Forum (1983), Vol. 9, No. 2, pp. 2789-93.
19. Pharmacopieal Forum (1986), Vol. 12, No. 2, pp. 1241-5.
20. Remington's Pharmaceutical Sciences (1980), Osol A. (Ed),

- 16th edition, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, p. 1182.
21. Rollo, I. M. (1984), Quimioterapia de las enfermedades parasitarias en Goodman y Gilman (Eds), Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 6ª edición, Editorial Médica Panamericana, S. A., México, D. F., pp.1001-2.
 22. Taylor, J. K. (1983), Validation of Analytical Methods, An. Chem., Vol. 55, No. 6, pp. 600-8A.
 23. The Merck Index (1976), 9th edition, Merck and Co., Rahway, N. J., pp. 5593-4.
 24. The United States Pharmacopeia XXI - The National Formulary XVI (1985), U. S. Pharmacopeial Convention, Inc., Washington, D. C., pp. 622-3.
 25. Wabbi, Abdel-Aziz M., Onsy, S. (1978), Determination of Mebendazole, Talanta, Vol. 25, pp. 716-7.

ANEXO

TABLAS DE RESULTADOS

Tabla A1. Linealidad del sistema

Día	Cantidad adicionada de MBZ (ug/ml)	Absorbancia (288 nm)	Cantidad encontrada MBZ (ug/ml)	% RECOBRO	Promedio (%) CV (%)
U	4.95	0.2753	4.94	100.19	99.99 0.31
	7.48	0.4161	7.50	99.52	
	8.89	0.4938	8.91	99.70	
N	10.01	0.5525	9.98	100.18	
	10.98	0.6087	11.00	100.22	
O	12.44	0.6843	12.38	100.27	
	15.46	0.8555	15.49	99.80	
	5.00	0.2712	4.98	99.60	
D	7.52	0.4122	7.56	100.53	
	9.07	0.4951	9.08	100.11	
	10.21	0.5569	10.21	100.00	
S	10.95	0.5956	10.92	99.84	
	12.57	0.6847	12.55	99.73	
	14.91	0.8144	14.93	100.13	

** La cantidad encontrada es la abscisa (X') calculada a partir de la línea de regresión de la curva Cantidad adicionada (X) VS Absorbancia (Y).

Tabla A2. Exactitud y precisión del método

mg MBZ adicionados	mg MBZ encontrados	% RECOBRO	PROMEDIO DE RECOBRO	C. V.
50.00	49.64	99.27	99.81%	0.64%
	49.86	99.71		
	49.93	99.86		
	50.21	100.42		
	49.28	98.56		
	49.93	99.86		
	50.39	100.77		
	49.86	99.72		
	49.62	99.23		
	49.71	99.42		
	50.19	100.38		
50.28	100.56			
100.00	99.71	99.71	100.02%	0.61%
	100.66	100.66		
	99.22	99.22		
	100.35	100.35		
	99.95	99.95		
	99.28	99.28		
	101.24	101.24		
	100.36	100.36		
	99.82	99.82		
	100.21	100.21		
	99.26	99.26		
	100.16	100.16		

Tabla A2 ...Continuación

mg MBZ adicionados	mg MBZ encontrados	% RECOBRO	PROMEDIO DE RECOBRO	C. V.
150.00	149.99	99.99	99.96%	0.50%
	148.82	99.21		
	149.73	99.82		
	149.97	99.98		
	150.98	100.65		
	149.94	99.96		
	150.86	100.57		
	149.72	99.81		
	149.13	99.42		
	149.36	99.57		
	151.29	100.86		
	149.61	99.74		

Tabla A3.1 Estudios de recobro para contenidos de 75 y 125 mg MBZ/5 ml

mg MBZ adicionados	mg MBZ encontrados	% RECOBRO	PROMEDIO DE RECOBRO	C. V.
75.00	75.15	100.20	99.62%	0.43%
	74.58	99.44		
	74.54	99.39		
	74.83	99.77		
	74.90	99.87		
	74.60	99.47		
	75.44	100.59		
	74.60	99.47		
	74.45	99.27		
	74.72	99.63		
	74.46	99.28		
74.33	99.11			
125.00	126.55	101.24	100.10%	0.73%
	125.08	100.06		
	124.33	99.46		
	125.33	100.26		
	125.93	100.74		
	124.65	99.72		
	126.70	101.36		
	124.41	99.72		
	125.53	100.42		
	124.88	99.90		
	123.99	99.19		
124.14	99.31			

Tabla A3.2 Linealidad del método

mg MBZ adicionados	mg MBZ encontrados	% RECOBRO
50.0	49.9	99.81
75.0	74.7	99.62
100.0	100.0	100.02
125.0	125.1	100.10
150.0	149.9	99.96

Cada uno de estos datos es el promedio de 12 determinaciones de recobro (Tablas A2 y A3.1).

Tabla A4. Reproducibilidad del método

Número de análisis	% de MBZ encontrado	
	Analista 1	Analista 2
1	97.58	100.17
2	98.58	101.63
3	99.07	100.99
4	101.31	100.49
5	99.55	100.66
6	97.94	101.79
Contenido promedio	99.04	100.96
C. V.	1.30%	0.64%

El coef. de var. de las 12 determinaciones:

$$C. V. = 1.40\%$$