

1
2ei
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



"ESTUDIO DE ESTABILIDAD Y DESARROLLO DE UN METODO
ANALITICO INDICADOR DE ESTABILIDAD PARA CLORHIDRATO
DE TETRACAINA LIOFILIZADO."

TESIS PROFESIONAL

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

Asesor: Q.F.B. BEATRIZ GARCIA VAZQUEZ
GUADALAJARA, JALISCO. 1990



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

I N D I C E

- I. INTRODUCCION
- II. ANTECEDENTES
- III. OBJETIVOS
- IV. GENERALIDADES
 - 1.- HISTORIA
 - 2.- QUIMICA
 - 3.- MECANISMO DE ACCION
 - a) Efecto del pH
 - b) Acciones farmacológicas
 - c) Duración y destino
 - d) Hipersensibilidad de los anestésicos locales
 - 4.- FORMULACION DEL MEDICAMENTO
 - 5.- CLORHIDRATO DE TETRACAINA
- V. METODO DE ANALISIS INDICADOR DE ESTABILIDAD
 - 1.- COMPARACION Y RESULTADO DE LOS DIFERENTES TIPOS DE FASE MOVIL EMPLEADOS PARA SEPARACION DE --- CLORH. DE TETRACAINA DE SUS DEGRADANTES Y DE -- COMPONENTES DE LA FORMULA.
- VI. VALIDACION DEL METODO ANALITICO
 - 1.- DESCRIPCION DEL METODO
 - 2.- LINEARIDAD
 - 3.- PRECISION Y EXACTITUD
 - 4.- REPRODUCIBILIDAD
 - 5.- ESPECIFICIDAD
 - 6.- CONCLUSIONES
- VII. ESTUDIO DE ESTABILIDAD
 - 1.- GRAFICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS
 - 2.- CONSTRUCCION DE LAS CURVAS DE LA CONCENTRACION VS. TIEMPO.
 - 3.- DETERMINACION DEL ORDEN DE REACCION
 - 4.- CALCULO DE LAS CONSTANTES DE VELOCIDAD
 - 5.- CONSTRUCCION DE LA CURVA DE ARRHENIUS.

VII. (Continuación.)

- 6.- CALCULO DE LA ENERGIA DE ACTIVACION
- 7.- EXTRAPOLACION DE LA CURVA DE ARRHENIUS Y CALCULO DE LA FECHA DE CADUCIDAD.
- 8.- CONCLUSIONES

VIII. BIBLIOGRAFIA

I. INTRODUCCION

I.- INTRODUCCION

Los anestésicos locales son drogas que bloquean la conducción nerviosa cuando se aplican localmente al tejido nervioso - en concentraciones adecuadas. Actúan sobre cualquier parte del sistema nervioso y sobre cualquier tipo de fibra nerviosa.

A diferencia de los agentes neurotóxicos que causan destrucción del tejido nervioso y alivio prolongado del dolor, los agentes anestésicos locales inducen un bloqueo temporario del dolor de pocos minutos a algunas horas.

La gran ventaja práctica de los anestésicos locales es que su acción es reversible; su uso es seguido de recuperación completa de la función nerviosa sin que queden huellas de lesión estructural de las fibras o las neuronas.

Los anestésicos locales son de gran importancia clínica y el empleo satisfactorio de ellos depende de manera crítica de la calidad que estos posean.

La calidad de un producto incluye parámetros tales como -- apariencia agradable, estabilidad física, química y microbiológica, seguridad, efectividad, etc. Los cuales pueden ser óptimos con una consciente planificación del producto y un posterior cuidado durante el proceso de fabricación. De tal forma de construir un producto con un alto nivel de calidad.

La estabilidad de un producto es un problema que atañe a - todas las formas farmacéuticas y el poder mantener por un período de tiempo largo las características de los principios activos e inactivos sin alteración es el objetivo de una gran cantidad de estudios.

Una vez lograda la preparación farmacéutica con mayor tiempo de estabilidad aparente, se hace necesario desarrollar un método con el cual se pueda cuantificar la concentración del prin

cipio activo inicial y la concentración restante después de un período de tiempo. Es decir, el desarrollo de un método analítico indicador de estabilidad específico para el principio activo.

Más aún, es todavía indispensable predecir el tiempo mínimo en el que el producto permanecerá con las características -- iniciales como apariencia, pH, efectividad, seguridad, etc. Para predecir este tiempo, el producto es sometido a condiciones extremas, variando algún parámetro crítico como lo son la temperatura, humedad, pH, etc. hasta obtener la degradación de la -- fórmula y así el tiempo en que estos cambios se presentarán durante su almacenamiento a la temperatura específica para el producto.

11. ANTECEDENTES

II. ANTECEDENTES

El Clorhidrato de Tetracaína (PANTOBARICA) es un anestésico local utilizado en anestésia raquídea, región subaracnoidea, que se presenta liofilizado en frasco ambar de 5.0 ml.

PANTOBARICA anteriormente presentó el problema de inestabilidad en solución inyectable, al cabo de un año PANTOBARICA presentaba cristales casi blancos y después estos cambiaban de color a tono violeta, esto debido a una oxidación del principio activo.

Posteriormente se liofilizó la misma fórmula obteniendo pastillas uniformes, redondas, con un bajo contenido de humedad para reconstituirse con 2.0 ml de agua para inyectables en el momento de emplearse.

Este proceso empleado para desecar mediante vacío los constituyentes de PANTOBARICA con el fin de conservar por un mayor tiempo las características desecadas de un anestésico así como su actividad farmacológica sugirieron un estudio de estabilidad. En el presente estudio se pretende demostrar que la nueva presentación del producto ofrece mayor estabilidad debido al proceso de liofilización y al hecho de no permanecer en contacto con el vehículo hasta el momento de emplearse.

III. OBJETIVO

III. O B J E T I V O

- 1.- Desarrollo de un método analítico indicador de estabilidad para Clorhidrato de Tetracaína liofilizado para solución inyectable.
- 2.- Validación del método analítico indicador de estabilidad cumpliendo con los parámetros mínimos necesarios para --tal efecto, determinando así la Linearidad, Precisión, -Exactitud, Reproducibilidad y Especificidad.
- 3.- Realizar un estudio de estabilidad para Clorhidrato de -Tetracaína liofilizado exponiendo el producto a diferentes temperaturas para acelerar la degradación y predecir así la fecha de caducidad.

IV. GENERALIDADES

IV.- GENERALIDADES

1.- HISTORIA

El primer anestésico local que se descubrió fue la cocaína, un alcaloide contenido en grandes cantidades - - - (0.6 a 1.8 %) en las hojas de Erythroxylon coca. El alcaloide puro fue aislado por primera vez por Nieman, -- quién observó que tenía sabor amargo y producía un efecto curioso en la lengua, dejándola insensible o poco menos. Mas tarde Von Anrep estudió en 1880 sus acciones farmacológicas y recomendó se usara clínicamente como -- anestésico local, pero el crédito de la introducción de la cocaína en el uso clínico se atribuye a Sigmund Freud y Karl Koller.

En 1905 Einhorn en la búsqueda química de sustitutos sintéticos de cocaína, sintetizó la procaína, que es todavía un prototipo de las drogas anestésicas locales.

potencia anestésica y la toxicidad del compuesto. Aumentando la longitud del grupo alcohólico. Se obtiene mayor potencia anestésica y también mayor toxicidad.

3.- MECANISMOS DE ACCION .

Los anestésicos locales impiden la generación y la conducción del impulso nervioso. El sitio principal de acción es la membrana celular, y al parecer ejercen poca acción de importancia fisiológica en el axoplasma. Los efectos axoplásmicos que ocurren pueden ser secundarios a la acción sobre la membrana.

Los anestésicos locales bloquean la conducción porque obstaculizan los procesos fundamentales de la generación del potencial de acción del nervio, es decir, el gran aumento transitorio de la permeabilidad de la membrana a los iones de sodio que ocurre por la despolarización ligera de la membrana. Conforme se desarrolla progresivamente la acción anestésica en un nervio, aumenta gradualmente el umbral de la excitabilidad eléctrica, y disminuye el factor de seguridad de la conducción; cuando ésta acción ha alcanzado un grado suficiente, se produce bloqueo de la conducción.

Los anestésicos locales parecen bloquear la conducción en el nervio compitiendo con el calcio en algún sitio-receptor que controla la permeabilidad de la membrana.

Los anestésicos locales amenguan también la permeabilidad del nervio en reposo a los iones de potasio y de sodio. Esto explica por qué el bloqueo de la conducción no se acompaña de ningún cambio importante en el potencial de reposo.

a) EFECTO DEL PH

Los anestésicos locales en forma de base libre son poco solubles y son inestables en solución. Por eso suelen utilizarse como sales hidrosolubles, generalmente-

a) (continuación)

como clorhidratos. Como los anestésicos locales son bases débiles, estas soluciones son muy ácidas, condición que por fortuna aumenta la estabilidad del anestésico local y de la substancia vasoconstrictora con la que en ocasiones se asocia. Hay muchas pruebas que demuestran que la sal ácida se neutraliza en los tejidos, y que se libera base libre antes de que la substancia penetre en los tejidos.

b) ACCIONES FARMACOLOGICAS

Además de bloquear la conducción en los axones del sistema nervioso periférico, los anestésicos locales obstaculizan la función de todos los órganos en los que hay conducción o transmisión de impulsos, y produce así efectos importantes en el sistema nervioso central, los ganglios autónomos, las uniones mioneurales y todos los tipos de fibra muscular.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL:

Los anestésicos locales sintéticos como lo es la Tetracaína estimula el Sistema Nervioso Central produciendo inquietud y temblores que pueden llegar a las convulsiones clónicas. En general, cuanto más potente es el anestésico más fácil es que se produzcan convulsiones. La estimulación central está seguida de depresión y la muerte se produce por insuficiencia respiratoria.

SISTEMA CARDIOVASCULAR:

Los anestésicos locales actúan en el aparato cardiovascular después de la absorción sistémica. El sitio principal de acción es el miocardio, donde produce disminución de la excitabilidad eléctrica, de la velo

cidad de conducción y de la fuerza de contracción. Los efectos cardiovasculares se ven generalmente sólo después de alcanzar altas concentraciones sistémicas, sin embargo, en casos raros, las pequeñas cantidades de anestésico empleadas para anestesia simple por infiltración produce colapso cardiovascular y muerte. Se desconoce el mecanismo exacto pero probablemente se debe a paro cardíaco por acción en el marcapaso ó a iniciación súbita de fibrilación ventricular. Esta reacción puede seguir a la administración intravascular accidental del fármaco.

ANESTESIA RAQUIDEA:

Después de aplicar una inyección subaracnoidea del anestésico local, hay un orden definido en que ocurre el bloqueo nervioso. Los primeros en afectarse son los nervios simpáticos y parasimpáticos, después siguen los nervios que miden la sensación al frío, al calor, al dolor, tacto, y a la presión profunda. Por último, se bloquea la función somática motora, la sensibilidad a la vibración. El temprano bloqueo simpático se manifiesta por aumento de la temperatura cutánea en las extremidades inferiores. Conforme la anestesia se desvanece, se recupera la función en el orden inverso; la primera en recuperarse es la actividad motora.

La iniciación de la anestesia después de la administración intratecal de un anestésico local depende de que la sustancia pase del líquido cefalorraquídeo a las raíces de los nervios raquídeos a los ganglios y posiblemente a la médula misma.

c) DURACION DE LA ANESTESIA Y DESTINO DE LOS ANESTESICOS.

La rapidez de la hidrólisis enzimática de los anestésicos locales en el líquido cefalorraquídeo es lenta, en

su mayor parte, el anestésico abandona el espacio subaracnoideo pasando por el drenaje venoso, y en mucho menor cantidad sale por los vasos linfáticos. La duración de la anestesia depende de la rapidez con que la substancia se elimine del líquido cefalorraquídeo y de las raíces nerviosas donde se encuentra ejerciendo su acción.

La duración media del efecto anestésico es de aproximadamente 60 minutos. La duración de la anestesia puede aumentarse si se aumenta la concentración del anestésico en la solución inyectable y si se añade a este un vasoconstrictor.

La acción de un fármaco presor en el espacio subaracnoideo retarda la eliminación del anestésico local. Los efectos generales no se manifiestan cuando se administra por vía intratecal un vasoconstrictor simpaticomimético, y no hay signos de que se afecte adversamente al tejido nervioso.

La asociación del anestésico con dextrosa es básicamente para aumentar la densidad del líquido cefalorraquídeo (normalmente es de 1.007) y de ésta forma el anestésico desciende hasta las porciones más inferiores -- del espacio subaracnoideo.

d) HIPERSENSIBILIDAD A LOS ANESTESICOS LOCALES

Algunas personas tienen hipersensibilidad a los anestésicos locales que se manifiesta por dermatitis alérgica, ataque asmático típico o reacción anafiláctica mortal.

El destino metabólico de los anestésicos locales es de importancia práctica pues su toxicidad depende en gran parte del equilibrio entre la rapidez con que se absorben y la rapidez con que se destruye en el organismo.

4.- FORMULACION DEL MEDICAMENTO

PANTOBARICA. POLVO LIOFILIZADO PARA SOLUCION INYECTABLE.

Frasco ampulax:

Clorhidrato de Tetracaína 10 mg

Auxiliares C.S.

Ampolleta:

Agua inyectable c.b.p. 2.0 ml
Dextrosa

5.- CLORHIDRATO DE TETRACAÍNA

DESCRIPCION:

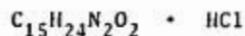
Nombre genérico:

Clorhidrato de ametocaína, Cloruro tetracaínico, Clorhidrato de pantocaína, Clorhidrato de Tetracaína.

Nombre químico:

Monoclorhidrato de éster 2-(dimetilamino) etílico del ácido 4-(butilamino) benzoico.

Estructura química, fórmula, peso molecular:



Peso molecular = 300.83

Preparación:

Se disuelve Tetracaína (base) en un disolvente como benceno y se pasa cloruro de hidrógeno en la solución, con la cual la sal precipita.

Para la preparación de la base: se butila p-amino benzoato de etilo por reflujo con bromuro de n-butilo y etanol en presencia de carbonato de sodio. El p- butilbenzoato de etilo resultante se transesterifica calentando con 2-(dimetilamino) etanol en presencia de etóxido de sodio para que el etano liberado se destile continuamente de la mezcla reaccionante.

Apariencia:

Fino polvo cristalino blanco, de sabor un tanto amargo.

Solubilidad:

Muy soluble en agua, soluble en alcohol, insoluble en benceno y éter.

Acidez:

Una solución al 1.0% tiene un pH entre 4.5 y 6.5.

Punto de Fusión:

Funde cerca a los 148°C; dos modificaciones polimórficas funden a 134 y 139°C respectivamente. Las mezclas pueden fundir entre 134 y 147°C.

Absorción Ultravioleta:

En ácido sulfúrico 0.1N la absorción máxima es a 229nm -- (E1%, 1cm = 509), a 281nm (E1%, 1cm = 55) y a 312nm -- (E1%, 1cm = 76).

Espectro infrarrojo:

Los picos principales se localizan en 1126, 1174, 1286, - 1345, 1600 y 1688 cm^{-1} .

Aplicaciones terapéuticas:

El clorhidrato de tetracaína es un derivado del ácido para-aminobenzoico, pertenece al grupo de los anestésicos locales de larga duración.

Se emplea como anestésico local tipo éster para anestesia

tópica en el ojo y mediante infiltración para bloqueo sub aracnoideo (analgesia raquídea). Cuando se usa en el ojo no dilata la pupila, no paraliza la acomodación ni aumenta la presión intraocular.

Se presta en particular para anestesia raquídea, especialmente para procedimientos quirúrgicos que insumen dos o tres horas.

Metabolismo:

El anestésico local tipo éster como el Clorhidrato de tetracaína se hidroliza por la estearasa hepática y la estearasa plasmática a ácido para aminobenzoico en la sangre. El líquido cefalorraquídeo contiene poco o nada de estearasa; en consecuencia, la anestesia obtenida mediante inyección intratecal del anestésico persiste hasta que este pasa a la sangre.

Dosis:

Para anestesia ectópica del ojo en solución o en ungüento al 0.5%.

Para membranas de la nariz y garganta en solución al 2.0%.

Para anestesia espinal 10 a 20 mg es suficiente.

Para anestesia caudal continua 30.0 ml de una solución al 0.25%.

Toxicidad:

Es un anestésico local más potente (15 veces) que la cocaína.

Es también 10 veces más tóxico y activo que la procaína en inyección intravenosa, y más tóxico que la cocaína.

Conservación:

Guárdese en recipientes firmemente cerrados y protegidos de la luz.

V.- METODO DE ANALISIS INDICADOR DE ESTABILIDAD

V.- METODO DE ANALISIS INDICADOR DE ESTABILIDAD

La cromatografía es una técnica desarrollada a principios del siglo, que permite la separación de sustancias que se encuentran en una mezcla. La cromatografía es un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil, gas o líquido y retenidos selectivamente por una fase estacionaria que puede ser un líquido o un sólido.

En éste estudio el método empleado como indicador de estabilidad fue cromatografía en capa fina o capa delgada, ya que ofrece la ventaja de bajo costo en el análisis y es de fácil acceso para cualquier laboratorio.

Esta técnica es una forma de cromatografía de absorción que consiste en un absorbente sólido (fase estacionaria), alúmina o gel de sílice, distribuido uniformemente sobre una superficie plana, generalmente vidrio. Este absorbente presenta cierta capilaridad dada por las partículas finamente divididas y que permite que la fase móvil pase entre las partículas del absorbente.

La separación ocurre cuando uno de los componentes de la mezcla es retenido en mayor grado por la fase estacionaria que los otros componentes. La fase estacionaria puede modificarse de acuerdo a las necesidades de separación aunque el factor más importante para que ésta se lleve en forma adecuada es la fase móvil elegida.

El movimiento de cada sustancia en un determinado sistema es característico y puede ser un dato valioso en la identificación de ella. Esta característica se conoce con el nombre de R_f (Relación al frente) y representa la distancia recorrida por el compuesto, en relación a la distancia recorrida por la fase móvil por lo que sus valores siempre oscilarán entre 0 y 1.

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por un compuesto desde el origen}}{\text{distancia recorrida por el frente de la fase móvil.}}$$

No todas las sustancias pueden observarse, por lo que en muchas ocasiones es necesario observar la placa de cromatografía después de someterla a procesos de "revelado" dependiendo éstos de las características químicas del compuesto por analizar o bien observar dichas placas bajo una fuente de luz ultravioleta.

PROCEDIMIENTO GENERAL

Las placas empleadas comúnmente son de vidrio y de las dimensiones apropiadas al uso que serán destinadas:

Estas placas se pueden adquirir ya preparadas, es decir, recubiertas con la capa del absorbente (gel de sílice o alúmina) que se vaya a emplear o pueden prepararse en el laboratorio.

A menos que se indique otra cosa, la cámara para la cromatografía se emplea en condiciones de saturación para lo cual se vacía la fase móvil y la cámara se cierra herméticamente para evitar la evaporación de la fase y se mantiene en estas condiciones de 45 min. a 1 hora antes de utilizarse.

La aplicación de las soluciones que van a ser analizadas y las soluciones estándar se hacen con ayuda de una micropipeta o una microjeringa en forma de una mancha compacta no mayor de 6 mm de diámetro o en forma de banda de no más de 2 cm. de largo y no más de 6 mm de ancho, a menos que se indique otra cosa en la monografía. Las aplicaciones de cada solución deben estar suficientemente separadas entre sí para evitar que se mezclen. La distancia que va a recorrer al frente del solvente se determina de antemano en la placa considerando el punto de aplicación como el origen.

- e) FASE ESTACIONARIA: SILICA GEL 60F 254, 0.25mm.
 FASE MOVIL : ETANOL - CLOROFORMO
 85 : 15
 RESULTADO: Si los degradantes son los que permanecen en la línea base la muestra no hidrolizada corre muy poco.
- f) FASE ESTACIONARIA: SILICA GEL 60F 254, 0.25mm.
 FASE MOVIL : ETANOL - METANOL - CLOROFORMO
 40 : 40 : 20
 RESULTADO: Lo mismo que en el caso inciso e).
- g) FASE ESTACIONARIA: SILICA GEL 60F 254, 0.25 mm.
 FASE MOVIL : SE AÑADIO ETER PORQUE UNO DE LOS DEGRADANTES ES SOLUBLE EN ETER.
 METANOL - ETER
 60 : 40
 RESULTADO: La muestra no hidrolizada corre un poco más que en el caso inciso e), pero no se apreciaba bien la separación de todos los degradantes.
- h) FASE ESTACIONARIA: SILICA GEL 60F 254, 0.25mm'
 FASE MOVIL : SE AÑADE UNA AMINA PARA AUMENTAR LA POLARIDAD DEL SISTEMA.
 CLOROFORMO - METANOL - DIETILAMINA
 88 : 10 : 2
 RESULTADO: Se logra la separación de los degradantes de la muestra no hidrolizada (clorhidrato de tetracaína).
- i) FASE ESTACIONARIA: SILICA GEL 60F 254, 0.25mm.
 FASE MOVIL : CLOROFORMO - METANOL - DIETILAMINA
 88 : 10 : 4
 RESULTADO: Se separan más los degradantes con el aumento de volumen de dietilamina.

Se aprecian dos degradantes con la longitud de onda larga (366nm) y a 254 nm se observa la mancha correspondiente a Clorhidrato de tetracaína y a uno de los degradantes.

Los degradantes son menos polares que el Clorhidrato de Tetracaína.

CONCLUSION: El sistema empleado para la separación de Clorhidrato de Tetracaína de sus degradantes y además de los componentes de la fórmula por cromatografía en capa fina es:

FASE ESTACIONARIA: SILICA GEL 60F 254, 0.25mm.

FASE MOVIL : CLOROFORMO - METANOL - DIETILANINA

88 : 10 : 4

VI.- VALIDACION DEL METODO ANALITICO

VI.- VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Existen variaciones en cuanto a equipo analítico, personal, material y reactivos en relación con la aplicación de los métodos analíticos en producto terminado, en este caso, PANTOBA RICA, por lo que se hace necesario validar el método para la --cuantificación del principio activo siempre y cuando dicho método sea indicador de estabilidad.

Los parámetros mínimos necesarios para demostrar la confiabilidad del método son la Linearidad, Precisión, Exactitud, Reproducibilidad y Especificidad.

1.- DESCRIPCION DEL METODO ANALITICO

MATERIAL Y REACTIVOS

- Balanza analítica
- Cámara cromatográfica
- Cromatoplaque de sílica gel 60F-254
- Micropipeta de 20 mcl.
- Matraz aforado de 10.0 ml
- 2 vasos de precipitados de 25.0 ml.
- Grasa o vaselina
- Centrífuga
- Tubos de centrífuga
- Revelador de placas con fuente de luz UV
- Espectrofotómetro (BECKMAN DU/65)
- Estándar secundario de Clorhidrato de Tetracaína.
- Metanol
- Cloroformo
- Dietilamina
- Acido sulfúrico 0.1 N.

CONDICIONES DEL EQUIPO

La cámara cromatográfica debe estar perfectamente sellada - para una buena saturación de la misma.

Después de la aplicación del estándar y el problema sobre - la cromatoplaque ambas manchas deberán secarse perfectamente antes de introducir la cromatoplaque a la cámara cromatográfica.

La longitud de onda seleccionada para este estudio será de - 229 nm y las lecturas se realizarán colocando el estándar y problema en una celda de 1 cm.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- En una cromatoplaaca de sílica gel 60F, 254, 0.25nm hacer seis (6) divisiones de 3.0 cm cada una, dejando un espacio libre de 1.3 cm en los extremos de la cromatoplaaca.
- 2.- Trazar con un lápiz una línea base dejando espacio de 1.3 cm del inicio de la placa a la línea base.
- 3.- Identificar cada carril, el primero se dejará sin aplicar y servirá como blanco, a los dos siguientes se identificarán como estándar y los tres últimos como problemas.
- 4.- Se aplican 20 µl del estándar y problema en los lugares correspondientes. Ambas soluciones tienen una concentración final de 10 mg/ml.
- 5.- Se deja secar la cromatoplaaca al aire libre por espacio de 30 a 40 minutos o con corriente de aire tibio por menos tiempo.
- 6.- Se introduce la cromatoplaaca en una cámara fotográfica previamente saturada con el sistema de eluentes adecuados para la separación;

METANOL:	CLOROFORMO:	DIETILAMINA:
88 :	10 :	4

- 7.- Aproximadamente a los 20 minutos el eluyente habrá alcanzado casi el extremo superior de la cromatoplaaca, faltando 1.0 cm para que esto ocurra, se retira la cromatoplaaca y se deja al aire libre para que se evaporen los solventes.
- 8.- Posteriormente con un revelador de placas con fuente de luz U.V a 254nm se observan las manchas correspondientes a Clorhidrato de Tetracafna en el estándar y en el problema, para poder observar el resto de los degradantes del problema se expone la placa a una longitud de onda de 366nm (onda larga).

- 9.- Una vez identificadas las marcas se raspan con extremo cuidado, midiendo para todos la misma cantidad de sílica gel incluyendo el blanco.
- 10.- Se coloca el polvo raspado en tubos para centrifuga y se extraerá con 10.0 ml de Acido Sulfúrico 0.1N.
- 11.- Se agitan todos los tubos a una velocidad constante durante 10 minutos.
- 12.- En una centrifuga a 3000 rpm durante 25 minutos se colocarán los tubos con su contenido.
- 13.- En un espectro fotómetro U.V. se determinará la concentración del problema con respecto al estándar, haciendo las correcciones necesarias con el blanco.

2.- LINEARIDAD

- a) Se practicarán análisis por duplicado de la sustancia de interés al 50, 80, 100, 120 y 150% del valor esperado.
- b) Con los datos obtenidos se construirá una curva de -- concentración teórica vs. concentración recuperada.
- c) Se calculará: X (Media), DE (desviación estándar), DER (desviación estándar relativa), m (pendiente), b (intercepto), r (coeficiente de correlación).

CRITERIOS:

$$\begin{aligned} r &= 0.99 \\ m \text{ Aprox} &= 1 \\ b \text{ Aprox} &= 0 \end{aligned}$$

El método es lineal cuando cumple satisfactoriamente con el criterio anterior.

RESULTADOS PARA LINEARIDAD:

b) TABLA DE CANTIDAD ADICIONADA CONTRA CANTIDAD RECUPERADA

CANTIDAD ADICIONADA (X)	CANTIDAD RECUPERADA (Y)	
$X_1 = 50\%$	$Y_{1a} = 52.900$	$Y_{1b} = 46.171$
$X_2 = 80\%$	$Y_{2a} = 75.638$	$Y_{2b} = 73.085$
$X_3 = 100\%$	$Y_{3a} = 101.392$	$Y_{3b} = 100.23$
$X_4 = 120\%$	$Y_{4a} = 123.01$	$Y_{4b} = 125.522$
$X_5 = 150\%$	$Y_{5a} = 148.259$	$Y_{5b} = 147.795$

c) Coeficiente de correlación (r) = 0.995794
Pendiente (m) = 1.021
Intercepto en b = -0.2728

PORCENTAJE RECUPERADO DE 10 MUESTRAS AL 100%

R_1	=	96.6078		
R_2	=	101.3921		
R_3	=	103.48		
R_4	=	100.23	X	= 101.1183
R_5	=	102.78	DE	= 1.4864
R_6	=	101.85	DER	= 1.41014
R_7	=	99.5359		
R_8	=	101.8561		
R_9	=	100.2320		
R_{10}	=	101.22.		

Intervalo de confianza para la media.

$T = 2.262$ (de la distribución de T de Students con 9 grados de libertad)

$$I.C. = 101.1183 \pm 2.262 \frac{1.4864}{\sqrt{10}}$$

$$I.C. = 101.1183 \pm 1.0632 = 100.0551 \text{ a } 102.1815.$$

3.- PRECISION Y EXACTITUD

- a) Se analizarán de 3 a 6 muestras a diferentes niveles de concentración de la sustancia de interés.

(80, 100 y 120%)

- b) Se calculará el promedio de recobro DE, DER, y el intervalo de confianza al 95 %.

CRITERIO:

Método CLAR y UV - VIS	98 - 102 %	DER
Método titrimétricos	99 - 101 %	DER
Métodos de disolución	96 - 102 %	DER

TABLA DE RECOBRO:

$$X_1 = 80\% \quad R_1 = 100.134 \quad R_2 = 103.48 \quad R_3 = 100.23$$

$$X_2 = 100\% \quad R_1 = 101.85 \quad R_2 = 101.392 \quad R_3 = 102.78$$

$$X_3 = 120\% \quad R_1 = 99.535 \quad R_2 = 101.8561 \quad R_3 = 99.99$$

$$X = 101.2497$$

$$DE = 1.3634$$

$$DER = 1.2855$$

Intervalo de confianza al 95%

$$IC_{95} = 101.2497 \pm 2.306 \frac{1.3634}{\sqrt{9}}$$

$$IC_{95} = 101.2497 \pm 0.454466$$

$$IC_{95} = 100.7952 \text{ a } 101.7041$$

4.- REPRODUCIBILIDAD

- a) Las muestras al 100% se analizaron diferentes días, -- este análisis lo realizó el mismo analista.

CRITERIO:

Métodos CLAR = DER 2%

Otros Métodos = DER 3%

RESULTADOS:

1° DIA	2° DIA	3° DIA	4° DIA
102.05	101.85	100.23	103.48
101.39	100.23	101.85	102.78
101.85	102.78	99.53	101.85

$$\bar{X} = 101.656$$

$$DE = 1.1603$$

$$DER = 1.1109$$

$$CV = \frac{1.1603}{101.85} \times 100 = 1.139\%$$

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

5.- ESPECIFICIDAD

- a) Se separarán muestras del producto (PANTOBARICA) y serán sometidas a condiciones de degradación (60°C - durante 40 días).
- b) Se analizarán las muestras degradadas utilizando el método analítico que se valida con el objeto de demostrar que separa los productos de degradación del Clorhidrato de Tetracaína.

CRITERIO DE ACEPTACION:

El método analítico es específico si separa el Clorhidrato de Tetracaína de sus degradantes.

RESULTADOS:

Se observaron las siguientes bandas al examinar las placas bajo luz ultravioleta:

<u>Nº</u>	<u>Rf</u>
1	0.64
2	0.27
3	0.20

La banda No. 1 corresponde al estándar de referencia de Clorhidrato de Tetracaína en tanto que las bandas 2 y 3 deben corresponder a productos de degradación del Clorhidrato de Tetracaína.

6.- CONCLUSIONES:

El método analítico empleado para la valoración de producto terminado de PANTOBARICA polvo liofilizado para solución inyectable cumple con los parámetros mínimos necesarios para la validación de un método como son la Linealidad, Precisión, Exactitud, Reproducibilidad. Además es un método específico porque corresponde el R_f de la mancha principal con el R_f del estándar de Clorhidrato de Tetracaína y separa eficientemente los degradantes de dicho principio activo.

VII.- ESTUDIO DE ESTABILIDAD

VII.- ESTUDIO DE ESTABILIDAD

1.- GRAFICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

VARIABLE DIAS	VALORACION	$\frac{T^{\circ}C = 90^{\circ}C}{pH}$	APARIENCIA
Inicio	99.505	4.12	Correcta
0.1666	97.71	4.17	Solución clara
0.3333	95.61	4.20	Solución clara
0.5	90.60	4.22	Solución clara
1er. día	88.08	4.34	Solución turbia
1.666	85.31	4.31	Solución amarilla clara
1.3333	84.146	4.35	Solución amarilla clara
1.5	80.62	4.35	Solución amarilla clara
2 días	80.01	4.40	Solución amarilla paja
4 días	70.15	4.54	Solución amarilla naranja
6 días	58.35	4.64	Solución amarilla naranja

VARIABLE DIAS	VALORACION	$\frac{T^{\circ}C = 60^{\circ}C}{pH}$	APARIENCIA
Inicio	99.505	4.12	Correcta
6 días	98.23	4.3	Solución clara
10 días	98.41	4.41	Solución clara
20 días	88.63	4.61	Solución amarilla clara
30 días	83.01	4.64	Solución amarilla
60 días	70.15	4.92	Solución amarilla paja
90 días	65.20	4.82	Solución amarilla paja

VARIABLE DIAS	VALORACION	$T^{\circ}C = 45^{\circ}C$ pH	APARIENCIA
Inicio	99.505	4.12	Solución clara
15 días	95.92	4.32	Solución clara
30 días	94.56	4.44	Solución amarilla
60 días	93.15	4.68	Solución amarilla clara
75 días	91.36	4.87	Solución amarilla clara
90 días	90.81	4.89	Solución amarilla

2.- CONSTRUCCION DE LAS CURVAS DE LA CONCENTRACION
VS. TIEMPO

TEMPERATURA 90°C

Tiempo (días)	Concentración	Log. Concentración
0	99.505	1.9978
0.1666	97.71	1.9899
0.3333	95.61	1.9805
0.5	90.60	1.9571
1	88.08	1.9449
1.1666	85.31	1.9310
1.3333	84.146	1.9250
1.5	80.62	1.9064
2	80.01	1.9031
4	70.15	1.8460
6	58.33	1.7659

TEMPERATURA 60°C

0	99.505	1.9978
6	98.23	1.9922
10	94.81	1.9768
20	88.63	1.9475
30	83.01	1.9191
60	70.15	1.8460
90	65.20	1.8142

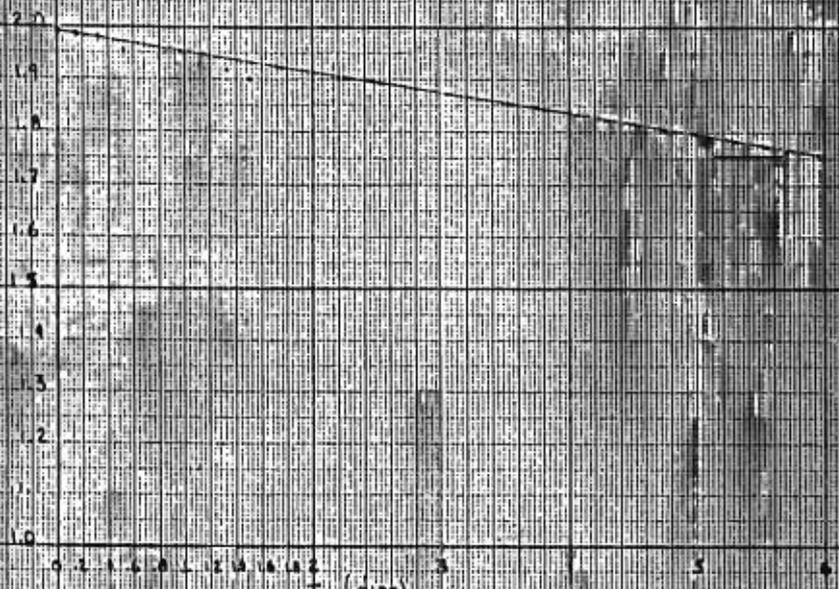
TEMPERATURA 45°C

Tiempo (días)	Concentración	Log. Concentración
0	99.505	1.9978
15	95.92	1.9819
30	94.56	1.9757
60	93.15	1.9691
75	91.36	1.9607
90	90.81	1.9581

$T = 70^{\circ}\text{C}$

$\ln(V)$

t (days)



72600

$m(t)$
2.0

0

10

20

30

40

50

60

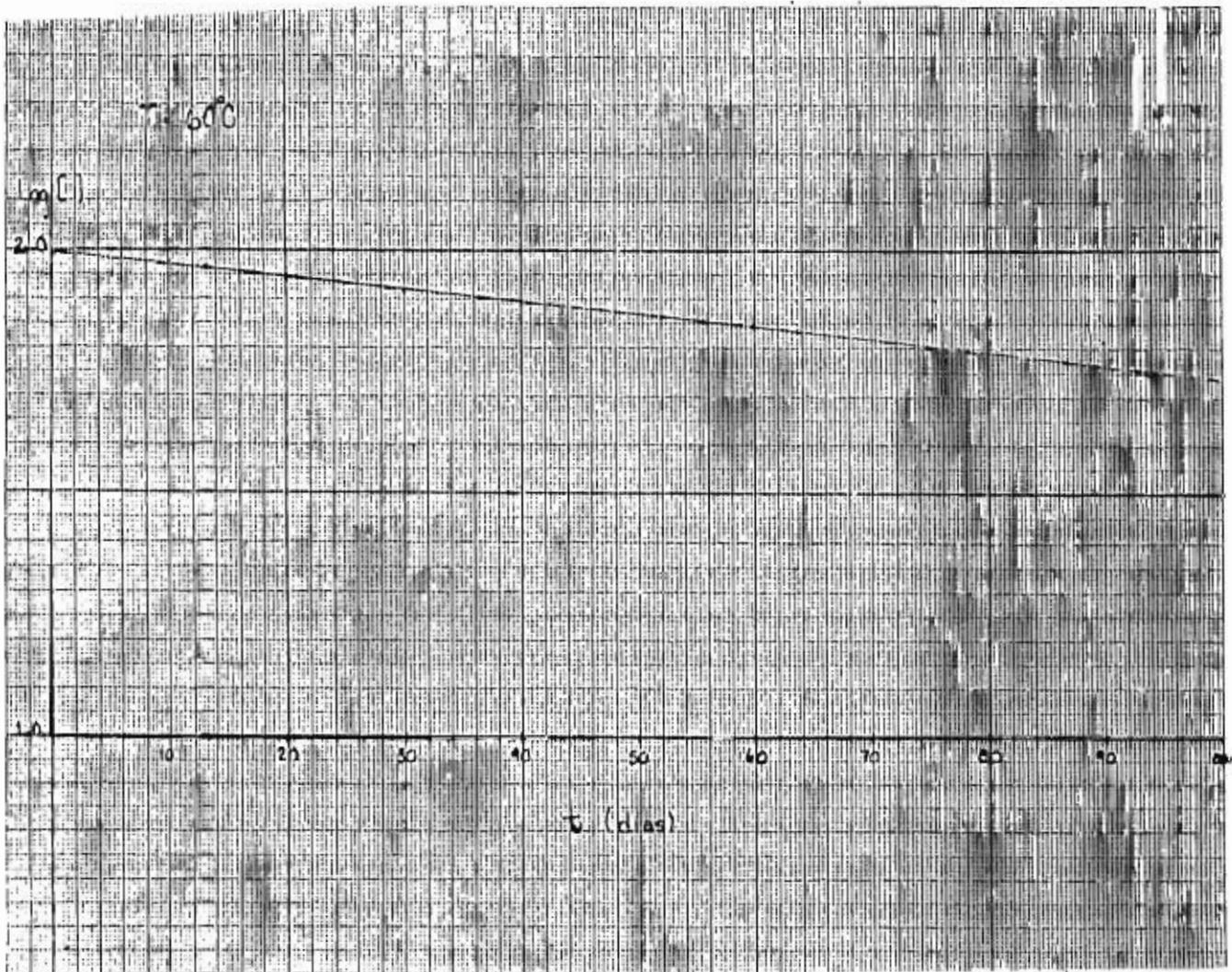
70

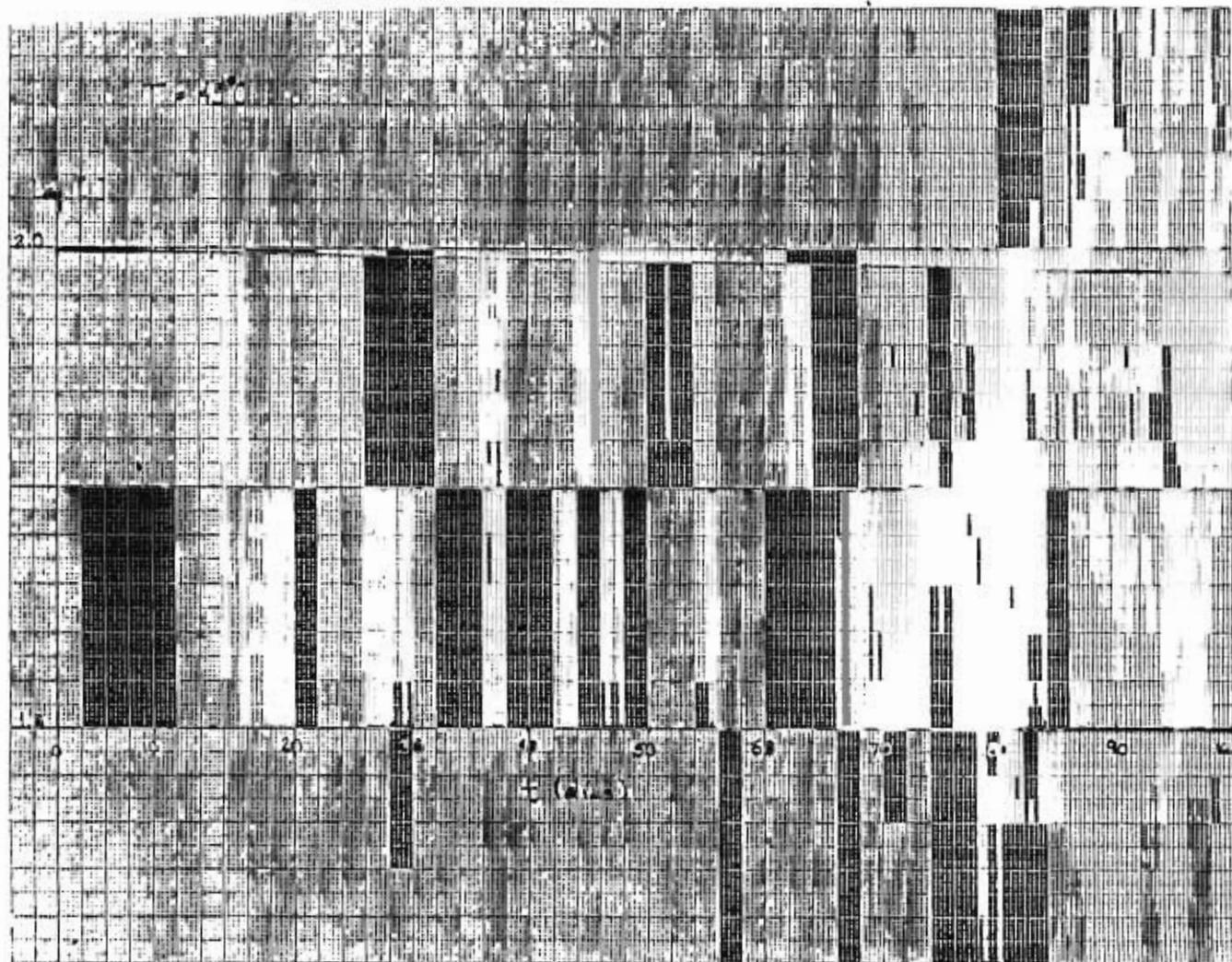
80

90

100

t (dias)





3.- DETERMINACION DEL ORDEN DE REACCION

Aplicando el análisis de regresión a los datos obtenidos y considerando el coeficiente de correlación paracero y primer orden se determina por comparación del mismo que la descomposición del producto corresponde a una cinética de primer orden.

4.- CALCULO DE LAS CONSTANTES DE VELOCIDAD PARA PRIMER ORDEN

TEMPERATURA 90°C

Coefficiente de correlación	=	- 0.9856
Pendiente	=	- 0.05676
Intercepto en b	=	1.9826
Constante de velocidad K	=	0.08467

TEMPERATURA 60°C

Coefficiente de correlación	=	- 0.9868
Pendiente	=	- 2.1777 X 10 ⁻³
Intercepto en b	=	1.9948
Constante de velocidad K	=	5.0152 X 10 ⁻³

TEMPERATURA 45° C

Coefficiente de correlación	=	- 0.9642
Pendiente	=	- 4.002 X 10 ⁻⁴
Intercepto en b	=	1.9918
Constante de velocidad K	=	9.2174 X 10 ⁻⁴

CALCULOS DE LAS CONSTANTES DE VELOCIDAD PARA CERO ORDEN

TEMPERATURA 90°C

Coefficiente de correlación	=	-0.9661
Pendiente	=	-6.4375
Intercepto en b	=	94.8907

TEMPERATURA 60°C

Coefficiente de correlación	=	-0.9792
Pendiente	=	-0.4052
Intercepto en b	=	98.1538

TEMPERATURA 45°C

Coefficiente de correlación	=	-0.9605
Pendiente	=	-0.0871
Intercepto en b	=	98.1405

5.- CONSTRUCCION DE LA CURVA DE ARRHENIUS

T (°C)	K	T(°K)	x 1/T (°K)	y log K
90°C	0.08467	363.15	2.75×10^{-3}	- 1.0722
60°C	5.0152×10^{-3}	333.15	3.00×10^{-3}	- 2.2997
45°C	9.2174×10^{-4}	318.15	3.14×10^{-3}	- 3.0353
Coeficiente de correlación		=	- 0.9998	
Pendiente		=	-5019.07	

6.- CALCULO DE LA ENERGIA DE ACTIVACION

$$\begin{aligned}
 m &= - 5019.07 \\
 E_a &= - (m) (2.303) (1.987) \text{ cal/mol} \\
 E_a &= 22967.60 \text{ cal/ml}; \quad 22.967 \text{ Kcal/mol}
 \end{aligned}$$

7.- EXTRAPOLACION DE LA CURVA DE ARRHENIUS Y CALCULO DE LA FECHA DE CADUCIDAD.

$$\begin{aligned}
 Y' (25^\circ\text{C}) &= \text{Log K} (25^\circ\text{C}) = 4.0966 \\
 K (25^\circ\text{C}) &= 8.0056 \times 10^{-5}
 \end{aligned}$$

$$t_{90} = \frac{0.105}{8.0056 \times 10^{-5}} = 1311.58 \text{ días ; } 3.64 \text{ años}$$

C O N C L U S I O N E S

La presentación anterior de PANTOBARICA, solución inyectable, mostraba al cabo de un año cristales blancos que con el tiempo cambiaban de color debido a una oxidación.

PANTOBARICA liofilizado en base al estudio acelerado de estabilidad y en base al criterio de arrhenius presenta una fecha de caducidad de 3.64 años a 25°C, además se mejora la apariencia del producto considerablemente al no estar en contacto con el vehículo hasta el momento de emplearse.

VIII.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- E.G.V. Clark, ISOLATION AND IDENTIFICACION OF DRUGS, 17a. Edición, Volúmen I, The Pharmaceutical Press, Londo. 1974
- 2.- Oslo, Pratt, THE UNITED STATES DISPENSATORY 27th Edition, J.G. Lippincott Company, Philadelphia. Toronto. 1973
- 3.- REMINGTON, FARMACIA PRACTICA, 17a. Edición, Volúmen II, Editorial Panamericana, Buenos Aires, Argentina. 1985
- 4.- U.S. PHARMACOPEIA NATIONAL FORMULARY, U.S.P. XXI, NF XVI American Pharmaceutical Association, Printed by Marck Printing G. Company, Easton.
- 5.- Dr. José Helman, FARMACOTECNIA TEORICA Y PRACTICA, 3a. Impresión, Editorial Continental, S. A. de C. V., Noviembre de 1982.
- 6.- Bowman y Rand, FARMACOLOGIA BASES BIOQUIMICAS Y PATOLOGICAS, 2a. Edición, México, Editorial Interamericana, S.A. de C.V., 1984.
- 7.- MARTINDALE, THE EXTRA PHARMACOPEIA, 27th edition, The Pharmaceutical Press, London. 1974.
- 8.- Goodman y Gilman, LAS BASES FARMACOLOGICAS DE LA TERAPEUTICA, 6a. Edición, Editorial Médica Panamericana, México. 1982.
- 9.- THE PHARMACEUTICAL SOCIETY OF GREAT BRITAIN, THE PHARMACEUTICAL CODEX, 11th Edition, The Pharmaceutical Press, London, 1979.
- 10.- FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS, 5a. Edición, México, 1988.
- 11.- Connors, Amidon, Kenyon, CHEMICAL STABILITY OF PHARMACEUTICALS, A HANDBOOK FOR PHARMACISTS, A Wiley-Interscience Publication, Printed in United States of America, 1979.

**ESTA TESIS, NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**