

29.
2ej

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



FALLA DE ORIGEN

VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA UN
INYECTABLE MULTIVITAMINICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

BEATRIZ SANCHEZ MAGAÑA

Asesor: Q. F. B. Beatriz García Vázquez

GUADALAJARA, JAL., 1989



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.

I N D I C E

CAPITULOS	PAGINA
I INTRODUCCION	1
II GENERALIDADES	5
a) Antecedentes	6
b) Validación	9
c) Vitaminas	12
d) Métodos Analfticos	18
e) Valoraciones	22
f) Inyectables	27
III MONOGRAFIAS	30
a) Materiales	
b) Métodos	
IV TRABAJO EXPERIMENTAL	41
V ESTUDIO DE RESULTADOS	50
Simbología	51
a) Materia Prima:	52
1.- Extracto de Hígado	53
2.- Cianocobalamina	54
3.- Nicotinamida	55
b) Producto Terminado:	56
1.- Separación	
2.- Cuantificación	
3.- Linealidad	
4.- Exactitud	

CAPITULOS	PAGINA
VI CONCLUSIONES	73
VII BIBLIOGRAFIA	74

I.- INTRODUCCION.

La introducción en la práctica de un recurso tan útil como la aplicación de inyectables, no surgió en la forma que hoy la conocemos, sino luego de muchas observaciones y paulatinos progresos en las ciencias biológicas y en los conocimientos tecnológicos. Los preparados inyectables, están constituidos por soluciones, suspensiones o emulsiones estériles, envasados en recipientes que conservan la esterilidad del contenido, destinados a la administración parenteral, esto es, debajo o a través de una o más capas de piel o mucosas. Algunos de ellos, se preparan en el momento por disolución o por suspensión de un polvo en un líquido o por mezcla de soluciones.

La elección de la vía de inyección varía con la droga y las necesidades terapéuticas del caso. Existen drogas que únicamente pueden administrarse por vía inyectable si se desea por ellas una determinada acción, pues las hay que tienen una actividad por vía bucal y otras por vía inyectables; otras no pueden atravesar la pared intestinal para llegar a la circulación.

En tanto que estos preparados se introducen al organismo que superando todas sus defensas, es preciso un control muy severo sobre su esterilidad, inocuidad y tolerancia por parte de los tejidos. Es la forma farmacéutica que requiere más cuidado en su preparación, porque el organismo es muy sensible a la introducción de elementos extraños, pudiendo reaccionar con graves consecuencias.

Es por esto que a través de los tiempos y según las necesidades, que en la Industria Farmacéutica se han logrado desarrollar - -

tecnologías con miras a un progreso, basando la forma de trabajo en el departamento de Control de Calidad; departamento esencial en todo laboratorio farmacéutico.

Dicho departamento es en el cual se controla la calidad de un producto, que va desde la materia prima, en el cual se determina la pureza y características químicas hasta la terminación del mismo.

Es debido a la necesidad de mantener bajo estricto control la tarea de fabricar medicamentos que se requiere de localizar, modificar o descubrir métodos y técnicas de control, que sean confiables, seguros y precisas; así como que su costo no sea excesivo en relación al equipo y los reactivos.

La Industria Farmacéutica, solo se puede desarrollar de una manera íntegra y eficaz, si se dedica una preferente atención que va desde la calidad de la materia prima, (debido a la gran diversidad de las mismas y variados procesos de fabricación), el control durante el proceso, hasta el control de un producto ya terminado.

Por esto, una vez encontrado el método de control, de un producto determinado, es necesario comprobar su: precisión, confiabilidad, eficacia, exactitud; mediante las series de pruebas necesarias, repitiéndolas las veces que se indique para su validación.

Las pruebas de control a la que son sometidos los inyectables es primeramente el control de la materia prima, que se va a utilizar para su elaboración; como un producto terminado serán principalmente: prueba de esterilidad, prueba de pirógenos, tamaño de partículas, prueba de coagulo, pH, potencia, toxicidad y por último, concentración de los principios activos ya en solución.

El presente trabajo consistió, en la separación cromato-
gráfica por capa delgada y por columna; y su cuantificación espectro-
fotométricamente de un inyectable multivitamínico.

II.- GENERALIDADES

II.- A) ANTECEDENTES

La preparación de los medicamentos, sigue siendo el objetivo primordial de la farmacia como profesión sanitaria. La misión más específica del farmacéutico, estriba en la preparación del medicamento compuesto, es decir, al fármaco asociado a excipientes, sustancias inertes, disolventes, soportes, cubiertas protectoras; que en forma adecuada, pongan a disposición del médico con la mayor simplicidad, acompañada de la máxima seguridad, sin perder la eficacia ni potencia terapéutica del medicamento.

Uno de los aspectos importantes, es el análisis para garantizar químicamente la dosis y pureza de los medicamentos simples y compuestos.

Hasta la época de la primera guerra mundial, las farmacias tuvieron el centro de la elaboración de los remedios recetados por los médicos; las fórmulas magistrales, asumían el 90% del trabajo del farmacéutico. Las materias primas, eran a partir de productos naturales o por síntesis orgánicas, creando drogas artificiales como los analgésicos, antitérmicos y antirreumáticos.

La química extractiva, sigue siendo un papel extraordinario en la búsqueda de nuevos fármacos, como sucedió al descubrirse los antibióticos, vitaminas, fermentos y hormonas etc.

Las nuevas drogas son sumamente activas, y requieren para que sean eficaces, un alto grado de pureza, correcta dosificación y una gran estabilidad que aseguren, una potencia farmacológica constante, precisa y correcta.

Los controles de calidad que se practican en los laboratorios industriales, aseguran una uniformidad y seguridad en la acción fisiológica, que está de acuerdo con una indispensable normalización terapéutica, química y biológica.

Actualmente, constituye una necesidad entre los analistas -- activamente comprometidos en el análisis de vitaminas en medicamentos, tener a su disposición métodos y técnicas que se utilizan en los laboratorios de control y de investigación. El empleo progresivamente mayor de las vitaminas en la industria farmacéutica, confiere una importancia extraordinaria en su detección y determinación cuantitativa.

Actualmente, es muy difícil para los químicos, seleccionar -- la solución apropiada para algún problema particular en el análisis de las vitaminas.

Es por esto que el principal objetivo que se propone en este trabajo, es el de validar un método, con el fin de proporcionar una -- técnica para el análisis de algunas vitaminas, fácil de realizar por -- cualquier químico y con el menor costo posible.

La Industria farmacéutica, está especialmente interesada en -- la validación de Métodos Analíticos debido a las nuevas disposiciones -- que tienen que ver con la salud y que requieren de métodos de análisis -- apropiados.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es -- la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para deter -- minar su efectividad. La validación generalmente incluye una evalua --

ción de la precisión, linealidad y exactitud; y proporciona una medida del comportamiento del método.

II.-b) VALIDACION

Validar, es una comprobación y verificación de la efectividad y reproducibilidad de una técnica, de una operación o de un proceso.

La validación del método, puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa en este caso, en términos de parámetros analíticos.

El proceso de validación de un método en particular, está basado en principios científicos adecuados y ha sido optimizado para propósitos prácticos de medición.

Para llevar a cabo una validación, se cuenta con estadísticas, gráficas de control, muestreos realizados, para ser realizados por cualquier persona bajo las mismas condiciones.

Los parámetros para determinar en una validación son:

LINEARIDAD: La linealidad de un sistema o método analítico, es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos puedan ser obtenidos directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida, los cuales son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado.

RANGO: Es el intervalo entre los niveles superior e inferior de la sustancia (incluyendo estos niveles), el cual se ha demostrado que es preciso, exacto y lineal, utilizando el método descrito.

EXACTITUD: Es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

PRECISION: La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestras de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de Desviación Estándar o del Coeficiente de Variación.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo condiciones normales de operación.

a) **REPETIBILIDAD:** Es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos aparatos y técnicas.

b) **REPRODUCIBILIDAD:** Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes analistas en diferentes días, en el mismo y/o en diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos.

LÍMITE DE DETECCIÓN: Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

LIMITE DE CUANTIFICACION: Es la menor concentración de una sustancia - en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud - - aceptables bajo las condiciones de operaciones establecidas.

ESPECIFICIDAD: Es la medida del grado de interferencia (o ausencia) - en el análisis de muestras complejas. Es la habilidad de un método -- analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia - de interés y no a otros componentes de la muestra.

TOLENCANCIA: Es el grado de reproducibilidad de los resultados analí- ticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciow- nes de las condiciones normales de operación tales como diferen es -- temperaturas, lotes de reactivos, columnas, sistemas de elución, tipos de empaque (soporte, fase estacionaria, etc.) condiciones ambientales.

11.- C) VITAMINAS

II.- C) VITAMINAS

Las vitaminas, son componentes orgánicos esenciales de las que existen en 5 a 200 ppm, en las dietas mixtas totales típicas. En alguna época se pensó que eran aminas, y recibieron el nombre de vitaminas (aminas esenciales para la vida), sin embargo muchas de ellas no son aminas. Las vitaminas se identificaron primero por la aparición de trastornos carenciales cuando se omitían en la dieta del hombre o en animales de experimentación. En el hombre, hay cinco enfermedades importantes por ausencia de estas: queratomalacia, raquitismo, beriberi, pelagra y escorbuto. La mayor parte de los signos y síntomas desaparecen administrando la vitamina adecuada.

Se ha demostrado que la mayor parte de las vitaminas, son componentes de sistemas enzimáticos, y de hecho, el término vitamina, suele reservarse para los constituyentes dietéticos esenciales que funcionan como coenzimas o precursores de las mismas. Aunque se conocen los mecanismos de acción de las vitaminas, en muchos procesos metabólicos, no siempre es fácil relacionar los síntomas de carencia con el trastorno de reacciones enzimáticas en particular.

A medida que se fueron descubriendo, cada vitamina se denominó con una letra: A, B, C, D, etc., posteriormente se identificó la estructura química de la mayor parte de ellas, y por lo tanto la clasificación por letras hoy día es prácticamente superflua.

Las vitaminas importantes en la dieta del hombre son: A, complejo B, C, D, E, y K. Las vitaminas se clasifican de dos formas por su solubilidad: Hidrosolubles que son C, y B, y Liposolubles que son A, D, E y K.

Las Hidrosolubles, se encuentran en líquido extracelular, y se excretan fácilmente por los riñones, de tal forma, que es fácil el desarrollo de una enfermedad por carencias, después de ingerir por -- corto tiempo una dieta pobre en estas vitaminas.

En general, no es probable que la sobredosis implique consecuencias graves, porque el exceso se elimina rápidamente por orina.

En cambio, el organismo puede conservar un gran depósito de vitaminas liposolubles principalmente en el hígado; la enfermedad por carencia de estas, se desarrollan después de varios meses de restringir la ingestión en personas que previamente han recibido una dieta - equilibrada. Si una vitamina liposoluble se ingiere en cantidades - excesivas y por un período prolongado, su acumulación puede causar -- signos y síntomas tóxicos.

COMPLEJO B:

Los miembros de este grupo, se clasifican en conjunto por-- que se encuentran reunidos en los alimentos; las principales fuentes-- son la carne, harina entera, chícharos, frijoles y también en la leuu dura; como se encuentran juntas en los alimentos rara vez e ven -- carencias de algunas de ellas. La mayor parte son sintetizados por la flore intestinal, aunque no siempre se sabe hasta que grado el or-- ganismo puede utilizar esta fuente.

Las vitaminas importantes del grupo B, en las dietas del -- hombre son: Tiamina (B_1), Riboflavina (B_2), Piridoxina (B_6), Liano-- cobalamina (B_{12}), Acido Fólico, Acido Nicotínico (niacina) Acido Pan-- totónico y Biotina.

NICOTINAMIDA: Se encuentra en levaduras, hígado, carnes ma-- gras, cacahuanes, chícharos, frijoles, arroz; las necesidades diarias son alrededor de 15 a 20 mg por día. El organismo no depende de -- una fuente de ácido nicotínico o nicotinamida, ya que se forma en el hígado y en los eritrocitos a partir del triptófeno; 60 mg de triptó-- feno, producen alrededor de 1 mg de nicotinamida en forma de nicoti-- nato; su conversión aumenta en el embarazo.

La carencia de nicotinamida, causa la enfermedad llamada -- pelagra, y por esto se le denominaba en ocasiones vitamina P. La pa-- lagra, se caracteriza por dermatitis, diarrea y demencia; su apari-- ción se favorece por la luz del sol y el trabajo físico intenso. La dermatitis toma la forma de una coloración intensa roja oscura en -- todas las áreas expuestas al aire y a la luz, posteriormente se torna seca y agrietada; hay inflamación de mucosas, incluyendo las del tubo

digestivo; el individuo puede presentar alucinaciones y delirio; en el perro la carencia de esta vitamina causa la enfermedad llamada lengua negra.

La carencia de esta vitamina también puede ser ocasionada en casos de enfermedades intestinales crónicas, y en el síndrome carcinomatoide. Inhibe la síntesis de lípidos; se ha utilizado en casos de hipercolesterolemia.

CIANOCOBALAMINA (B₁₂)

Es la vitamina que cura la anemia perniciosa; originalmente se extrajo del hígado, pero hoy día se obtiene por fermentación en gran escala. Las necesidades diarias de B₁₂ son alrededor de 1 microgramo y la carencia suele deberse a defectos de absorción en el intestino, más que a una ingestión dietética adecuada. La dieta suele contener cantidades mayores de las necesarias y las mejores fuentes son hígado, riñones, carne y leche. La cianocobalamina, esencial para la eritropoyesis (formación de glóbulos rojos) normal, y también participa en forma directa e indirecta en el metabolismo de los ácidos nucleicos, proteínas, grasas y carbohidratos. Su carencia causa alteraciones degenerativas en la médula espinal además de la anemia perniciosa. La B₁₂ no solo induce un aumento en los reticulocitos, la hemoglobina y el número de los eritrocitos, sino que afecta favorablemente los síntomas neurológicos; también es necesario para la biosíntesis de grupos metilo de precursores de un carbono y para la síntesis de la timidina y otros desoxirribósidos. Su acción sobre la maduración de eritrocitos es desconocida, afecta también la formación de la mielina.

EXTRACTO DE HIGADO

Es un polvo higroscópico, que aumenta el número de glóbulos-

rojos en la sangre de las personas que padecen anemia perniciosa. -
La actividad antianémica aproximada del extracto de hígado en la ane-
mia perniciosa. La actividad antianémica aproximada del extracto J.
hígado en la anemia se expresa en unidades N.F. Se conserva en al-
cohol al 25% en volumen; o en glicerina a no más del 40%; se oxida ---
fácilmente con la luz.

II. d) METODOS ANALITICOS

VALORACION AMHICRA:

Es una titulación de potencialización en relación a la basicidad de las aminas; se usan como solvente ácido acético, y como titulante perclórico en acético. Esta valoración se realiza cuando las sustancias no son solubles en agua, o hay que reforzar su carácter --- ácido o básico, para aumentar su sensibilidad al indicador.

ESPECTROFOTOMETRIA:

Este método es uno de los más simples y sencillos para la -- determinación de vitaminas; en cambio la presencia en la solución problema de otras sustancias que puedan absorber en la misma región, -- pueden interferir seriamente en la determinación o análisis. Es uno de los mejores medios para el análisis de vitaminas en preparaciones -- farmacéuticas multivitaminicas y productos similares, siempre y cuando no contengan otras sustancias con bandas de absorción en la misma zona. En la espectrofotometría, U.V., las transmisiones de luz van desde 200 a 400 nm.

CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

Es una de las técnicas de separación más usadas para el análisis en farmacia; consta de dos fases, en la cual las sustancias polares o no, van a ser retenidas dependiendo de la afinidad de ellas. -- La técnica consiste en la aplicación de una solución problema, a una -- concentración conocida o no, sobre una placa con un soporte, en relación a un estándar con concentración conocida; se escogen eluentes con la polaridad suficiente para la separación de los componentes del problema, en el cual se observará como una mancha en este caso bajo una -- lámpara de luz U.V. En seguida se extrae delinietando y raspando; luego con un solvente, se extrae el cual tenga un buen coeficiente de

extinción. La extracción del problema del soporte, se hará con -
ayuda de agitación y centrifugación en un tiempo determinado; y una -
vez hecha la separación, el líquido sobrenadante se cuantifica según -
indique el método.

CROMATOGRAFIA DE COLUMNA

Es una técnica de separación, que obliga a una mezcla de varios compuestos a separarse, a través de una columna o tubo que puede ser de metal o vidrio, con un soporte específico reducido a polvo, llamado fase estacionaria. La mezcla problema se deposita en la parte superior de la columna, el cual irá en un solvente llamado fase móvil, que irá descendiendo a través del soporte en diferentes velocidades, cada uno de los componentes de la mezcla a separar; dicho flujo es regulado por una llave de control en la parte inferior de la columna, donde al final son recogidos los compuestos ya separados. Existen muchas formas de cromatografía, en el cual los soportes pueden ser sólidos o líquidos, pero todos se basan en las distintas velocidades de migración de zona, causada por las diferentes afinidades de las fases en relación a los componentes, sus pesos moleculares, sus coeficientes de partición en los diferentes eluentes.

II.- E) VALORACIONES

VALORACION PARA MATERIA PRIMA

NICOTINAMIDA

METODO: VALORACION ANHIDRA

MATERIALES: 2 matraces de 250 ml.
 1 bureta de 25 ml.
 1 probeta de 100 ml.
 1 probeta de 25 ml.

REACTIVOS: 150 mgr. de Nicotinamida.
 10 ml. de Acido Acético.
 50 ml. de Benceno.
 Indicador Cristal Violeta.
 Ac. Perclórico en Acético 0.1 N.

ENSAYO: Disolver 150 mgr., de materia prima (Nicotinamida) en -
 10 ml. de Acido Acético.
 Adicionar dos gotas de Cristal Violeta.
 Poner en una bureta Ac. Perclórico en Acético 0.1 N para-
 titular.
 Titular la solución de Nicotinamida hasta el viré del co-
 lor.

VALORACION PARA EXTRACTO DE HIGADO

METODO: RUDKIN AND TAYLOR

MATERIALES: 1 matríz Erlenmeyer de 250 ml.
1 agitador.
Tiras de pH
2 probetas de 100 ml.
2 vasos de precipitado de 250 ml.
2 embudos de separación de 250 ml.

REACTIVOS: Muestra Problema 20 ml.
NaCN sólido.
NaOH 10%.
Sulfato de Sodio Anhidro.
Alcohol Benc fico 30 ml.
Cloroformo.
Sol. de NaCN al 10%.
Fosfato de Potasio Monobásico al 12.5%.

VALORACION:

En un matríz de 250 ml., transferir una alcuota de 20-ml. del extracto de hígado.
Agrega 0.5 gr., de NaCN sólido, y agita hasta su disolución. Ajusta el pH de 9.5 - 10 con solución de Hidróxido de Sodio al 10%.
Deja reposar por 5 hrs., a temperatura ambiente para -- completar la conversión de cianocobalamina al complejo--
dicianuro.

Agregar 2 gr., de sulfato de Sodio Anhidro, ajustar el pH, - entre 11.0 - 11.5, con solución de Hidróxido de Sodio al 10%.

Pasar a un embudo de separación, lavar con tres porciones - de Alcohol Benfílico de 5 ml. cada una, combinando los extractos alco- hólicos.

Extraer con tres porciones de Agua de 5 ml. cada una; com- - binando los extractos acuosos y pasándolos a un matrás de 25 ml y afo- rar con agua; esta será la solución A.

A una alícuota de 10 ml de la solución A, agregar 2 ml de la solución de Cianuro de Sodio al 10% (sol. 1)

A una segunda alícuota de solución A, agregar 2 ml de solu- - ción de Fosfato de Potasio Monobásico al 12.5% para ajustar el pH en- - tre 5 - 6 (Sol. 2)

Medir la extinción de cada una de las soluciones a 592 nm.

VALORACION PARA CIANOCOBALAMINA

METODO: ESPECTROFOTOMETRIA

REF. ANALISIS DE VITAMINAS

MATERIALES: Probeta de 100 ml.
 Matríz volumétrico de 100 ml.
 Vaso de precipitado de 100 ml.
 Agitador.

REACTIVOS: Sol. de Cianocobalamina al 0.01 mgr/ ml.

VALORACION:

Preparar una solución de cianocobalamina a una concentra ---
ción de 0.01 mgr/ ml.

Leer al espectrofotómetro a una absorbancia de 361 nm.

II.- F) INJECTABLES

INYECTABLES:

Los inyectables, son preparados que están constituidos por - soluciones, suspensiones o emulsiones estériles, envasados en recipientes que conservan la esterilidad del contenido, destinados a la administración parenteral, esto es, debajo o a través de una o más capas - de piel o mucosa.

Algunos de ellos se preparan en el momento por disolución o por suspensión de un polvo en un líquido o por mezcla de soluciones.

La elección de la vía de inyección, varía con la droga y las necesidades terapéuticas del caso. Es la forma farmacéutica que requiere más cuidado en su preparación, porque el organismo es muy sensible a la introducción de elementos extraños, pudiendo reaccionar con graves consecuencias, es por esto que es preciso un control muy severo sobre su esterilidad, inocuidad y tolerancia por parte de los tejidos.

Las modalidades de aplicación son la intradérmica, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intracardiaca, intraarterial, intrarraquídea, intrarticular, etc. En otros tiempos se usaba la vía peritoneal, que fue desechada, debido a los riesgos que presentaba, -- en la posibilidad de pinchar una viscera, o de contaminar una cavidad, y más aun provocar una peritonitis mecánica.

VIAS DE APLICACION DE INYECTABLES

INTRADERMICA:

Se emplea generalmente para pruebas de sensibilidad, donde -

existe poca absorción.

SUBCUTANEA:

Es cuando penetra hasta el tejido blando bajo la piel, es fácil de aplicar lo que constituye su mayor ventaja, la infusión es lenta y la absorción indefinida.

HIPODERMOCCLISIS:

Es una administración lenta de un gran volumen, y son soluciones simples e isotónicas. Estas vías no pueden utilizarse por períodos prolongados, pues el tejido se inflama, se engrosa y se vuelve doloroso, por lo tanto la reacción tisular, reduce mucho la absorción.

INTRAMUSCULAR:

Ofrece gran facilidad de aplicación, pero los volúmenes son muy reducidos; los volúmenes grandes, producen abscesos, necrosis, cansancio muscular y dolor.

ENDOVENOSA:

Se reserva para casos de emergencias, en los que se desea alcanzar con rapidez niveles plásmicos altos y cuando se trate de soluciones irritantes es como las de cloruro de calcio o de soluciones hipertónicas. Ambas deben inyectarse por esta vía, para evitar la formación de coágulos. Solo debe usarse cuando no existe otra opción; sin embargo tiene la ventaja de administrar grandes volúmenes sin mayores problemas, salvo cuando superen lo que pueden eliminar los riñones.

MONOGRAFÍAS

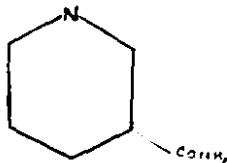
MATERIALES

MÉTODOS

NICOTINAMIDA

FORMULA CONDENSADA $C_6H_6N_2O$

FORMULA ESTRUCTURAL:



PESO MOLECULAR: 122.13

Contiene entre el 98.5 y 101.1 % de $C_6H_6N_2O$, calculado sobre base anhidra.

SOLUBILIDAD: fácilmente soluble en agua, y en alcohol; soluble en glicerina. Sus soluciones son neutras en papel tornasol.

ENSAYO DE IDENTIDAD PARA MATERIA PRIMA:

En un matraz volumétrico de 1000 ml., se disuelven 20 gr. de muestra, se afora con agua, se mezcla y se determina la absorbancia a 245 y 262 nm., usando agua como agua en el espectrofotómetro.

$$A_{245} / A_{262} = 63/67 =$$

TEMPERATURA DE FUSION: 128° y 131° C

PERDIDA DE SECADO: 0.5% de peso por 4 horas sobre sílica gel.

RESIDUO DE IGNICION: 0.1 %

DESCRIPCION: Polvo cristalino blanco, inodoro o casi inodoro con sabor amargo.

METALES PESADOS: En 10 ml. de agua, se disuelve un gr. de muestra - se agrega 7.5 ml., de solución 1 N de HCl y se diluye con agua hasta- 25 ml el límite es 30 p.p.m..

SUBSTANCIAS FACILMENTE CARBONIZABLES

En 5 ml. de solución reactivo de ácido sulfúrico, se disuelven 200 mg; la coloración de la solución no es más intensa que la de la solución tipo de comparación (véase: soluciones colorimétricas)

CONSERVACION: En recipientes herméticamente cerrados.

INDICACION: Se emplea en vitaminoterapia antipelégrica.

REF.: USP XVII

NICOTINAMIDA

METODO DE SEPARACION: Cromatografía de Capa Fina

TECNICA DE CUANTIFICACION: Espectrofotometría.

FORMULA: Cada ml. contiene:

Niacinamida	50 mgr.
Cianocobalamina	15 mcg.
Extracto de Hígado equivalente a Cianocobalamina	10 mcg.
Vehículo c.b.p.	1 ml.

PRESENTACION: Frasco ampula con 10 ml.

EQUIPO: Espectrofotómetro BECKMAN Mod- 25.

Centrífuga CLINICA INTERNACIONAL Mod- G. L. 4000 rpm.

MATERIALES: Placas para cromatografía (cromatofolios) P- 254

Cámara de vidrio para cromatografía: 6.5 cm ancho, 22.5 cm-
largo, 11 cm de profundidad.

2 Matraces aforados de 10 ml, marca IVA

6 tubos de centrífuga

REACTIVOS: Solución estándar de Niacinamida de 10 mgr/ml.

Solución problema.

Isobutanol.

Isopropanol.

Etanol 95%.

Agua destilada.

PROCEDIMIENTO PARA LA CROMATOGRAFIA:

- Lavar y secar perfectamente la cámara.

- Preparar 20 ml de la mezcla de eluentes: Isopropanol, Isobutanol, - Agua, (1:1:1) y ponerla dentro de la cámara; teparla perfectamente.
- Dejar saturando la cámara durante 2 horas.
- Aplicar en el cromatofolio 10 ml., de la solución estándar de Nicotinaide; y 10 ml., de la solución problema en cada carril y dejar que seque.
- Colocar el cromatofolio dentro de la cámara saturada, y esperar a -- que corran los eluentes, hasta un cm antes del borde.
- Sacar el cromatofolio, y esperar a que seque.
- Ver con la lámpara de luz U.V., y delinear el contorno de las manchas que aparecen.

PROCEDIMIENTOS DE EXTRACCION:

- Raspar las manchas por separado y ponerlas dentro de tubos de centrífuga cada una.
- Poner 5 ml de Etanol al 95% y agitar durante 5 minutos.
- Centrifugar durante 10 minutos a 3500 rpm, filtrar o decantar la solución.
- Pasar los sobrenadantes a la celda del espectrofotómetro.
- Calibrar el espectrofotómetro con Etanol al 95%.
- Leer a 262 nm.

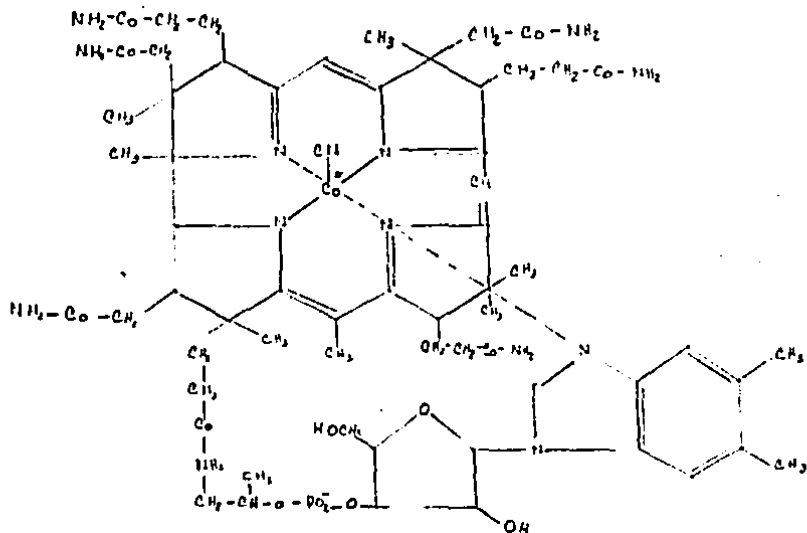
CIANOCOBELAMINA

MONOGRAFIA

Vitamina B₁₂

FORMULA CONDENSADA: C₆₃ H₈₈ Co N₁₄ P

FORMULA ESTRUCTURAL:



P.M. = 1355.40

Contiene entre el 96 y el 100.5% de $C_{63}H_{86}CoN_{14}O_{14}P$, calculado sobre base anhidra.

DESCRIPCION: Cristales de color rojo oscuro, o polvo amorfo o cristalino, rojo. La forma anhidra es muy higroscópica y expuesta al aire puede absorber el 12 % de agua.

SOLUBILIDAD: Poco soluble en agua, soluble en alcohol, insoluble en acetona cloroformo y éter.

ENSAYOS DE IDENTIDAD:

El espectro de absorción ultravioleta, de la solución de la muestra a que se mide la absorbancia en Valoración, exhibe máximas a 278 nm más menos uno a 361 y a 550 nm más menos dos nm.

La relación A 361/A 278 es entre 1.70 y 1.90; y la relación de A 361/A 550 es entre 3.15 y 3.40.

- En un crisol de porcelana, se pundo aproximadamente 1 mg de la muestra con 50 mcg de biosulfato de potasio.

- Se enfría la masa, se disgrega con un agitador de vidrio, se agrega 3 ml de agua y se calienta a ebullición; hasta su disolución

- Se agrega una gota de solución indicador de fenoftaleína, y solución de hidróxido de sodio 1:10, gota a gota hasta que tome coloración rosa. Se agregan 500 mg de acetato de sodio; 0.5 ml de ácido acético diluido y 0.5 ml de solución 1:500 de disulfonato disódico - 1 - nitroso - 2 - naftol 3,6.

Inmediatamente se produce una coloración roja o rojo-naranja. Se agregan 0.5 ml de ácido clorhídrico y se hierve durante un minuto.

En un matríz de destilación de 50 ml, se disuelven aproximadamente 5 mg, de muestra en 5 ml de agua y el matríz se conecta a un refrigerante vertical corto enfriado por agua, cuyo extremo de salida se introduce en un tubo de ensayo que contiene un ml de solución de 0.5 N de hidróxido de sodio. Al matríz se agregan 2.5 ml de ácido hipofosforoso, se tapa y se calienta a fuego lento durante 10 minutos; se destila 1 ml y se recibe en el tubo de ensayo. Al destilado se agregan cuatro gotas de solución saturada y fría de sulfato ferroso amónico, se agita suavemente, se agrega aproximadamente 20 mg de fluoruro de sodio y se hierve. Se agrega de inmediato gota a gota ácido sulfúrico diluido 1:7 hasta que la solución se aclare.

Se agrega un exceso de tres a cinco gotas de ácido sulfúrico diluido, y en pocos minutos se produce una coloración azul o verde-azulosa.

PERDIDA DE SECADO

En un horno para desecar al vacío bajo una presión de 5mm de mercurio cuando menos y a 105° C, se desecan cerca de 25 mg de muestra durante dos horas; perdiendo humedad cuando más del 12% del peso utilizado para la prueba.

CIANOCOBALAMINA

METODO DE SEPARACION: Cromatografía de Columna y Extracción.

TECNICA DE CUANTIFICACION: Espectrofotometría.

FORMULA: Cada ml. contiene:

Cianocobalamina (B ₁₂)	15 mcg.
Extracto de Hígado equivalente a Cianocobalamina (B ₁₂)	10 mcg.
Niacinamida	50 mcg.
Vehículo c.b.p.	1 ml.

PRESENTACION: Frasco ampula con 10 ml.

MATERIALES: Columnas de vidrio para C. de Columna de 30 cms.
Sílica gel para C. de Columna # 60 (0.063-0.200 mm)MERK
Matraces aforados de 100 y 50 ml.
Vasos de precipitado de 150 y 200 ml.
Probetas de 25 y 100 ml.
Embudo de separación de 250 ml.
Filtro de rama corta
Pipetas volumétricas de 1, 2 y 10 ml.
Agitadores
Matraces aforados de 500 y 1000 ml.
Soporte Universal
Pinzas para soporte
Baño María
Fibra de vidrio o pelo de angel blanco.

REACTIVOS

Sol. estándar de Cianocobalamina de 25 mcg/ml.
Solución Problema
Citrato de sodio
Acido Cítrico

HCL 0.1 N

HCL 1.0 N

Acetona 65%

Dioxano

Clorformo

Alcohol Benfílico

Sol. de Cianuro de Sodio

Cianuro de sodio sólido

Acido Sulfúrico 2 N

Sulfato de Sodio Anhidro

P-clorofenol

Isopropanol, Isobutanol, Agua destilada

a) PREPARACION DE SOLUCIONES:

1.- Solución Estándar de Cianocobalamina (B_{12}):

- Pesar 2.5 mg de Cianocobalamina puro, ponerla en un matríz de -
100 ml, y aforar con agua destilada (25 mcg/ml).

2.- Solución tampón Citrato de Sodio-Acido.Cítrico:

- 65 gr de citrato de sodio.
 - 50 gr de ácido cítrico.
 - 1000 ml de agua destilada.
- Pesar las 3 stancias y disolverlas en el agua destilada, aforar a 1000 ml; ajustar el pH a 4 con ácido cítrico.

3.- Solución Dioxano-HCL-Agua:

- 60 ml Dioxano
- 10 ml de HCL 1 N
- 30 ml de Agua

4.- Solución de NaCN al 10%:

- 10 gr de NaCN en 100 ml de agua destilada.

METODO:

- 1.- Lavar el material y socarlo.
- 2.- Colocar en la columna la fibra de vidrio o pelo de angel blanco.
- 3.- Llenar con sílica hasta una altura de 10 a 12 cm.
- 4.- Lavar la columna con la solución tampón hasta tener pH = 4
- 5.- Invertir la columna varias veces con la solución tampón, para -- evitar que queden espacios entre las partículas de la sílica.
- 6.- Eluir la solución tampón hasta que quede 5 ml por encima de la sílica.
- 7.- Tomar el pH de los líquidos eluyentes.
- 8.- Se vierte dentro de la columna la solución problema.
- 9.- Se lava con HCL 0.1 N hasta que los líquidos eluyentes no tengan coloración, quedando solamente en la parte superior una banda con coloración rojiza propia de la B₁₂.
- 10.- Se lava con 50 ml de Acetona al 65%.
- 11.- Se da un segundo lavado con HCL 0.1 N.
- 12.- Se vierte la sol Dioxano-HCL, formándose el anillo.
- 13.- Se recoge en un matríz el líquido rojizo, se centrifuga a 3500 - rpm y se filtra.
- 14.- Se lee al espectro a 361 nm.

IV TRABAJO EXPERIMENTAL

NICOTINAMIDA

Primera Prueba:

Se realizó el análisis según como indica el método (pág. 33) anteriormente descrito; en el cual a dicha concentración de los aluóntes, hubo una correcta separación entre la Cianocobalamina y la Nicotinamida, en relación con los estándares.

Longitud de Onda = 262 nm.

\bar{X} Problema: RF:

$$\frac{\text{L. Mancha}}{\text{L. Eluente}} = \frac{4.5 \text{ cm.}}{6.5 \text{ cm.}} = 0.692$$

$$\text{L. Eluente} = 6.5 \text{ cm.}$$

$$\text{Lectura a } 262 \text{ nm} = 0.537$$

\bar{X} Estándar: RF:

$$\frac{\text{L. Mancha}}{\text{L. Eluente}} = \frac{4.5 \text{ cm.}}{6.5 \text{ cm.}} = 0.692$$

$$\text{L. Eluente} = 6.5 \text{ cm.}$$

$$\text{Lectura a } 262 \text{ nm} = 815$$

NICOTINAMIDA

Segunda Prueba:

Para la realización de esta prueba, se disminuyó la concentración a 5 mgr/ml, se realizó como se indica en el método (pág. 33), una vez raspado el estándar y el problema, se extrajeron con 6 ml. de Etanol - G.R., se agitó durante 10 minutos, se centrifugó durante 20 minutos y se leyó al espectro a la longitud de onda indicada.

\bar{X} Problema: RF.

$$\frac{L \text{ Mancha}}{L \text{ Eluyente}} = \frac{5.5 \text{ cm.}}{8.0 \text{ cm.}} = 0.687$$

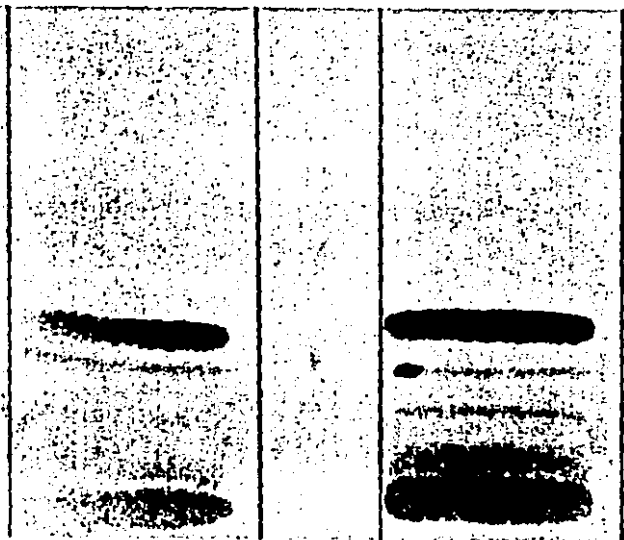
Lectura a 262 nm. = 0.378 nm.

\bar{X} Estándar: RF.

$$\frac{L \text{ Mancha}}{L \text{ Eluyente}} = \frac{5.5 \text{ cm}}{8.0 \text{ cm}} = 0.687$$

Lectura a 262 nm = 0.340 nm.

En este sistema, las manchas se encuentran bien definidas y separadas en relación al estándar.



Cromatografía en capa fina, para la separación de la Nicotinamida en un inyectable, comparado con un estándar.

PRUEBAS PARA LA SEPARACION Y CUANTIFICACION DE LA CIANCOBALAMINA:

Primera Prueba:

Esta prueba se realizó según lo indica el método (pág. 38); se usó 4 ml de la sol. problema, se corrió la cromatografía, ya al poner el problema y llevarlo con acetona, se corrió toda la muestra a través de la columna y no hubo separación.

Segunda Prueba:

Se realizó una segunda corrida como lo indica el método - - (pág. 38) pero se eluyó con una mezcla de isopropanol:isobutanol;agua (1:1:1), se logró una separación formándose dos bandas de las cuales - ninguna de las dos fueron retenidas en la columna; en esta prueba no - se usó HCL .1N.

Tercera Prueba:

Se realizó una siguiente prueba como se indica en el método, se lavó el problema con HCL .1 N hasta que los líquidos no tuvieron -- coloración, se vertió sol. de Dioxano-HCL, se formó un anillo pardo -- amarillento, se cogió en un matríz y se leyó al espectro; esta - - prueba se corrió igual con el estándar obteniéndose las siguientes lecturas a 361 nm.

$$\text{Problema} = E = 207 = 0.129$$

$$= \frac{0.129}{0.207} = \underline{0.623}$$

$$\text{Estándar} = E = 207 = 0.060$$

$$= \frac{0.060}{0.207} = \underline{0.289}$$

Cuarta Prueba:

Se preparó la columna, se colocaron 8 ml de la sol. problema se lavó con HCL .1N hasta quedar sin coloración de los líquidos eluyentes, se vertió sol. de Dioxano-HCL, se recogió el líquido eluyente, se evaporó el Dioxano por 2 horas a 60° C, se enfrió, se agregaron 5 ml de agua, 2 gr de sulfato de sodio anhidro, se pasó a un embudo de separación, se lavó con 4 porciones de 3 ml c/u de sol. de p-Clorofenol se recogieron los extractos clorofenólicos, se lavaron con ácido sulfúrico 2 N, se le agregó una gota de sol. de NaCl, 2 ml de cloroformo, 5 ml de 1-Butanol, y 5 ml de agua. Se recogió la capa acuosa en un matríz limpio y seco, se lavó con porciones de agua, se filtró y se leyó al espectro a 361 nm, contra agua como blanco.

$$\text{Lectura} = 0.038$$

$$\text{C. Ext.} = .207 = \frac{0.038}{.207} = 0.183$$

Quinta Prueba:

Se realizó otra prueba con estándar y problema a la misma concentración según la técnica anteriormente descrita en la prueba cuatro, y se obtuvieron los siguientes resultados:

$$\text{Problema} = 0.135$$

$$\text{Coeficiente Ext.} = .207 = \frac{0.135}{.207} = 0.652$$

$$\text{Estándar} = .402$$

CIANOCOBALAMINA:

En las pruebas realizadas anteriormente, se le fueron haciendo diferentes modificaciones:

- 1.- Se siguió como dice la técnica Pág. (38) y no hubo ninguna separación.
- 2.- Se modificó el eluente y el disolvente fue HCL .1 N sin tener - - buenos resultados.
- 3.- Se probó al mismo tiempo problema y estándar en la tercera prueba - y no hubo concordancia en los resultados.
- 4.- En la cuarta prueba, se cambió parte del proceso: se lavó con HCL .1 N hasta quedar sin coloración de los quidos eluyentes, se vir - - tió el Dioxano-HCL, se recogieron los líquidos, se evaporó el Dioxano a B.M. se agregó agua y sulfato de sodio anhidro ; y se realizó la separación con un embudo de separación con p-Clorofenol, - ácido sulfúrico, sol. de NaCN, Cloroformo, 1-Butanol, se recogió - la capa acuosa y se leyó al espectro a 362 nm., obteniéndose una - separación pero no resultados lógicos, por lo que se volvió hacer otra prueba.
- 5.- En esta prueba, se corrió estándar y problema de igual forma que - la prueba anterior, hubo separación de la cianocobalamina pero al realizar las lecturas al espectro no se obtuvieron resultados lógicos, ni hubo concordancia entre las lecturas del estándar con - el problema.
- 6.- Se realizó una sexta prueba modificándose la técnica en las ante - riores realizadas;

Sexta Prueba:

6 ml. de sol. problema (150 mcg/ml).

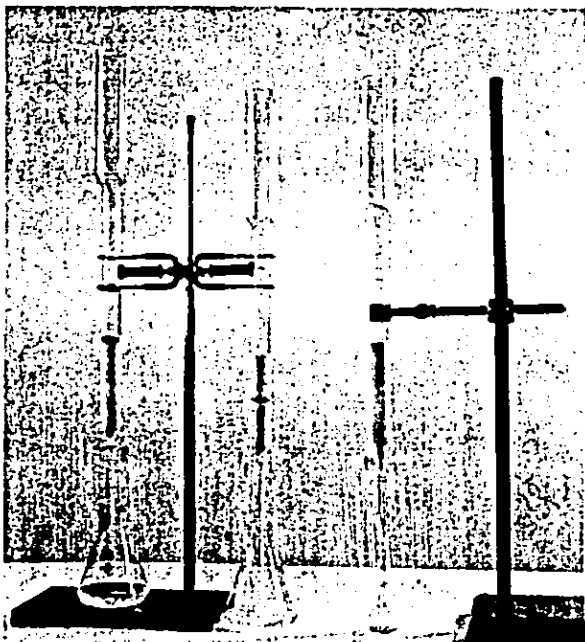
6 ml. de sol. estándar (150 mcg/ml).

- 1.- Se trató la muestra problema y estándar con sol. de NaCN al 10% ,
5 ml.
- 2.- Se dejaron reaccionar durante media hora en B.M. a 55-60° C.
- 3.- Se prepararon las columnas y se lavaron con sol. buffer.
- 4.- Se vertió en una columna el problema y en otra el estándar.
- 5.- Se lavaron ambas columnas con 150 ml de HCL .1 N hasta que no hubo coloración en los líquidos eluyentes, quedando solo una banda de color rojizo-amarillento en el extremo superior de las columnas.
- 6.- Se le puso 40 ml de sol. Dioxano-HCL, formándose en anillo y bajando a través de la columna, recogiénose en un vaso deprecipitado y por separado las muestras de estándar y problema.
- 7.- Se le agregaron a cada vaso 5 ml de agua y se pusieron a B.M. para evaporar el Dioxano, durante 2 horas a 60° C.
- 8.- Se dejó enfriar, se le agregó 2 gr. de sulfato de sodio anhidro.
- 9.- Se transfirieron a un embudo de separación cada muestra.
10. Se lavaron con porciones de 5 ml de alcohol bencílico hasta que no hubo coloración en los embudos, recogiénose los extractos alcohólicos de los embudos por separado.
11. Se transfirieron a los embudos los extractos nuevamente se les adicionó a cada uno una porción de cloroformo igual a la mitad del total del volumen.
12. Se lavaron con 12 ml de agua cada uno extrayéndose la porción acuosa, filtrándose con algodón para retener el cloroformo.
13. Se leyeron al espectro contra agua a 361 nm.

Problema = 0.096

Estándar = 0.096

$$C. Extinción = .207 \frac{0.096}{.207} = .463$$



Cromatografía en columna, para la separación de -
Cianocobalamina en un inyectable multivitamínico,
en los diferentes etapas del proceso, con Dioxano
MEL y Sílica gel para C. Columna / 60.

V ESTUDIO DE RESULTADOS

a) MATERIA PRIMA

b) PRODUCTO TERMINADO

S I M B O L O G I A

P = Problema.

Abs = Absorbancia.

\bar{X} = Media

SX = Sumatoria de X

SY = Sumatoria de Y

SX^2 = Sumatoria de X al cuadrado

SY^2 = Sumatoria de Y al cuadrado

SXY = Sumatoria de XY

m = Pendiente

S = Sumatoria

b = Ordenada al origen o intercepto.

t = Número de diluciones

n = Número de replicaciones

r^2 = Coeficiente de Correlación

$\%SR$ = Sumatoria del Porcentaje Recuperado

$\%SR^2$ = Sumatoria del Porcentaje Recuperado al Cuadrado.

\bar{R} = Promedio del Porcentaje Recuperado.

DE = Desviación Estándar

CV. = Coeficiente de Variación

N = Número total de replicaciones

IC = Intervalo de Confianza

Y = Cantidad recuperada

X = Cantidad adicionada

t = Valor de la distribución t de student con una probabilidad acumulada de 0.975

V.- κ) MATERIA PRIMA

ESTUDIO DE RESULTADOS PARA MATERIA PRIMA

EXTRACTO DE HIGADO

METODO: RUDKIN AND TAYLOR

REACTIVOS: Extracto de hígado 20 ml.

Sol 1 = 0.057 de Absorbancia

Sol 2 = 0.043

Ext. (1% 1 cm) = .540

Abs. Sol 1 - Abs. Sol 2 =

0.057 - 0.043 = 0.014

$$\frac{0.014 \times 100\%}{0.540} = 2.59\% = 259 \text{ mcg./20 ml.}$$

$$\frac{259 \text{ mcg}}{20 \text{ ml}} = 12.95 \text{ mcg / ml.}$$

RESULTADOS: 12.95 mcg / ml.

ESTUDIO DE RESULTADO PAR MATERIA PRIMA

CIANOCOBALAMINA (B₁₂)

METODO: ESPECTROFOTOMETRIA

REACTIVOS: sol. de cianocobalamina

C. Ext. (1 cm 1%) = .207 nm = mg B₁₂/ 100 ml.

LONG. DE ONDA = 361 nm.

LECTURA DEL PROBLEMA = a 361 nm. = 0.203

$$\frac{0.361}{0.207} = 1.743 \text{ mg } B_{12} / 100 \text{ ml} = 0.01743 \text{ mg } B_{12} / \text{ml.}$$

$$\frac{0.361}{0.207} = 1.778 \text{ mg } B_{12} / 100 \text{ ml} = 0.01778 \text{ mg } B_{12} / \text{ml.}$$

RESULTADOS: 0.01778 mg/ml B₁₂ = 101.72% pureza

$$\frac{0.01778}{0.01743} \times 100 \% = 101.72\%$$

ESTUDIO DE RESULTADOS PARA MATERIA PRIMA

NICOTINAMIDA:

METODO: VALORACION ANHIDRA

REACTIVOS: -Ac. Perclórico en acético = 12.21 mgr de Muestra / ml.
(titulante)
-150 mg de Muestra en sol.

En la titulación se gastaron 12.7 ml de titulante.

$$\frac{12.7 \text{ ml} \times 12.21 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} = 154.94$$

VALORACION: 154.94

$$\frac{154.94}{150 \text{ mg.}} \times 100\% = 103.2 \%$$

% PUREZA: 103.2 %

V.- B) PRODUCTO TERMINADO

ESTUDIO DE RESULTADOS EN PRODUCTO TERMINADO

NICOTINAMIDA

METODO: CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

ELUENTES: Isopropanol:Isobutanol:Agua (1:1:1)

T. AGITACION: 5 minutos de agitación manual

T. CENTRIFUGACION: 15 minutos

T. SATURACION DE LA CAMARA: 2 horas.

CUANTIFICACION: Espectrofotometría.

PRIMERA PRUEBA

	CANT. APLICACION	CONCENTRACION (MCG/ML.)	ABSORBANCIAS	MCG REC.	% REC.
ESTANDAR	10 Mc1	50	456 nm	_____	_____
PROBLEMA					
	5	25	201	25.70	94.00,6
	7	35	284	33.49	95.68
	10	50	456	53.77	104.54
	13	65	507	59.78	91.96
	15	75	597	70.14	93.52

$$\text{MCG Rec.} = \frac{\text{Abs P}}{\text{Abs. Stn.}} \times 10$$

$$\text{C. Ext.} = 84.8$$

NICOTINAMIDA

METODO: CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

T. SATURACION CAMARA: 2 horas.

ELUENTES: Isopropanol: Isobutanol: Agua (1:1:1)

SOLVENTE EXTRACCION: HCL 0.1 N

T. AGITACION: 10 minutos de agitacion manual

T. CENTRIFUGACION: 20 minutos.

CUANTIFICACION: Espectrofotometria.

SEGUNDA PRUEBA

	CANT. APLICACION	CONCENTRACION (MCG/ML.)	ABSORBANCIA	MCG REC.	% REC.
ESTANDAR	10 Mc1	50	392 nm	_____	_____
PROBLEMA					
	5	25	296	24.29	97.16%
	7	35	281	33.13	94.65
	10	50	394	46.46	92.92
	13	65	485	57.19	87.98
	15	75	588	69.33	92.44

LINEALIDAD DEL METODO

NICOTINAMIDA

t = número de diluciones

n = número de repeticiones

Sumatoria de X

$$\Sigma X = n (X_1 + X_2 + \dots + X_t)$$

Sumatoria de Y

$$\Sigma Y = (Y_{t_1} + Y_{t_2} + \dots + Y_{t_n})$$

Sumatoria de X al cuadrado

$$\Sigma X^2 = n (X_1^2 + X_2^2 + \dots + X_n^2)$$

Sumatoria de Y al cuadrado

$$\Sigma Y^2 = (Y_{t_1}^2 + Y_{t_2}^2 + \dots + Y_{t_n}^2)$$

Sumatoria de XY

$$\Sigma XY = X_1(Y_{1_1} + Y_{1_2} + \dots + Y_{1_n}) + X_2(Y_{2_1} + Y_{2_2} + \dots + Y_{2_n})$$

$$m = \frac{nt (\Sigma XY) - (\Sigma X) (\Sigma Y)}{nt (\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2}$$

$$b = \frac{\Sigma Y - m (\Sigma X)}{nt}$$

$$r^2 = \frac{[nt (\Sigma XY) - (\Sigma X) (\Sigma Y)]^2}{[nt (\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2][nt (\Sigma Y^2) - (\Sigma Y)^2]}$$

NICOTINAMIDA

LINEARIDAD DEL METODO

$$t = 5$$

$$n = 2$$

$$SX = 2(25 + 35 + 50 + 65 + 75) = 500$$

$$SX^2 = 2[(25)^2 + (35)^2 + (50)^2 + (65)^2 + (75)^2] = \\ 2(625 + 1225 + 2500 + 4225 + 5625) = 28400$$

$$SY = (23.70 + 24.29) + (33.49 + 33.13) + (53.77 + 46.46) + (59.78 + 57.19) \\ (70.14 + 69.33) = 471.28$$

$$SY^2 = (23.70)^2 + (24.29)^2 + (33.49)^2 + (33.13)^2 + (53.77)^2 + (46.46)^2 \\ (59.78)^2 + (57.19)^2 + (70.14)^2 + (69.33)^2 = 24991.229$$

$$SXY = 25(23.70 + 24.29) + 35(33.46 + 33.13) + 50(53.77 + 46.46) \\ 65(59.78 + 57.19) + 75(70.14 + 69.33) = 26606.25$$

$$m = \frac{(2)(5)(26606.25) - 500(471.28)}{(2)(5)(28400) - (500)^2} = 0.8947$$

$$b = \frac{471.28 - 0.8947(500)}{2(5)} = 2.393$$

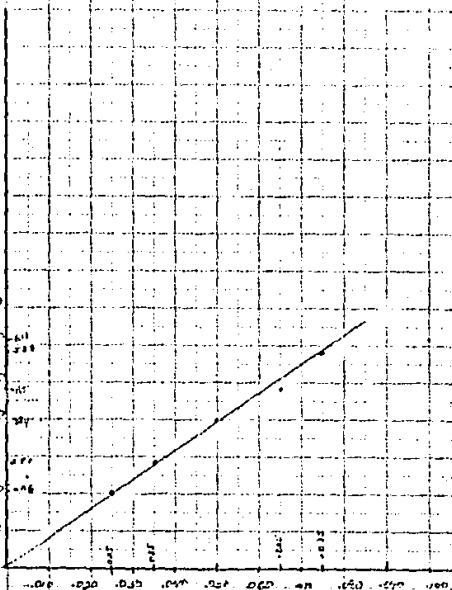
$$r^2 = \frac{[(2)(5)(26606.25) - (500)(471.28)]^2}{[(2)(5)(28400) - (500)^2][(2)(5)(24991.229) - (471.28)^2]}$$

$$r^2 = 0.97895$$

LINEARIDAD

ABSORBIENCIAS

700
600
500
400
300
200
100



(Mcg/ml)

NICOTINAMIDA (FERRUGINA)

$E_{1\%}^{1\text{cm}} = 0.392$ [0.050 mg/ml]

PRECISION Y EXACTITUD DEL METODO

NICOTINAMIDA

Sumatoria del % Recuperado

$$\%SR = \%R1 + \%R2 + \dots \%Rn =$$

Sumatoria del % Recuperado al Cuadrado

$$\%SR^2 = \%R1^2 + \%R2^2 + \dots \%Rn^2 =$$

N = número total de replicaciones

Promedio del % Recuperado

$$\bar{R} = \frac{\%SR}{N} =$$

Desviación Estándar

$$DE = \frac{(N (\%SR^2) - (\%SR)^2)^{1/2}}{N (N-1)}$$

Coefficiente de Variación

$$CV. = \frac{DE}{\bar{R}} \times 100 =$$

Intervalo de Confianza

$$IC. = \bar{R} \pm 2.306 \frac{DE}{N^{1/2}} =$$

PRECISION Y EXACTITUD DEL METODO

NICOTINAMIDA

X	Absorbancias		Y		% REC.		% REC ²	
			MG REC.					
25	.201	.206	23.70	24.29	94.80	97.46	8987.04	9440.0656
35	.284	.281	33.49	33.13	95.68	94.65	9134.6624	8958.6225
50	.456	.394	53.77	46.16	107.54	92.92	11564.852	8634.1264
65	.507	.485	59.79	57.19	91.96	97.93	8456.6416	7740.4304
75	.597	.588	70.14	69.33	<u>83.52</u>	<u>92.44</u>	<u>8745.8904</u>	<u>8545.1936</u>

$$\% SR = 483.50 + 465.15 = 948.65$$

$$\% SR^2 = 46909.186 + 43318.449 = 90227.635$$

$$N = 10$$

$$R = \frac{948.65}{10} = 94.865$$

$$DC = \frac{10 (90227.635) - (948.65)^2}{90} = 5.098$$

$t_{\alpha} = 2.306$ (De la distribución t de student con 9^o de libertad y una reproducibilidad acumulada de 0.975)

$$I.C. = 94.865 \pm 2.306 \frac{5.098}{3.1623} = 3.717$$

$$I.C. = 94.865 \pm 3.717 = 91.148 \text{ a } 97.701$$

$$C.V. = \frac{5.098}{94.865} \times 100\% = 5.37\%$$

VALIDACION

NICOTINAMIDA

Para la validación de esta vitamina, se corrieron los cromatografías en la cual se aplicaron 10 McI a una concentración de 50Mcg/ml. y estos fueron los resultados para la precisión de la técnica.

ABSORBANCIAS	Y		X		Y REC. ²		X REC. ²	
	MCg.	REC.	MCg.	REC.				
.397 .418	50.12	48.60	100.2	97.2	10040.04	9447.84		
.392 .419	49.49	48.72	98.98	97.44	9797.0404	9494.5536		
.392 .429	49.49	49.88	98.98	99.76	9797.0404	9952.0576		
.336 .437	48.73	50.81	97.46	101.62	9497.4516	10326.624		
.395 .427	49.87	49.65	99.74	99.3	9943.0676	9360.49		
.397 .420	50.12	48.43	100.2	97.66	10040.04	9537.4756		
Stn. .396 .430			<u>595.56</u>	<u>592.95</u>	<u>59120.68</u>	<u>58619.041</u>		

$$\sum SR = 592.95 + 595.56 = 1188.54$$

$$\sum SR^2 = 58619.041 + 59120.63 = 117739.72$$

$$K = 12$$

$$\bar{R} = \frac{1188.54}{12} = 99.045$$

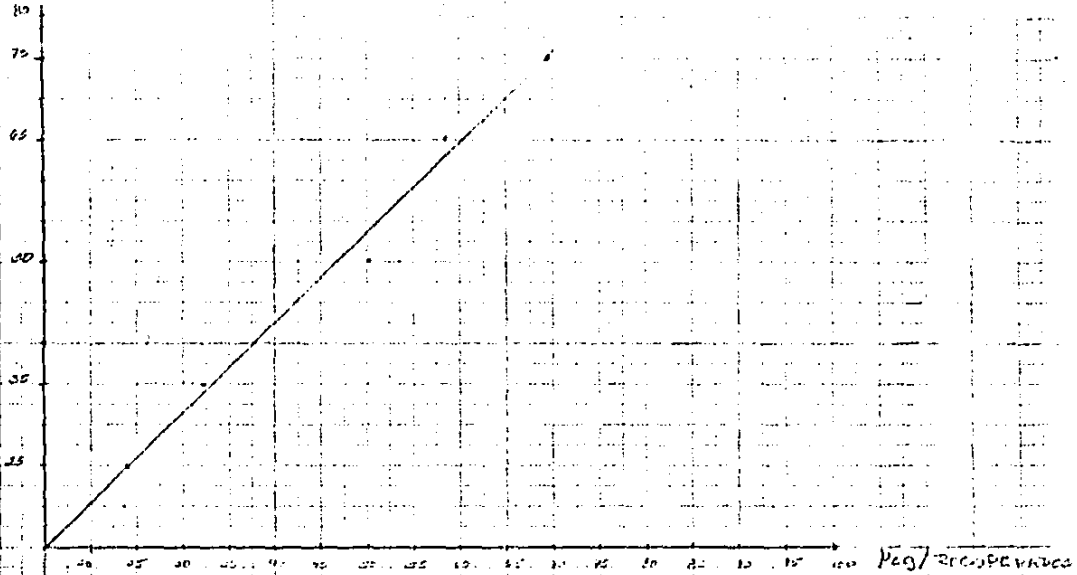
$$DE = \frac{12 (117739.72) - (1188.54)^2}{132}^{1/2} = 1.37$$

$$IC = 99.045 \pm 2.306 \frac{1.37}{3.4641} = 99.045 \pm 2.306 (0.3954349) =$$

$$IC = 98.133 \text{ a } 99.956$$

$$C.V. = \frac{1.37}{99.045} \times 100 = 1.38\%$$

Relaciones



PRECISION Y EXACTITUD

NICOTINAMIDA

RELACION DE PROPORCIONES $mg/RESPONDAS$ VS $mg/RESPONDAS$

LINEARIDAD DEL METODO

CIANOCORALAMINA

t= Número de diluciones

n= Número de repeticiones

Sumatoria de X

$$SX = n (X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n)$$

Sumatoria de Y

$$SY = (Y_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn})$$

Sumatoria de X al cuadrado

$$SX^2 = n(X_1^2 + X_2^2 + \dots + X_n^2)$$

Sumatoria de Y al cuadrado

$$SY^2 = (Y_{t1}^2 + Y_{t2}^2 + \dots + Y_{tn}^2)$$

Sumatoria de XY

$$SXY = X_1 (Y_{11} + Y_{12} + Y_{13} + \dots + Y_{1n}) \quad X_2 (Y_{21} + Y_{22} + Y_{23} \dots + Y_{2n})$$

$$m = \frac{nt (SXY) - (SX) (SY)}{nt (SX^2) - (SX)^2} =$$

$$b = \frac{SY - m (SX)}{nt} =$$

$$s^2 = \frac{(nt (SXY) - (SX) (SY))^2}{(nt (SX^2) - (SX)^2) \times (nt (SY^2) - (SY)^2)}$$

CIANOCOBALAMINA

LINEARIDAD DEL METODO

$$t = 4$$

$$n = 2$$

$$SX = 2(100 + 150 + 200 + 250) = 1400$$

$$SY = (102.24 + 88.76 + 145.69 + 159.91 + 188.88 + 171.10 + 230.67 + 226.10) = 1313.35$$

$$SX^2 = 2((100)^2 + (150)^2 + (200)^2 + (250)^2) = 2(10000 + 22500 + 40000 + 62500) = 270000$$

$$SY^2 = (102.24)^2 + (88.76)^2 + (145.69)^2 + (188.98)^2 + (171.10)^2 + (230.67)^2 + (226.10)^2 = 234408.860$$

$$SXY = 100(102.24 + 88.76) + 150(145.69 + 159.91) + 200(188.88 + 171.10) + 250(230.67 + 226.10) = 19100 + 45840 + 71996 + 114192.50 = 251128.5$$

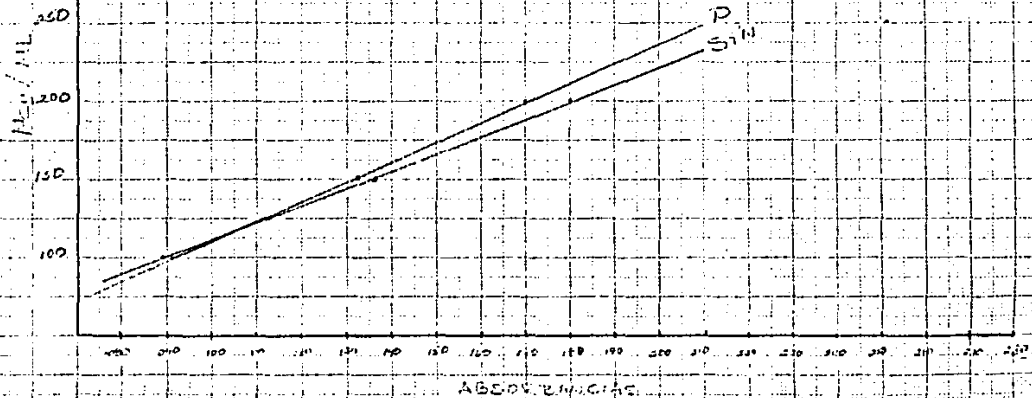
$$m = \frac{(2)(4)(251128.5) - (1400)(1313.35)}{(2)(4)(270000) - (1400)^2} = 0.8516$$

$$b = \frac{1313.35 - 0.8516(1400)}{2(4)} = 15.138$$

$$r^2 = \frac{((2)(4)(251128.5) - (1400)(1313.35))^2}{((2)(4)(270000) - (1400)^2)((2)(4)(234408.860) - (1313.35)^2)} = 0.96470$$

LINEARIDAD DEL SISTEMA
CIANOCOBALAMINA

P = 1000000
C = 1000000



PRECISION Y EXACTITUD DEL METODO

CIANCOBALAMINA

Sumatoria del % Recuperado

$$\sum SR = SR_1 + SR_2 + \dots + SR_n =$$

Sumatoria del % Recuperado al Cuadrado.

$$\sum SR^2 = SR_1^2 + SR_2^2 + \dots + SR_n^2 =$$

N = número total de replicaciones

Promedio del % Recuperado

$$\bar{R} = \frac{\sum SR}{N} =$$

Desviación Estándar

$$DE = \frac{(\sum SR^2) - (\sum SR)^2 / N}{N(N-1)}^{1/2} =$$

Coefficiente de Variación

$$CV = \frac{DE}{\bar{R}} \times 100 =$$

Intervalo de Confianza

$$IC = \bar{R} \pm 2.306 \frac{DE}{N^{1/2}} =$$

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

PRECISION Y EXACTITUD

CIANCOBALAMINA

MCG./ML.	ABSORBANCIAS	MCG. REC.
100	.091 .078	102.24 88.76
150	.132 .145	145.69 159.91
200	.170 .154	180.33 171.10
250	.251 .236	230.67 226.10

MCG./ML.	% REC.	% REC. ²
100	102.24 88.76	10453.018 7870.3376
150	97.05 106.61	9418.7025 11365.6920
200	94.44 85.55	8918.9136 7318.0025
250	<u>92.27</u> <u>90.44</u>	<u>8513.7529</u> <u>8179.3036</u>
	386.00 371.36	37304.3870 34742.2260

$$\sum SR = 386.00 \quad 371.36 = 757.36$$

$$\sum SR^2 = 37304.3870 \quad 34742.2260 = 72046.613$$

$$N = 8$$

$$R = \frac{757.36}{8} = 94.670$$

$$DC = \frac{8(72046.613) - (757.36)^2}{8(8-1)}^{1/2} = 7.04$$

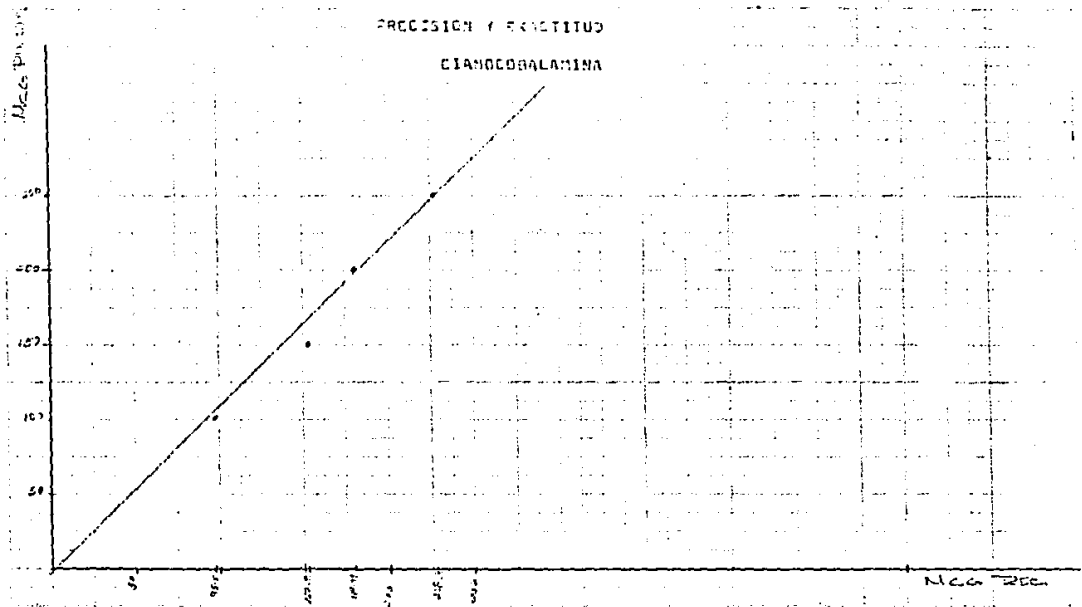
$t = 2.306$ (de la distribución t de student con 7° de libertad y una probabilidad acumulada de 0.975)

$$IC = 94.670 \pm 2.306 \frac{7.04}{2.8284271} = 38.93 \text{ a } 100.41$$

$$CV = \frac{7.04}{94.670} \times 100 = 7.43$$

PRECISION Y EXACTITUD

CYANOCOBALAMINA



RELACION DE PROYECTOS DE MICROGRAMOS RECUPERADOS / MICROGRAMOS RECUPERADOS

VALIDACION

CIANOCORALAMINA

N.	ABSORBENCIAS	MCG REC.	% REC.	% REL. ²
1	.150	159.57	106.38	11316.704
2	.136	144.57	96.45	9302.6025
3	.170	180.84	120.56	14534.714
4	.132	140.41	93.61	8762.8321
5	.165	175.53	117.02	13693.68
6	.154	163.81	109.21	11925.824
7	.162	172.33	114.89	13199.712
8	.150	159.57	106.38	11316.704
9	.136	144.57	96.45	9302.6025
10	.146	155.31	<u>103.54</u>	<u>10720.532</u>
			1064.49	114076.91

$$N = 10$$

$$\bar{X} = 1064.49$$

$$S^2 = 114076.91$$

$$R = \frac{1064.49}{10} = 106.44$$

$$DE = \frac{10 (114076.91) - (1064.49)^2}{10 (10-1)}^{1/2} = 9.2$$

$$IC = 106.44 - 2.305 \frac{9.2}{10^{1/2}} = 99.732 = 113.148$$

$$CV. = \frac{9.2}{106.44} \times 100 = 8.6\%$$

CONCLUSIONES:

En base a los resultados estadísticos obtenidos se concluye:

- El método de Cromatografía de Capa Fina, como se indica en la pág (), es aceptable para separar la Nicotinamida y cuantificar a partir de la separación por espectrofotometría, dando una pendiente de 0.98, que nos indica que el método no cumple con la ley de Beer, pero al hacer el estudio de Exactitud y Precisión, se obtuvieron -- resultados aceptables para el tipo de análisis realizado teniendo en cuenta las variables que influyen en el resultado, por lo que se le puede considerar como lineal.
- El método modificado de Cromatografía de Columna para cuantificación de Cianocobalaminas totales, dió pendiente de 0.964 lo cual -- nos indica no cumple con la ley de Beer, pero si es lineal, además de que la desviación estándar para Precisión y Exactitud, está fuera -- de lo especificado pues es igual a 9.2 con Coeficiente de Variación igual a 8.6%
- De lo anterior se concluye que el método en general no es todo preciso y exacto que se debiera, pero debido a la complejidad del producto y de los medios con que se cuenta, pudiera usarse mientras no se recurra a un método más sofisticado (HPLC) que fuese mejor, además manos laborioso y tal vez a fin de cuentas menos costoso.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- E.G.V. Clerk, ISOLATION AND IDENTIFICATION OF DRUGS, 17a. Edición Volúmen 2, The Pharmaceutical Press, 1969.
- 2.- REMINGTON, FARMACIA PRACTICA, 17a. Edición, Volúmen II, Editorial Panamericana, 1985
- 3.- FARMACIA PRACTICA DE REMINGTON, 2a. Edición, UTENA, 1983.
- 4.- U.S. PHARMACOPEIA NATIONAL FORMULARY, U.S.C. XXI, N.F. XVI, American Pharmaceutical Association, Printed by Mack Printing Co. - - Company, Easton, Pa. 1985.
- 5.- Rolf Strohcker Heinz M. Henning, ANALISIS DE VITAMINAS, Madrid, - Editorial Paz Montalvo, 1957.
- 6.- Dr. José Helman, FARMACOTECNIA TEORICA Y PRACTICA, 3a. Impresión, Editorial Continental, S.A. de C.V., Noviembre de 1982.
- 7.- Bouman y Rand, FARMACOLOGIA CASOS B QUIMICAS Y PATOLOGICAS, 2a.- Edición, México, Editorial Interamericana, S.A. de C.V., 1984.

8.- GUIA PARA EFECTUAR PRACTICAS CORRECTAS DE MANUFACTURA EN LA INDUSTRIA FARMACEUTICA, Academia Nacional de Ciencias Farmacéuticas, Asociación Farmacéutica Mexicana, 1983.