

81 2ef



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**Reformulación de Tabletas de Metoprolol, Desarrollo y Validación del Método de Control de Calidad y Estabilidad.**

TESIS CON  
FALSA FE DE CUBRIR

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

**P R E S E N T A**

**RICARDO MARTINEZ GARCIA**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## INDICE

Introducción.....	1
-------------------	---

### GENERALIDADES

Monografía.....	4
Desarrollo Farmacéutico.....	11
Validación.....	21
Cromatografía en Capa Fina.....	30

### PARTE EXPERIMENTAL

Reformulación.....	40
Método Analítico de Control de Calidad.....	50
Método Analítico Indicador de Estabilidad.....	60
Discusión.....	67
Conclusión.....	70
Bibliografía.....	72

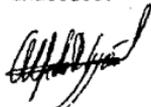
# INTRODUCCION

## INTRODUCCION

El metoprolol es un antagonista adrenérgico beta 1 relativamente selectivo y cardioselectivo de actividad agonista. El propranolol ha sido desplazado lentamente por el metoprolol debido a su acción selectiva, actualmente es un fármaco ampliamente utilizado en la clínica y por lo tanto de gran demanda, pero debido a las características del principio activo se dificulta su compresión durante la fabricación de las tabletas, haciendo necesaria la utilización de una gran cantidad de excipientes.

Este trabajo tiene el objetivo principal de resolver el problema que presenta la formulación para la fabricación de tabletas de metoprolol. El principal problema se presenta al troquelear el granulado, ya que este se agniera a los punzones de la tableteadora, dando por resultado tabletas con marcas o muescas, además de que la mezcla de polvo no comprime adecuadamente dando comprimidos con dureza baja y friabilidad alta. Para poder obtener la dureza adecuada se debe forzar la tableteadora, con el consecuente desgaste y en ocasiones hasta daño serio a los punzones y aumento de la temperatura por la fricción generada, este aumento de temperatura ocasiona, por las características del principio activo, que se agniera con mayor facilidad y fuerza a los punzones, favoreciendo con la fricción la formación de una especie de "escamas" que al depositarse en la matriz y en los punzones producen tabletas manchadas. En ocasiones este sería de problemas da por resultado que el lote tenga que sufrir un reproceso, el cual además de ser costoso en cuanto a equipo utilizado, materias primas y horas hombre, también rompe con los programas previstos de producción y normalmente se obtienen rendimientos bajos por la manipulación excesiva que sufre el lote. Otro objetivo de este trabajo es el de desarrollar una fórmula con un menor peso de la tableta sin disminuir la cantidad de principio activo con el consecuente ahorro de excipientes. La fórmula actual da por resultado una tableta de 375 mg, se pretende disminuir el peso a 250 mg o menos si es posible.

En resumen se pretende desarrollar una nueva fórmula que evite los problemas anteriormente expuestos, y al mismo tiempo también se desarrollara y validará un método analítico de control de calidad y otro indicativo de estabilidad que queda llevarse a cabo en el laboratorio. Los análisis para el estudio de estabilidad se realizaban en un laboratorio auxiliar a falta de cromatógrafo de líquidos, por lo que también habrá un ahorro de tiempo y costos en los análisis.



# GENERALIDADES

# MONOGRAFIA



1580 : Acido carboxilico.  
1580, 1515 : Anillo aromatico.  
1250, 1015 : Eter aromatico.  
1150 : Grupo isopropilo.  
1100 : Eter alifatico, alcohol secundario.  
820 : Benceno disustituido 1,4 (1)

ROTACION ESPECIFICA : Entre +0.5 y +10.5 determinado a 20°C en solución a una concentración de 20 mg / ml. (2)

pH : Entre 6 y 7 en solución 1 : 10 (2)

PERDIDA AL SECADO : Secar a 60°C al vacio durante 4 horas; no pierde más del 0.5 % de su peso. (2)

RESIDUO DE IGNICION : No mas del 0.1 %. (2)

METALES PESADOS : método I. No más de 0.001 %. (2)

PUREZA CROMATOGRAFICA :

Soluciones estándar de referencia .- Disolver una cantidad adecuada de tartrato de metoprolol sustancia de referencia para obtener una solución que contenga 20 mg / ml en cloroformo; tomar alícuota y hacer diluciones para obtener soluciones de 0.2, 0.1, 0.05 y 0.02 mg / ml en cloroformo.

Solución de prueba .- Disolver una cantidad adecuada de tartrato de metoprolol para obtener una concentración de 20 mg / ml en cloroformo

Cámara cromatográfica .- Colocar papel absorbente dentro de la cámara y 200 ml de cloroformo; colocar un vaso de precipitados que contenga 70 ml de hidróxido de amonio en la parte inferior de la cámara. Saturar la cámara por 1.5 horas antes de usarla.

Solución reveladora .- Preparar por separado soluciones de yoduro de potasio (1 en 100) y almidón (3 g en 10 ml de agua fría y adicionar 70 ml de agua hirviendo con agitación constante). Antes de usar mezclar 10 ml de cada solución y 3 ml de alcohol.

Procedimiento : - A placas de Gel de Sílice de 0.25 mm de espesor, aplicar 5 mci de la solución problema y de cada dilución estándar. Colocar la placa en la cámara, cerrarla y dejar correr el solvente aproximadamente 3/4 partes de la placa; secar hasta que no persista el olor a amoníaco. Colocar la placa en una cámara junto a un vaso que contenga 0.5 g de permanganato de potasio. Adicionar al vaso 3 ml de solución 5N de ácido clorhídrico y retirar la placa 1 minuto después. Colocar la placa al aire durante algunos minutos y rociar con la solución reveladora. Si se presentan otras manchas además de la mancha principal, estimar la concentración por comparación con las manchas estándar. La suma de las impurezas observadas en la solución problema no debe ser mayor a 1 %. (2)

VALIDACIÓN : Disolver 250 mg de tartrato de metoprolol en 20 ml de ácido acético glacial, titular con solución 0.1N de ácido perclórico. Determinar el punto final potenciométricamente usando un electrodo de calomel o de vidrio contenido ácido acético glacial saturado con cloruro de litio. Hacer un blanco y llevar acabo la corrección necesaria. Cada ml de solución 0.1N de ácido perclórico equivale a 34.24 mg de tartrato de metoprolol. (2)

CONSERVACIÓN : Preservar en contenedores resistentes a la luz y herméticos. (2)

#### FARMACOLOGIA

El metoprolol es un antagonista adrenergico beta 1 relativamente selectivo desprovisto de actividad agonista, inhibe eficazmente las respuestas inotrópicas y cronotrópicas del isoproterenol; su potencia en este sentido es semejante a la del propranolol. En contraste, para inhibir la respuesta vasodilatadora del isoproterenol la dosis de metoprolol debe ser de 50 a 100 veces mayor que la de propranolol. Esta relativa selectividad beta 1 del metoprolol es la base de su ventaja terapéutica potencial sobre agentes menos selectivos. (5)

Toxicidad, efectos secundarios y precauciones.- El metoprolol causa cierta reducción del volumen respiratorio forzado en pacientes asmáticos, pero el efecto es menor que el producido por el propranolol cuando los fármacos se administran en dosis que causen el mismo bloqueo beta 1 adrenergico. A diferencia del propranolol, el metoprolol no inhibe mayormente la broncoconstricción inducida por el isoproterenol. (4)

El metoprolol reduce la actividad plasmática de renina en pacientes hipertensos y en sujetos normales, e inhibe el aumento de actividad plasmática de renina normalmente inducidos por el estrés cardiovascular. Hay algunas pruebas de que el metoprolol puede deteriorar la tolerancia a la glucosa en los pacientes, implicando que la liberación de insulina medida por receptores beta se inhibe hasta cierto punto con este fármaco. (5)

Los efectos secundarios más comunes por la administración de metoprolol son fatiga, cefalalgia, mareo e insomnio. Estos efectos por lo general no son lo bastante graves para suspender el tratamiento. El metoprolol no se debe usar si hay riesgo de insuficiencia cardíaca congestiva, a menos que el paciente se supervise cuidadosamente; puede ser necesaria la administración de digital. (4)

**PREFARACIONES, VIAS DE ADMINISTRACION.-** El tartrato de metoprolol se administra por vía oral. La dosis inicial es de 50 mg dos veces al día y puede llegar hasta 450 mg/día. El metoprolol se presenta en el mercado en tabletas de 50 y 100 mg. (5)

**USOS TERAFÉUTICOS.-** Es un eficaz antihipertensivo, y su eficacia parece ser comparable con la del propranolol en el tratamiento de la enfermedad leve y moderada. El metoprolol se administra a menudo combinado con otros fármacos antihipertensivos. Aunque es lógico suponer que el metoprolol debe ser efectivo en el tratamiento de arritmias cardíacas y angina de pecho, aun no se conocen datos. (4,5,6)

#### MONOGRAFIA DE TABLETAS DE TARTRATO DE METOPROLOL

##### Formula:

Tartrato de metoprolol	100 mg
excipiente c. d. p.	1 tableta.

**DESCRIPCION.-** tabletas ienticulares de 8 mm, color amarillo tenue, inodoras.

**FRIABILIDAD.-** No debe ser mayor de 0.8%.

**DUREZA.-** No debe ser mayor a 10 kg.

VARIACION DE PESO.- Para determinar uniformidad de contenido por variación de peso, pesar 10 tabletas una a una y calcular el peso promedio. A partir del resultado obtenido del ensayo, calcular la cantidad de principio activo en cada una de las 10 tabletas, suponiendo una distribución homogénea de principio activo. (2)

Para tabletas de 211.6 mg la variación que admite la farmacopea es de 7.5%. una tableta puede salir de este límite, pero no debe exceder el doble de este límite. Los límites son de 227.6 mg a 195.9 mg.

**DISOLUCION.-**

Medio.- Jugo gástrico simulado sin enzimas, 900 ml.

Aparato.- 1: de la USP a 100 rpm.

Tiempo.- 30 minutos.

Procedimiento.- Determinar la cantidad de tartrato de metoprolol disuelta en las porciones filtradas en cada una de las soluciones problema, obteniendo las lecturas de absorbancia a 275 nm, en comparación con una solución de tartrato de metoprolol estándar de concentración conocida disuelta en el mismo medio.

Tolerancias.- No menos de 75% de la cantidad señalada en el marbete en 30 minutos. (2)

IDENTIFICACION.- Tomar una cantidad de polvo proveniente de tabletas finamente pulverizadas equivalente a 40 mg de tartrato de metoprolol y pasar a un embudo de separación, adicionar 25 ml de agua y 4 ml de una solución (1 en 3) de hidróxido de amonio, extraer con 20 ml de cloroformo y filtrar a través de sulfato de sodio anhidro previamente lavado con cloroformo. Evaporar el cloroformo a sequedad y poner en un congelador para congelar el residuo, el espectro de absorción de infrarrojo de una dispersión en bromuro de potasio del residuo obtenido, exhibe un máximo a las mismas longitudes de onda de una muestra estándar de tartrato de metoprolol. (2)

UNIFORMIDAD DE CONTENIDO.- Entre 85 a 115% del teórico.

Procedimiento.- Transferir una tableta a un matraz volumétrico adecuado, adicionar solución 0.1 N de ácido

clorhídrico, aproximadamente el 60% del volumen nominal, agitar por sonicación por 15 minutos y después mecánicamente por 30 minutos. Llevar a volumen con solución 0.1 N de ácido clorhídrico para tener una concentración de 0.1 mg/ml. Mezclar y filtrar descartando los primeros 5 ml; determinar la absorción a 276 nm, usando un blanco corrido en las mismas condiciones para ajustar el aparato. (2)

Calcular la cantidad de tartrato de metoprolol en mg/tableta.

$$\text{Tartrato de metoprolol} = (T/0.1) C (Au/As)$$

T.- Cantidad de tartrato de metoprolol en el marbete.

C.- Concentración en mg/ml de tartrato de metoprolol en la solución estándar.

Au.- absorbancia de la solución problema.

As.- Absorbancia de la solución estándar.

DETERMINACION DE TARTRATO DE METOPROLOL.- A falta de cromatógrafo de líquidos en el laboratorio se utiliza el método de uniformidad de contenido explicado anteriormente.

# DESARROLLO FARMACEUTICO

## DESARROLLO FARMACEUTICO

Definición.- Conjunto de pasos y procedimientos que tienen como objeto el fabricar a nivel de producción una forma farmacéutica de calidad uniforme que mantenga sus características físicas y químicas durante el tiempo que esté en el mercado y que sea biodisponible y segura. (11)

Los pasos durante el trabajo de desarrollo de un medicamento nuevo se pueden clasificar en:

- Preformulación.
- Diseño de la formulación.
- Desarrollo analítico.
- Biodisponibilidad.
- Estabilidad.
- Planta piloto.
- Producción.

En este trabajo los puntos que se trataron primordialmente fueron:

- Diseño de la formulación.
- Desarrollo de métodos analíticos (11)

Los objetivos que se persiguen son los siguientes:

- Mejorar la formulación que se encuentra en el mercado, desarrollar un proceso de fabricación más efectivo y reducir costos de fabricación.

- Diseñar métodos de análisis para el estudio de estabilidad de la formulación y para el control de calidad del medicamento.

## DESARROLLO DE UN PRODUCTO FARMACEUTICO

El primer paso es el descubrimiento de un nuevo fármaco, lo cual puede venir de diferentes situaciones (Síntesis, métodos biológicos, extracciones, etc.) El siguiente paso es efectuar una selección biológica por medio de la cual, de una serie de compuestos relacionados por su estructura química, se selecciona el más prometedor para efectuar los estudios de toxicidad. En este momento, se inicia la formulación del producto y los estudios de toxicidad en animales. Se prueban varias formulaciones del mismo compuesto desde el punto de vista de su estabilidad física, química y microbiológica y en cuanto comienzan los estudios de toxicidad, se inician los estudios biofarmacéuticos, por medio de los cuales se conoce cual de las formulaciones de las que ya se tienen indicios que van a ser estables, producirán en el animal los mejores y más consistentes efectos terapéuticos. (11,12)

Una vez determinada la toxicidad en animales y ya teniendo una fórmula estable, se preparan los primeros lotes de material clínico para la primera fase de estudios clínicos en humanos para la evaluación preliminar de toxicidad, metabolismo, absorción, eliminación, otras acciones farmacológicas, ruta de administración preferida y dosis. (11,13)

Esta primera etapa se lleva a cabo en individuos voluntarios sanos. La fase II cubre las primeras pruebas en un número limitado de pacientes para el control de una enfermedad específica. El propósito de esta fase es determinar la dosis y la formulación óptima del fármaco. Durante esta etapa se continúa con los estudios biofarmacéuticos y los de estabilidad del producto para seleccionar la forma farmacéutica. (11,13)

En la fase III de los estudios clínicos se usa el medicamento en pacientes tal como será usado en caso de ser aprobado para ser lanzado al mercado. Esta fase provee los datos definitivos sobre la efectividad y la seguridad del nuevo medicamento en el diagnóstico, tratamiento o profilaxis de un grupo de personas con una enfermedad o condición determinada. (11,13)

Durante los estudios de formulación, se pueden distinguir tres tipos principales de problemas:

- Problemas biofarmacéuticos.- La sustancia activa debe liberarse de la forma farmacéutica de acuerdo a sus propiedades farmacocinéticas y debe absorberse a una velocidad y en una cantidad adecuada tal, que no de problemas de biodisponibilidad. (11,13)

- Problemas químicos, físicos y microbiológicos.- El producto debe tener buenas características químicas, físicas y microbiológicas aun después de cierto tiempo de haber sido fabricado, es decir, debe ser estable. (11,15)

- Problemas técnicos.- El producto debe ser manufacturado a cualquier escala sin cambios significantes en la formulación y no deben existir problemas durante su control. (11,12)

#### ESTUDIOS DE PREFORMULACION

Los estudios de preformulación comprenden el conjunto de conocimientos acerca del principio activo (propiedades físicas y químicas, incompatibilidades, productos de descomposición, mecanismo de degradación, etc.) que permiten desarrollar la forma farmacéutica más adecuada, estable, efectiva y segura. (11,12)

También se puede definir como: Generación de información en relación a las propiedades físicas y químicas de un fármaco, esencial para el desarrollo de una forma farmacéutica física y químicamente estable y de la cual el principio activo sea biodisponible. (11,12)

Los estudios de preformulación sirven para:

- Seleccionar la forma del fármaco más adecuada.
  - Física y químicamente estable.
  - Biodisponible.
- Seleccionar los excipientes más convenientes.
- Desarrollar adecuados procesos de manufactura.
- Economizar tiempo y dinero en las diferentes etapas por la que tiene que cursar el fármaco para incorporarse a una forma farmacéutica. (11,12)

Los estudios de preformulación deben de comprender los siguientes conocimientos acerca del fármaco: (11,12)

- I.- Información general.
- II.- Propiedades Físicas.
- III.- Propiedades Químicas.
- IV.- Metodología Analítica.
- V.- Otras propiedades.

## DESARROLLO DE FORMULAS

El desarrollo de nuevas formulaciones se inicia fabricando lotes a nivel de laboratorio. (11,12)

Para la fabricación de un medicamento se necesita:

- El ingrediente activo, el cual debe ser activo farmacológicamente y no presentar efectos secundarios.

- Los excipientes o vehiculos que son sustancias necesarias para la preparación de un medicamento deben ser químicamente inertes y no tener ningún efecto farmacológico a las dosis usadas. (11,12)

- El material de empaque que se divide en dos, el que esta íntimamente en contacto con el producto el cual debe ser inerte y no presentar ningún tipo de reacción con ninguno de los ingredientes de la fórmula y el empaque final que es el que le da la presentación al producto. (11,12)

Durante este proceso de desarrollo, se debe ver la degradación y las interacciones que sufre el ingrediente activo con los excipientes o el material de empaque. (11,12,13)

Los primeros lotes en fabricarse son muy pequeños con objeto de familiarizarse con las propiedades físico - químicas de la materia prima y su comportamiento en la forma farmacéutica que se esta preparando.

## BIODISFONIBILIDAD

Los factores que afectan la biodisponibilidad se pueden dividir en tres grandes grupos: (11,13)

- Factores inherentes a la forma farmacéutica.  
(Principio activo, excipientes, métodos de manufactura, etc.)

- Factores biológicos.

- Otros factores entre los cuales es muy importante la administración de otros medicamentos al mismo tiempo.

Entre las propiedades físico-químicas del principio activo que pueden afectar la biodisponibilidad del medicamento se encuentran: (11,13,14)

- Solubilidad.
- Velocidad de disolución.
- Polimorfismo.
- Estado amorfo y grado de hidratación.
- Estado químico.
- Formación de complejos.
- Tamaño de partícula.
- Solubilidad en lípidos.
- Constante de disociación.
- Coeficiente de partición.
- Hidrólisis en el tracto gastrointestinal.
- Peso molecular.
- Tensión superficial entre el fármaco y el medio de disolución.

Entre los factores biológicos que afectan la biodisponibilidad se encuentran los siguientes: (11,13)

- Vía de administración.
- Superficie del sitio de absorción.
- Temperatura del sitio de absorción.
- pH del sitio de absorción.
- Estructura morfológica.
- Estructura química del sitio de absorción.
- Estado del sitio de absorción y del organismo en general.
- Edad.
- Sexo.
- Raza.

- Estado emocional.

En la formulación de una tableta pueden intervenir muchos factores que afectan la biodisponibilidad, por ejemplo: (11,12)

- Cantidad y tipo de diluentes y otras sustancias tales como sales neutras.
- Métodos de fabricación empleados.
- Tamaño de granulo y distribución.
- Aglutinantes.
- Cantidad y tipo de desintegrantes.
- Agentes tensoactivos.
- Fuerza de compresión.
- Humedad durante la fabricación.
- Condiciones de almacenamiento.
- Edad.

Todos estos factores son las razones para que cada vez que se trabaja con una fórmula nueva se deban llevar a cabo estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia, que aseguren que la nueva formulación tendrá el efecto farmacológico deseado.

#### DESARROLLO ANALITICO

Durante esta etapa, se deben desarrollar los métodos analíticos para los estudios de estabilidad de las nuevas formulaciones, los métodos que serán utilizados en control de calidad para el análisis de lotes fabricados en producción y los métodos para la identificación y cuantificación de fármacos en sangre y orina para los estudios de biodisponibilidad. (11,14)

Es importante el contar con métodos que permitan cuantificar los principios activos y que al mismo tiempo permitan detectar los posibles productos de degradación, es decir, debe probarse que son específicos para el fármaco intacto. (11,14)

Al planear el desarrollo del método analítico de una nueva formulación, se debe tener en cuenta tanto el principio activo como todos y cada uno de los excipientes en la formulación.

Existen tres puntos importantes que se deben de tomar en cuenta como punto de partida para toda consideración analítica:

- **Fórmula.**- Generalmente proporciona mucha información sobre un compuesto, dependiendo del cuidado que se tenga para analizarla, se debe mostrar interés principalmente en los grupos funcionales, existencia de dobles ligaduras, grupos cromóforos, polaridad del compuesto, etc.

- **Propiedades físico-químicas.**- Es muy importantes tomarlas en cuenta para poder desarrollar lo más eficientemente el método de análisis.

- **Bibliografía.**- No se debe pasar por alto la importancia que tiene el consultar a fondo la bibliografía, ya que generalmente evitara gastos inútiles de tiempo, esfuerzo y materiales.

La metodología analítica usada en predecir la estabilidad de un fármaco, se puede dividir de la manera siguiente:

- Métodos Titulométricos.
- Métodos Espectrofotométricos.
- Métodos Cromatográficos.

Los métodos titulométricos no son los más adecuados en los estudios de estabilidad de un medicamento, debido a que no ofrecen la especificidad requerida en la mayoría de los casos. A pesar de esto, si el o los productos presentes en la formulación no interfieren en la titulación, pueden ser utilizados. Estos métodos tienen la ventaja de ser muy accesibles y de bajo costo de operación y en ocasiones no necesitan de estándares de referencia, como se sabe son muy usados en control de calidad. (11,14)

## ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

El término estabilidad puede ser definido de la

siguiente manera:

Propiedad de una forma farmacéutica contenida en un determinado material de empaque para mantener entre límites especificados y durante el tiempo de almacenamiento y uso, las características físicas, químicas, microbiológicas, terapéuticas y tóxicas que tenía en el momento de ser fabricada. (11,15)

Los estudios de estabilidad acelerada se realizan sometiendo las muestras a diferentes condiciones extremas de luz, temperatura, humedad, presencia de oxígeno, etc, obteniéndose resultados en periodos de tiempo más cortos, con los cuales se puede predecir que tanto tiempo un producto va a ser estable a temperatura ambiente. (11,15)

El objetivo de los estudios de estabilidad es asegurar la integridad de la formulación durante un tiempo determinado para que durante ese lapso el medicamento cumpla con los fines para los que fue creado. (11,15)

Esto se logra prácticamente primero, controlando todos los factores que intervienen en la fabricación de la forma farmacéutica y segundo, estableciendo ciertos parámetros prácticos que intervienen en el estudio de la estabilidad de la formulación. (11,12,15)

Los factores que intervienen en la fabricación son:

- Principios activos.
- Excipientes.
- Conservadores.
- Proceso de fabricación.
- Equipo.
- Buenas prácticas de manufactura.
- Material de empaque.

Los parámetros que se deben de tomar en cuenta durante el estudio de estabilidad son: (11,15)

Métodos analíticos, los cuales deben ser:

- Precisos.

- Exactos.
- Sensibles.
- Lineales.
- Específicos.

Pruebas con placebos.

Pruebas toxicológicas.

Se debe contar con estufas o cámaras especiales en donde se guarden las muestras a diferentes temperaturas y humedad para ser analizadas periódicamente.  
(11,15)

Estas estufas deben estar controladas las 24 horas del día por medio de un graficador de temperatura y otro de humedad. (11,15)

# VALIDACION

## VALIDACION

En los últimos años, la industria farmacéutica ha sufrido una importante transformación debido principalmente a la creciente demanda de nuevos y mejores medicamentos y a las exigencias de las oficinas gubernamentales en relación a los controles que deben llevarse a cabo durante la fabricación y el análisis de los medicamentos con objeto de tener en el mercado formulaciones que cumplan con el propósito con el cual fueron diseñadas y que no existan variaciones de lote a lote del mismo producto.

A través del tiempo, se han ido mejorando los procesos de manufactura, utilizando cada vez mejores equipos para poder cumplir con los nuevos retos para la fabricación de medicamentos y las técnicas analíticas y los controles durante el proceso se han hecho más sofisticados.

Para asegurar la calidad de un producto farmacéutico, hay que poner atención a un gran número de factores, incluyendo la determinación de la calidad necesaria de cada una de las partes y materiales, el diseño adecuado del producto y del proceso para fabricarlo, el control de todas las partes del proceso y las pruebas de control de calidad para el producto en proceso y el producto final. (6)

Debido a la complejidad de los productos farmacéuticos el control rutinario al final del proceso, generalmente no es suficiente para asegurar la calidad de cada una de las piezas fabricadas. (6)

Los principios básicos del aseguramiento de calidad tienen como meta principal, la producción de medicamentos que cumplan con las especificaciones para el uso para el cual están diseñados y la validación de todos los procesos involucrados en la fabricación y el control es el elemento clave para asegurar que se cumple con la meta propuesta. (7)

La validación de un proceso se define de la siguiente manera:

La validación de un proceso es el establecer una evidencia documentada que proporcione un alto grado de seguridad de que el proceso producirá consistentemente un producto que este de acuerdo con las especificaciones y las características de calidad previamente determinadas. (7)

La validación debe comenzar desde la etapa de desarrollo del nuevo medicamento para seguir durante la fabricación y el control del producto. (7)

La comprobación y verificación de la efectividad y

reproducibilidad de una técnica, una operación o un proceso se ha llamado validación. (7)

## VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

La validación de un método analítico se puede definir 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. (10)

### DEFINICIONES DE TERMINOS RELACIONADOS CON VALIDACION

**LINEARIDAD.**- Habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado. (10)

**RANGO.**- Intervalo entre los niveles superior e inferior de la sustancia, en el cual se ha demostrado que el método descrito es preciso, exacto y lineal. (10)

**EXACTITUD.**- 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. (10)

**PRECISION.**- 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 coeficiente de variación. (10)

**REPETIBILIDAD.**- Es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando mismos aparatos y técnicas. (10)

**REPRODUCIBILIDAD.**- Es la precisión de un método analítico expresada como 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. (10)

**LIMITE DE DETECCION.**- 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. (10)

**LIMITE DE CUANTIFICACION.**- Es la menor concentración de una sustancia en la muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas. (10)

**ESPECIFICIDAD.**- Es la medida del grado de interferencia, en el análisis de muestras complejas. Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida unicamente a la sustancia de interes y no a otros componentes de la muestra. (10)

**TOLERANCIA.**- La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación. (10)

#### PARAMETROS A DETERMINAR

**LINEARIDAD DEL SISTEMA.**- Se determina construyendo una curva de calibración (cantidad adicionada vs respuesta obtenida) de una misma solución patrón, utilizando un mínimo de 5 diluciones y haciendo el análisis por duplicado para cada dilución. En el intervalo entre las concentraciones se debe incluir el 100%. (10)

Criterio.-  $b \neq 0$ ,  $r > 0.99$ ,  $r > 0.98$ ,  $m \leq 1$

**PRECISION DEL SISTEMA.**- Se determina del análisis por sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100% establecido en la linealidad del sistema. (10)

Criterio.- C.V.  $\leq 1.5\%$

**LINEARIDAD DEL METODO.**- Se determina a partir de placebos cargados del principio activo, cada uno de manera independiente, con un mínimo de 3 diferentes concentraciones incluyendo el 100%, haciendo los análisis por triplicado de cada concentración. Deberá llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación. (10)

Criterio.- Cantidad adicionada vs cantidad recuperada:

$m \geq 1, b \geq 0, r > 0.98$

En porcentaje recuperado: El I.C. para la media debe localizarse el 100%.

C.V. < 3%

EXACTITUD AL 100%. - Se determina analizando 6 placebo cargados con el 100% de principio activo, de manera independiente, por el mismo analista en las mismas condiciones de operacion. (10)

Criterio.- I.C. para la media debe incluir el 100%

C.V. < 3%

REPRODUCIBILIDAD.- Se determina por dos analistas al menos, en dos días diferentes y por triplicado cada muestra.

Se trabaja de manera independiente partiendo de una muestra homogénea del producto cercana al 100% de la concentración teórica. (10)

Criterio.- C.V. < 3%.

## GLOSARIO

- o = Ordenada al origen o intercepto.
- r = Coeficiente de determinación.
- $r^2$  = Coeficiente de Correlación.
- CV = Coeficiente de variación.
- IC = Intervalo de confianza al 95%.
- $\Sigma$  = Sumatoria.
- m = Pendiente.
- n = Numero de replicaciones.
- t = Numero de diluciones o numero de cantidades adicionadas.
- $\bar{y}$  = Media aritmetica.
- N = Numero total de determinaciones.
- DE = Desviación estandar.
- x = Dilución o cantidad adicionada.
- y = Propiedad medida o cantidad recuperada.
- $\bar{x}$  = Porcentaje recuperado.
- $\bar{R}$  = Promedio aritmético del porcentaje recuperado.
- t = Valor de la distribución t de Student con una probabilidad acumulada de 0.975.
- LSIC = Límite superior del intervalo de confianza al 95%.
- LIIC = Límite inferior del intervalo de confianza al 95%.
- gl = Grados de libertad.

$$Sx = n (x_1 + x_2 + \dots + x_t)$$

$$S_y = y_1 + y_2 + \dots + y_n$$

$$S_x = n (x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_n^2)$$

$$S_y = y_1^2 + y_2^2 + \dots + y_n^2$$

$$S_{xy} = x_1 (y_1 + y_2 + \dots + y_n) + x_2 (y_1 + y_2 + \dots + y_n) + \dots + x_n (y_1 + y_2 + \dots + y_n)$$

$$m = \frac{nt (S_{xy}) - (S_x) (S_y)}{nt (S_x) - (S_x)^2}$$

$$b = \frac{[nt (S_{xy}) - (S_x) (S_y)]}{[nt (S_x) - (S_x)^2] [nt (S_y) - (S_y)^2]}$$

$$r = \frac{[nt (S_{xy}) - (S_x) (S_y)]}{[nt (S_x) - (S_x)^2] [nt (S_y) - (S_y)^2]}$$

$$y = \frac{S_y}{N}$$

$$DE = \left[ \frac{N (S_y^2 - (S_y)^2)}{N (N-1)} \right]^{1/2}$$

$$CV = \frac{DE}{y} \times 100$$

$$R = (y / x) 100$$

$$SR = R_1 + R_2 + R_3 + \dots + R_n$$

$$SR = \frac{2}{1} R + \frac{2}{2} R + \frac{2}{3} R + \dots + \frac{2}{N} R$$

$$R = (SR) / N$$

$$R = t \frac{DE}{N} - \frac{1/2}{N}$$

#### PRUEBA DE ANADVA

Yijk = % Cuantificado.

Ai = Analista.

Di = Día.

ADij = Interaccion analista-día.

Ejk = Error experimental.

a = i = Número de analista.

b = j = Número de días.

c = k = Número de repeticiones por análisis.

$$\text{Analista} = \frac{g1_A}{g1_{AD}} = \frac{a - 1}{(a - 1)(b - 1)}$$

$$D_a = \frac{g1_D}{g1_{AD}} = \frac{b - 1}{(a - 1)(b - 1)}$$

$$A - D = \frac{g1_{AD}}{g1_{\text{error}}} = \frac{(a - 1)(b - 1)}{ab(c - 1)}$$

Area de aceptación.

$$F_{\text{calc}} < F_{\text{tablas}} \\ A \quad A$$

$$F_{\text{calc}} < F_{\text{tablas}} \\ D \quad D$$

$$F_{\text{calc}} < F_{\text{tablas}} \\ AD \quad AD$$

	Fuente	Grados de Libertad	Suma de cuadrados				Media Cuadrática	F calculo
Analista	A <sub>i</sub> (filas)	a - 1 i - 1	$\frac{\sum y_i^2}{2}$	$\frac{y^2}{2}$			SCa	MCa
			bc	abc			a - 1	MCad
Día	D <sub>j</sub> (columnas)	b - 1 j - 1	$\frac{\sum y_j^2}{2}$	$\frac{y^2}{2}$			SCd	MCd
			ac	abc			b - 1	MCad
Interacción A-D	AD <sub>ij</sub>	(a - 1)(b - 1) (i - 1)(j - 1)	$\frac{\sum y_{ij}^2}{2}$	$\frac{\sum y_i^2}{2}$	$\frac{\sum y_j^2}{2}$	$\frac{y^2}{2}$	SCad	MCad
			c	ab	ac	abc	(a - 1)(b - 1)	MC error
Error Experimental	E <sub>ijk</sub>	(ab)(c - 1) (i)(j)(k - 1)	$\frac{\sum y_{ijk}^2}{2}$	$\frac{\sum y_{ij}^2}{2}$			SCe	
			c				ao (c - 1)	

**CROMATOGRAFIA**

**EN**

**CAPA**

**FINA**

## CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

La cromatografía es un procedimiento fisicoquímico que permite separar los componentes o sustancias integrantes de una mezcla en movimiento, por adsorción o separación diferencial sobre una superficie estacionaria.

El químico ruso Mikhail Tswett descubrió en 1902 las ventajas de la cromatografía y estableció las bases de los principales procedimientos experimentales; Tswett encontró, que los pigmentos vegetales podían separarse, filtrando una solución en éter de petróleo, a través de una columna de carbonato de calcio. A esta separación le llamó cromatografía, sin embargo estas investigaciones tuvieron una utilización práctica hasta 1931. El primer trabajo fue sobre la separación de caroteno y el aislamiento del alfa y beta caroteno. (16,17)

En 1938, Reicstein demostró la utilidad de la cromatografía de líquidos y en 1941, Martin y Synge, se interesaron en la separación de mezclas de aminoácidos mediante la extracción continua a contracorrientes utilizando columnas empacadas de gel de sílice. La cromatografía en papel era considerada como el método de análisis cromatográfico ideal, pero en casos de sustancias lipofílicas presento problemas. Izmailov y Shraiber en 1938 describieron el principio de la cromatografía en capa delgada cuando esparcieron óxido de aluminio sobre placas de vidrio y separaron extractos vegetales. (18)

En 1951, Kirchner y sus colaboradores prepararon placas de sílica gel para separar aceites esenciales. En 1954 Reitsemá sugirió procedimientos de elaboración de placas de adsorbentes en condiciones reproducibles. En 1956 Stahl diseñó un aparato aplicador que permite elaborar con facilidad placas con comportamiento reproducible y le dió el nombre de cromatografía en placa fina; Stahl en 1958 describe las técnicas y equipo para llevar a cabo la cromatografía en capa fina en forma circular y de cuña. (19)

En 1968 Geiss y Schlitt, desarrollaron la cámara Vario KS, con esta las placas pueden exponerse en atmósfera con humedad controlada, proporcionando placas con una actividad definida. (17)

K. Brandt en 1972 empleo el primer equipo automatizado para el proceso total de cromatografía en placa delgada.

En 1976 Feimore trabajó la técnica llamada cromatografía en capa delgada de alta eficacia, esta técnica emplea placas comerciales con un tamaño de partícula de adsorbente

definido, por lo que se mejora la resolución y aumenta la sensibilidad, el disolvente se alimenta a la placa a una velocidad constante por medio de una jeringa que funciona a base de un motor de control automático. (11)

Stahl en 1963, describió un aparato para respar al adsorbente de la placa, para poder probar la adhesión y resistencia a la abrasión de las placas.

#### DEFINICIONES Y TERMINOS USADOS EN LA CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

A continuación se presentan algunos términos y sus definiciones, que comúnmente se emplean en cromatografía en capa fina. (20)

**CROMATOGRAFIA.-** Metodo fisicoquímico basado en la separación de los compuestos de una mezcla, por migración diferencial de los solutos transportados por un disolvente, que son retenidos selectivamente por una fase estacionaria (inmóvil). La fase estacionaria puede ser sólida o líquida.

**CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA O DELGADA.-** Técnica de separación de los constituyentes de una mezcla por migración diferencial sobre la capa fina de un adsorbente o gel, con o sin aglutinante, depositado en un soporte rígido o flexible.

**ADSORCION.-** Proceso que ocurre en la superficie de un líquido o un sólido como resultado de interacciones entre el adsorbente y el soluto. La adsorción ocurre probablemente en toda la superficie e interfases, pero para un proceso de separación es común usar sustancias que posean gran superficie específica.

**SOPORTE.-** La placa de vidrio, papel, plástico o metal sobre la que se deposita la fase estacionaria, sea adsorbente sólido, gel de reparto o resina de intercambio iónico.

**ADSORBENTE.-** Cualquier material que retiene a otras sustancias en su superficie, tal como sucede con el carbon activo. En la actualidad se conoce una amplia variedad de materiales que actúan como adsorbentes.

**CAPA.-** Fase estacionaria ( inmóvil ) depositada con espesor uniforme sobre el soporte. Si el espesor no supera los 0.3 mm, se considera delgada; si el espesor llega hasta 2 mm, se estima como gruesa.

**DISOLVENTE O ELUYENTE.-** Sustancia o mezcla de sustancias líquidas que constituyen la fase móvil (portadora) en una cromatografía. Generalmente se emplean líquidos con alta presión de vapor.

**FRENTE DEL DISOLVENTE.-** Línea frontal de la fase móvil, visible durante el desarrollo de la cromatografía.

**LONGITUD DE RECORRIDO.-** Distancia recorrida por la fase móvil desde el origen, hasta el frente del solvente.

**CÁMARA DE DESARROLLO.-** Recipiente con tapa, que cierra herméticamente, la cual contiene al sistema eluyente, y en donde se lleva a cabo la cromatografía.

**SATURACION DE LA CÁMARA DE DESARROLLO.-** Distribución uniforme en la cámara del vapor del disolvente, hasta alcanzar el equilibrio antes de iniciar el desarrollo. El término equilibrio se refiere a la saturación de la fase estacionaria por la fase de vapor.

**ORIGEN.-** Zona donde se aplica en forma de círculo o de línea, la mezcla que se va a separar.

**APLICACION.-** Colocación en el punto de origen, de la mezcla cuyos componentes se desean separar sobre la capa cromatográfica.

**DESARROLLO.-** Es la migración diferenciada de los componentes de la muestra al ser transportados por la fase móvil o disolvente. Por su dirección el desarrollo puede ser ascendente, si el disolvente se desplaza en sentido opuesto a la fuerza de gravedad sobre la fase estacionaria; descendente, si la fase móvil se desplaza en el sentido de la fuerza de gravedad y horizontal si la fase móvil se desplaza horizontalmente.

**REVELADO.**- Procedimiento químico o físico aplicado a la placa para hacer visibles las zonas o manchas de los componentes separados durante la cromatografía.

**REVELADOR.**- Agente físico o químico que actúa o reacciona con las sustancias separadas por cromatografía y produce coloraciones visibles a simple vista.

**ZONAS.**- Sustancias individuales separadas sobre una fase estacionaria, algunas veces son referidas como zonas sobre el cromatograma.

**RESOLUCION.**- Término usado para nombrar al proceso de separación de dos formas o entidades químicas sobre el cromatograma (EFICIENCIA DE LA SEPARACION).

**PATRON DE CARACTERIZACION.**- Conjunto de características obtenidas sobre la capa fina después del desarrollo y de la aplicación de agentes cromógenos; está dado por la posición, color, forma y tamaño de las manchas.

**VALORES GUIA O VALORES RELATIVOS.**- Relación entre la distancia recorrida por la sustancia objeto de estudio y la distancia recorrida por una sustancia conocida, que sirve de patron.

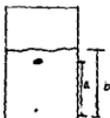
**CRONATOGRAMA.**- Superficie desarrollada sobre la cual las zonas separadas o manchas han sido reveladas, ya sea rociando con un reactivo o por una exposición a la luz ultravioleta.

**VALOR DE R<sub>f</sub>.**- También conocido como frente relativo o factor de retardo; es una medida de la migración de un soluto en relación al frente de disolvente. El valor de R<sub>f</sub> es una constante para un compuesto bajo condiciones específicas como: disolvente o sistema de disolventes empleado, tiempo de desarrollo, saturación de la cámara con vapor del disolvente, humedad de la atmósfera de la cámara, temperatura, etc. Para cada sustancia esta distancia es un valor constante si las condiciones cromatográficas también lo son. Los valores de R<sub>f</sub> siempre son menores que la unidad.

La distancia recorrida por la sustancia problema entre la distancia recorrida, al mismo tiempo por el frente de

disolvente proporciona el coeficiente llamado  $R_f$ , que describe el comportamiento migratorio de la sustancia. La distancia de migración del soluto se mide desde el centro del punto de aplicación hasta el centro geométrico de la mancha o al punto de máximo ascenso de la mancha.

Para la medición del valor de  $R_f$ , se puede usar una regla y calcularlo como se explica. También se han desarrollado y producido bandas elásticas llamadas "partogrid" y los valores de  $R_f$  pueden ser medidos directamente de estas bandas.



$$R_f = a/b$$

Donde  $a$  = Distancia recorrida por la sustancia problema.  
 $b$  = Distancia recorrida por el frente del disolvente.

El valor de  $R_f$  depende considerablemente de las condiciones en que se lleve a cabo el cromatograma y no es un dato suficiente para la identificación de una sustancia desconocida.

El valor de  $R_f$  es afectado por diversos factores: (2)

- Composición, selección, preparación y envejecimiento del disolvente.
- Naturaleza (marca y grado), método de almacenamiento, humedad y tratamiento de la sílica gel.
- Concentración del soluto.
- Dirección, longitud y método de desarrollo.
- Distancia del origen desde el depósito del disolvente.
- Volumen de disolvente en el depósito.
- Temperatura.
- Condiciones de equilibrio en el reparto seleccionado. La humedad en la cámara cromatográfica es importante.
- Flujo irregular del disolvente.
- Dimensiones volumen y geometría de la cámara desarrolladora.

- impurezas en el disolvente.
- Preparación de la muestra.
- Tiempo de desarrollo.
- Métodos de localización e identificación.
- Tamaño de partícula del adsorbente.
- Grado de saturación en la cámara con los vapores del disolvente.
- Distancia de aplicación de la muestra.
- Disolventes (composición y calidad).
- Tamaño de la muestra.
- Método de desarrollo.

#### BASES DE LA CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

Se denomina cromatografía a un procedimiento, en el cual una solución de sustancias a separar se desplaza en una dirección predeterminada a través de un material sólido, insoluble, inorgánico u orgánico, más o menos finamente repartido, siendo retenidos los componentes en medida individualmente distinta. Como mecanismos fundamentales han de tenerse en cuenta el reparto entre dos fases líquidas, así como la unión reversible de las combinaciones que se desplazan a la superficie del adsorbente. Si se trata principalmente de interacciones superficiales físicas, se habla de cromatografía de adsorción. En el caso de la cromatografía por intercambio iónico, se llega a la formación reversible de auténticas combinaciones químicas heteropólicas entre la sustancia que se desplaza y el adsorbente. (21)

Las bases teóricas de la cromatografía no se han aclarado en todos sus detalles, la gran cantidad de parámetros a considerar normalmente no son conocidos prácticamente por el analista. (21)

**SELECCION DE PROCEDIMIENTOS CROMATOGRAFICOS ADECUADOS.-**  
 Deben tenerse en cuenta las características estructurales más importantes, especialmente las diferencias de estructura de las sustancias a separar para elegir el método cromatográfico

mas adecuado en un problema de separacion determinado.

En la cromatografia de reparto, las diferencias de afinidad de las sustancias dependen del tamaño de la molecula muy marcadamente. Los acidos grasos sucesiones homologas, por ejemplo, solo se pueden separar por medio de la cromatografia de reparto; ya que en cromatogramas de adsorcion recorren la misma distancia. Por el contrario la cromatografia de adsorcion pone de relieve especialmente las diferencias entre clase y orden de los sustituyentes. (21)

La cromatografia de intercambio ionico, aventaja a la cromatografia de reparto cuando las sustancias a separar muestran diferencias en su carga dependiendo del pH, y cuando su solubilidad no es muy diferente. (21)

Una gran ventaja de la cromatografia en capa fina, es que esta ofrece muchas mas posibilidades de variación, en cuanto a adsorbentes y sustancias de soporte, que la cromatografia en papel. Además, en general, es mucho mas facil encontrar el procedimiento de separacion optimo en la cromatografia de capa fina, a causa de los cortos tiempos de recorrido, que en la cromatografia de papel. (21)

#### TECNICA DE LA CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

Preparacion de la capa separadora.- La capa fina se puede preparar de diferentes maneras. Lo mas utilizado es hasta ahora el uso de extendedores de capa fina. Aunque tambien se pueden obtener capas de separacion sumergiendo las placas de vidrio en la suspension de la fase estacionaria o vertiendo la suspension sobre el soporte; han dado especialmente buen resultado los extendedores de capa fina. (21)

La preparacion de las placas se realiza en tres etapas:

- Colocacion de las placas de vidrio y ajuste del extendedor de capa.
- Elaboracion de una suspension del material soporte y llenado del extendedor de capa.
- Extension de la suspension sobre las placas de vidrio.

Colocacion de las placas de vidrio y preparacion del extendedor.- Hay que limpiar cuidadosamente las placas, las cuales deben quedar exentas de grasa. La plantilla de trabajo de material plastico de una longitud aproximada de 110 cm. se coloca sobre la mesa de laboratorio. Sobre la plantilla se colocan 5 placas de vidrio del mismo espesor de 20 x 20 cm. (21)

A derecha e izquierda la serie de cinco placas estara encuadrada por 2 placas de 5 x 20 cm. El extendedor se coloca, abierto hacia arriba, sobre la placa inicial estrecha de la izquierda, llevándolo desde allí hasta la placa final de la derecha, para probar que corre adecuadamente. (21)

Preparacion de la suspension a extender y llenado del extendedor.- En este caso se explica usando como adsorbente silica gel G. 25g de silica gel G se mezclan uniformemente con 50 ml de agua destilada removiendo en un mortero o agitando fuertemente. La suspension bastante fluida, se endurece en pocos minutos a causa de su contenido en yeso. Por esto hay que llenar el extendedor inmediatamente, habiendo graduado anteriormente el espesor de capa deseado. (21)

Recubrimiento de las placas.- Después de introducir la suspension en el aparato, se espera hasta que la suspension se empiece a esparcir sobre la placa de vidrio y se comienza entonces el recubrimiento. Para esto lo mejor es situarse frente a la parte media de la plantilla, sujetar el extendedor con ambas manos y desplazarlo sin hacer mucha presión y con movimiento uniforme sobre las placas hasta llegar a la placa final. El carril guía del aparato proporciona el apoyo lateral necesario. (21)

#### TRATAMIENTO DE LAS PLACAS DESPUES DEL RECUBRIMIENTO

Secado.- Las placas se dejan en reposo hasta que su superficie esta completamente opaca, después lo mejor es dejarlas secar al aire durante la noche, lograndose así capas con gran poder de adhesión. (21)

Activación.- Se introducen las placas en un armario de secado. El tiempo de calentamiento y la temperatura dependen de la actividad que se desee lograr en la capa. Un calentamiento a 105 °C durante 30 min normalmente es suficiente para lograr una adecuada activación de las placas.

Conservacion.- Como el aire húmedo desactiva las placas activas, se deben conservar estas sobre sílice en un desecador. Al introducir placas calientes en el desecador, debe mantenerse abierto el grifo del mismo, conectado con un tubo de secado, lleno de gel azul. Las placas deben ser protegidas contra los vapores del laboratorio y cualquier deterioro de tipo mecánico. (21)

**PARTE**

**EXPERIMENTAL**

# REFORMULACION

## REFORMULACION

La finalidad de este estudio fue la de desarrollar una formula que no presentara los problemas de la formulación anterior, la cual era la siguiente:

1.- TARTRATO DE METOPROLOL	100 mg
2.- LACTOSA	160 mg
3.- ALMIDON	70 mg
4.- PRIMOJEL	18 mg
5.- FLASDONE K 90	2 mg
6.- COLOR AMARILLO No 5	0.01 mg
7.- AVICEL PH 101	15 mg
8.- ESTEARATO DE Mg	5 mg
9.- AGUA	0.05 ml

### PROCEDIMIENTO DE FABRICACION:

a) Tamizar 1, 2, 3 y 4 por malla No 16, mezclarlos por dilución farmacéutica durante 10 minutos, cada vez.

b) Disolver 5 y 6 en 9.

c) Humectar (a) con (b) de la siguiente manera: Dividir (b) en tres partes, adicionar una parte de (b) a (a), mezclando 5 minutos, adicionar otra parte de (b) y mezclar por 5 minutos, finalmente adicionar el resto de (b) y mezclar por 5 minutos, pasar por malla No 4 y secar a 40° C.

d) Pasar (c) por malla No 16.

e) Mezclar (c) con 7 y 8 durante 15 minutos.

f) Comprimir a un peso de 370 mg con punzon de 13 mm.

Para iniciar los estudios de reformulación se partió de los estudios y experiencias de la formula anterior, por lo tanto los estudios de preformulación, al igual que otras pruebas con algunos excipientes no fueron objeto de este trabajo, ya que este estudio parte de la formulación anterior y tiene por objeto el resolver los problemas que se presentan al troquelar y el tratar de disminuir la cantidad de excipientes, sin modificar la cantidad de principio activo.

El problema principal que se presenta al troquelear el granulado es el de adherencia a los punzones dando por resultado tabletas con muescas, esto debido a las características del principio activo. Para tratar de resolver este problema se pensó en primer lugar en elegir un aglutinante que pudiera recubrir al principio activo en forma tal que eliminara la adherencia a los punzones: los aglutinantes en que se pensó por su disponibilidad y características fueron los siguientes: Plasdone K 70, disuelto en agua y alcohol y pasta de almidón al 30%. Esta última se utilizó a tan alta concentración tomando en cuenta la naturaleza del principio activo que es muy nigroscópico lo que agudiza el problema de adherencia a los punzones, también al paso del tiempo y aumento de temperatura al tabletear el granulado empieza a tomar una consistencia chiclosa, dando por resultado una mayor adherencia a la máquina. En la fórmula en que se utiliza almidón por ser un aglutinante fuerte se debe aumentar la cantidad de desintegrante.

Las primeras fórmulas que se prepararon fueron:

	FORMULA A	FORMULA B	FORMULA C
1.- TARTRATO DE METOPROLOL	100 mg	100 mg	100 mg
2.- PRIMOJEL	4 mg	4 mg	8 mg
3.- PLASDONE K 70	5 mg	5 mg	-----
4.- ESTEARATO DE MAGNESIO	3.5 mg	3.5 mg	4.5 mg
5.- AGUA	0.05 mg	-----	0.021 mg
6.- ALCOHOL	-----	0.06 ml	-----
7.- LACTOSA DC HIDRATADA	89.5 mg	89.5 mg	60 mg
8.- PRIMOJEL	4 mg	4mg	3 mg
9.- LACA AMARILLA No 5	0.03 mg	0.05 mg	0.05 mg
10. PASTA DE ALMIDON AL 30%	-----	-----	35 mg

Procedimientos de fabricación Formulación A.-

- a) Disolver 3 en 5.
- b) Mezclar 1 y 2.
- c) Humectar (b) con (a) y tamizar por malla No 4.
- d) Secar (c) a 40° C y tamizar por malla No 22.
- e) Mezclar 7 y 8.
- f) Mezclar 4 y 9 y tamizar por malla No 35.
- g) Mezclar (e) y (f).
- h) Mezclar (d) y (g).

Formulación B.- Es igual que el anterior, con la única diferencia que el plasdone K90 se disuelve en alcohol.

Formulación C:

- a) Mezclar 1 y 2.
- b) Preparar 10.
- c) Humectar (a) con (b), secar a 40° C y tamizar por malla No 22.
- d) Mezclar 7 y 8.
- e) Mezclar 4 y 9 y tamizar por malla No 35.
- f) Mezclar (d) y (e).
- g) Mezclar (f) y (c).

El tamaño de los lotes fueron de 1000 tabletas y se troquelaron en una tableteadora monopunzonica.

RESULTADOS:

FORMULACION A.- Al troquelarse se adhiere un poco a los punzones, pero adquiere dureza, tiene friabilidad baja y la desintegración no presenta problemas.

FORMULACION B.- No presenta problemas al troquelarse, el granulado no se adhiere a los punzones, las tabletas tienen dureza adecuada y la desintegración es adecuada.

FORMULACION C.- No se puede troquelar, se adhiere mucho a los punzones y al troquelar no toman dureza las tabletas.

Analizando los resultados se puede decir que el problema se encuentra en utilizar agua en la formulación, ya que la dos formulaciones que la utilizan en la solución granulante dieron problemas al troquelarse. El tartrato de metoprolol por sus características higroscópicas se adhiere más a los punzones con la humedad que le queda al granulado al utilizar agua. También se observa que en este caso la pasta de almidón no es el aglutinante adecuado, ya que las tabletas no toman dureza mientras que el plasdone K90 mostró ser de mayor utilidad.

De acuerdo a los resultados obtenidos, en los siguientes lotes fabricados se utilizó como aglutinante plasdona K90 disuelto en alcohol, ya que fue el aglutinante que mejor resultado mostro al troquelar el granulado. Se realizaron otras pruebas para el ajuste de algunos excipientes como estearato de magnesio, primojel, lactosa, etc, y de acuerdo a los resultados obtenidos de todos estos pequeños ajustes se obtuvo la siguiente formula:

#### FORMULA D

TARTRATO DE METOFROLOL	100 mg
PRIMOJEL	4 mg
PLASDONE K 90	4 mg
ALCOHOL	0.048 ml
ESTEARATO DE MAGNESIO	3.5 mg
PRIMOJEL	4.0 mg
LACTOSA DC HIDRATADA	89.5 mg
LACA AMARILLA No 5	0.05 mg

Una vez optimizada la formulación se procedió a elaborar un lote de 10 000 tabletas para hacer la prueba en una tableteadora rotativa, pero el resultado de esta prueba no fue satisfactorio, ya que al aumentar el tamaño del lote y con ello el tiempo de troquelado la tableteadora se calienta y el granulado se vuelve chiclosa y se adhiere a los punzones, dando por resultado tabletas con muescas y la formación de una especie de escamas amarillas que manchan las tabletas.

De los resultados obtenidos y otras pruebas que se llevaron a cabo, se concluyó que el aglutinante no esta en cantidad suficiente como para recubrir adecuadamente al principio activo. Además se opta por cambiar el metodo de manufactura granulando una parte de la lactosa con el principio activo y así recubrir con mayor fuerza al fármaco

por lo que los siguientes lotes se elaboraron buscando la cantidad adecuada de lactosa a granular con el principio activo y también conocer la cantidad óptima de aglutinante a utilizar.

Se elaboraron los siguientes lotes variando cantidades de lactosa granulada con el principio activo y cantidad de aglutinante:

	FORMULACION E	FORMULACION F	FORMULACION G
1.- TARTRATO DE METOFROLOL	100 mg	100 mg	100 mg
2.- PRIMOJEL	6 mg	6 mg	6 mg
3.- LACTOSA DC HIDRATADA	45 mg	67.5 mg	76.5 mg
4.- PLASDONE 1.90	7.25 mg	8.3 mg	9.2 mg
5.- ALCOHOL	0.086 ml	0.098 ml	0.11 ml
6.- ESTEARATO DE MAGNESIO	3.5 mg	4.5 mg	4.5 mg
7.- LACTOSA DC HIDRATADA	45 mg	22.5 mg	13.5 mg
8.- FRIMOJEL	2 mg	3 mg	3 mg
9.- LACA AMARILLA No 5	0.05 mg	0.05 mg	0.05 mg

Procedimiento de manufactura:

- a) Mezclar 1, 2 y 3.
- b) Disolver 4 en 5.
- c) Humectar (a) con (b), tamizar por malla No 4. Secar a temperatura ambiente.
- d) Tamizar (c) por malla No 22.
- e) Mezclar 6 y 7, tamizar por malla No 35.
- f) Mezclar 7 y 8.
- g) Mezclar (e) y (f).
- h) Mezclar (g) y (d).

Cada lote fue de 1000 tabletas y fueron troqueladas en una tableteadora monopunzonica.

## RESULTADOS:

FORMULACIÓN E.- No presenta problemas al troquelar, la dureza de las tabletas es adecuada, tiene friabilidad baja y la prueba de desintegración no presenta problemas.

FORMULACIÓN F.- Al igual que la formulación E no presenta problemas, pero el tiempo de desintegración y la friabilidad son menores y se observa una mejor compresibilidad.

FORMULACION G.- En este caso no se puede troquelar, ya que se adhiere mucho el granulado a los punzones.

De acuerdo a los resultados anteriores se decidió elaborar lotes más grandes utilizando la formulación F, los cuales no presentaron ningún problema, aun en la tableteadora rotativa, dando como resultado la siguiente formulación final.

TARTRATO DE METOPROLOL	100 mg
PRIMOJEL	6 mg
LACTOSA DC HIDRATADA	67.5 mg
PLASDONE K 90	8.3 mg
ALCOHOL	0.098 ml
ESTEARATO DE MAGNESIO	4.5 mg
LACTOSA DC HIDRATADA	22.5 mg
FRIMOJEL	3 mg
LACA AMARILLA No 5	0.05 mg

Para llegar hasta la fórmula anterior fue necesario el llevar a cabo un gran número de pruebas adicionales y la elaboración de un total de 24 lotes y no solamente los lotes que se mencionan, ya que estos fueron los cambios más importantes y sobre los cuales se diseñó la nueva fórmula.

## EXCIPIENTES UTILIZADOS EN LA FORMULACION

**LACTOSA.**- Se utiliza como diluyente en tabletas y cápsulas, tiene un peso molecular de 342.30 y la monohidratada de 360.31. Es un polvo o partículas cristalinas blancas o casi blancas, inoloras, con ligero sabor dulce.

La lactosa monohidratada se afecta muy poco con la humedad atmosférica a temperatura ambiente. La lactosa anhidra se vuelve monohidratada en un ambiente de 70% de humedad relativa. La lactosa anhidra contiene normalmente al rededor de 1% de agua; la lactosa monohidratada pierde el 75% de su agua de cristalización de 103° a 105° C y 100% a 120° C, un secado a 80°C remueve el agua adsorbida.

Se almacena en contenedores bien cerrados, previniendo la adsorción de olores. La lactosa puede desarrollar color café en almacenaje. Pueden ocurrir condensaciones entre lactosa y compuestos con grupo amino primario desarrollando color café. Esta descomposición se puede acelerar con el uso de lubricantes alcalinos. Compuestos coloridos se pueden formar con compuestos de arsenico y trinitrato de glicerol.

Intolerancias en personas que tienen deficiencia de lactasa intestinal, puede ocasionar diarrea, distensión y flatulencia.

Se usa como diluyente y excipiente, existe en diferentes grados de compresibilidad dependiendo del metodo de cristalización, tamaño y forma de partícula; estos diferentes tipos de lactosa se usan según los fines deseados. (25)

**ESTEARATO DE MAGNESIO.**- Lubricante o antiadnente en tabletas y cápsulas. Tiene un peso molecular de 591.3. Es insoluble en agua alcohol y eter, ligeramente soluble en alcohol o benceno calientes. Se almacena en un lugar seco y frio en contenedores bien serrados. Incompatible con sustancias ácidas y básicas, sales de Fe. Generalmente se utiliza en concentraciones menores al 2% para no afectar la disolución y desintegración de las tabletas. (23)

**PLASDONE K90.**- Se utiliza como aglutinante o viscosante. Tiene un peso molecular de 10 000 a 700 000. Es un polvo blanco o crema, inoloro o con poco olor, es higroscópico. Soluble en agua, ligeramente soluble en solventes organicos, esencialmente insoluble en eteres, hidrocarburos, tetracloruro de carbono, etil acetato y aceite mineral. En concentraciones mayores al 10% se vuelve mas viscoso. Se

almacena en contenedores bien cerrados, se puede almacenar en condiciones ordinarias.

Es compatible en solución con sales inorgánicas, con resinas naturales y sintéticas y otros agentes químicos. Es inerte y no tóxico, no es irritante, no interfiere con la formación de anticuerpos. (23)

PRIMOJEL.- Se utiliza como desintegrante en tabletas y cápsulas. Polvo blanco o casi blanco, sin olor ni sabor, poco soluble en agua, insoluble en solventes orgánicos. Estable en contenedores bien cerrados y protegidos de humedad y temperatura; no tiene incompatibilidades conocidas. (23)

ALCOHOL.- Se utiliza como solvente o preservativo; es un líquido volátil, con un ligero olor característico, claro o incoloro. Absorbe agua rápidamente del ambiente, es miscible en toda proporción con agua; se almacena en contenedores bien cerrados alejados del fuego.

Incompatible en soluciones ácidas, puede reaccionar con materiales oxidantes, en soluciones alcalinas puede dar un color oscuro por reacción de los residuos aldehídos. Sales orgánicas pueden precipitar de dispersiones acuosas.

Puede irritar mucosas y membranas del sistema respiratorio superior. Preparaciones con 50% de alcohol pueden irritar la piel; deprime el sistema nervioso central, dosis suficientes pueden causar náuseas, vómito, excitación o depresión mental, mala percepción, falta de coordinación, dosis mayores pueden causar coma y muerte. (23)

**METODO  
ANALITICO  
DE CONTROL  
DE CALIDAD**

VALIDACION DEL METODO ANALITICO DE CONTROL DE  
CALIDAD PARA LA DETERMINACION DE METOPROLOL TABLETAS

METODO ANALITICO PROPUESTO

SOLUCION PROBLEMA .- Pulverizar finamente 20 tabletas pesar el equivalente a 100 mg de Metoprolol, colocar el polvo en un matraz volumetrico de 100 ml y llevar a aproximadamente el 80 % de su capacidad con solución 0.1N de ácido clorhídrico, agitar mecánicamente durante 15 minutos, llevar al volumen y filtrar.  
Tomar una alícuota de 10 ml y llevar a 100 ml con solución 0.1 N de ácido clorhídrico.

SOLUCION ESTANDAR .- Pesar 10 mg de metoprolol estandar de referencia, disolver y llevar a 100 ml con solución 0.1N de ácido clorhídrico.

PROCEDIMIENTO.- Leer ambas soluciones a 276 nm. en un espectrofotometro adecuado usando como blanco solución 0.1N de ácido clorhídrico.

Puntos evaluados en la validación del metodo analítico de Control de Calidad :

ESPECIFICIDAD.

LINEARIDAD DEL SISTEMA.

PRECISION DEL SISTEMA.

LINEARIDAD DEL METODO.

EXACTITUD AL 100 %.

PRECISION (Reproducibilidad).

ESPECIFICIDAD.- Con esto se comprueba la habilidad del

metodo para obtener respuesta debido solo a la sustancia de interes. Se demostro que los excipientes no interfieren en la cuantificacion del principio activo al analizar.

- 1) Placebo.
- 2) Problema (tabletas de Metoprolol)
- 3) Estandar de referencia.

En los espectros obtenidos, (fig 1, 2, y 3) no se observa interferencia por parte del placebo, las tabletas de Metoprolol y el estandar dan espectros iguales; por lo que se concluye que el metodo es especifico y es adecuado para los fines deseados.

**LINEALIDAD DEL SISTEMA .-** Se determino haciendo una curva de calibracion de la cantidad adicionada vs respuesta del espectrofotometro de una misma solucion patron utilizando 5 diluciones y haciendo los analisis por duplicado; en las concentraciones analizadas se incluyo el 100 %.

Criterio de aceptacion :

$$m \approx 1, \quad r > 0.99, \quad r_{\text{rel}} > 0.98, \quad b \approx 0$$

CONCENTRACION mcg/ml	ABSORBANCIA	
60	0.225	0.223
80	0.295	0.295
100	0.374	0.372
120	0.447	0.447
140	0.519	0.518

$$m = 0.9932$$

$$b = 0.223$$

$$r = 0.9958$$

$$R^2 = 0.9997$$

Los criterios se cumplen, por lo tanto el método es lineal.

**PRECISIÓN DEL SISTEMA** .- Se determinó analizando por sextuplicado una misma solución estándar correspondiente al 100 %.

Criterio de aceptación :

$$C.V. \leq 1.5 \%$$

ABSORBENCIA	PORCENTAJE
0.375	100.53 %
0.371	99.46 %
0.373	100.00 %
0.374	100.26 %
0.372	99.73 %
0.373	100.00 %

$$C.V. = 0.3776$$

El C.V. es menor de 1.5 %, por lo tanto se comprueba la precisión del sistema.

**LÍNEARIDAD DEL MÉTODO** .- Se determinó mediante el análisis de diácesos, cada uno en forma independiente; a tres diferentes concentraciones incluyendo el 100 % y llevando a cabo los análisis por triplicado.

Criterio de aceptación :

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada

$m \approx 1$ ,  $b \approx 0$ ,  $r^2 \approx 0.98$

De acuerdo a porcentaje recuperado:

El I.C. para la media debe localizarse el 100 %.

El C.V.  $\leq 5$  %

CONCENTRACION mcg/ml	% RECUPERADO		
80	79.89 %	79.35 %	80.42 %
100	99.46 %	99.19 %	100.00 %
120	120.91 %	119.30 %	120.64 %

$m = 1.01$ ,  $b = -1.09$ ,  $r^2 = 0.9997$

En referencia a 100 %

80 % -	100.00 %	99.32 %	100.67 %
100 % -	99.46 %	99.19 %	100.00 %
120 % -	100.89 %	99.55 %	100.67 %

El I.C. es de 100.2853 a 99.6547

El C.V. es de 0.4104

Al cumplir con los requisitos, se concluye que el método es lineal.

EXACTITUD AL 100 % .- Se analizaron 6 placeboos cargados con el 100 % del principio activo, cada uno en forma independiente.

Criterio de aceptación

I.C. para la media, debe incluir el 100 %.

C.V.  $\leq$  3 %

ABSORBANCIA	% RECUPERADO
0.373	100.00 %
0.372	99.73 %
0.374	100.26 %
0.375	100.53 %
0.370	99.19 %
0.375	100.53 %

I.C. = 100.2468 a 99.8362

C.V. = 0.5197

Por lo que cumple los requisitos y por lo tanto el método es exacto.

PRECISION (Reproducibilidad) .- Se llevó a cabo por 2 analistas en 2 días diferentes, analizando una misma muestra homogénea por triplicado y utilizando el mismo equipo.

Criterio de aceptación :

C.V.  $\leq$  3 %

	DIA 1		DIA 2	
	99.34	%	99.21	%
ANALISTA 1	99.81	%	100.00	%
	98.54	%	99.48	%
	99.74	%	99.80	%
ANALISTA 2	100.00	%	99.33	%
	100.00	%	99.33	%

C.V. = 0.4275

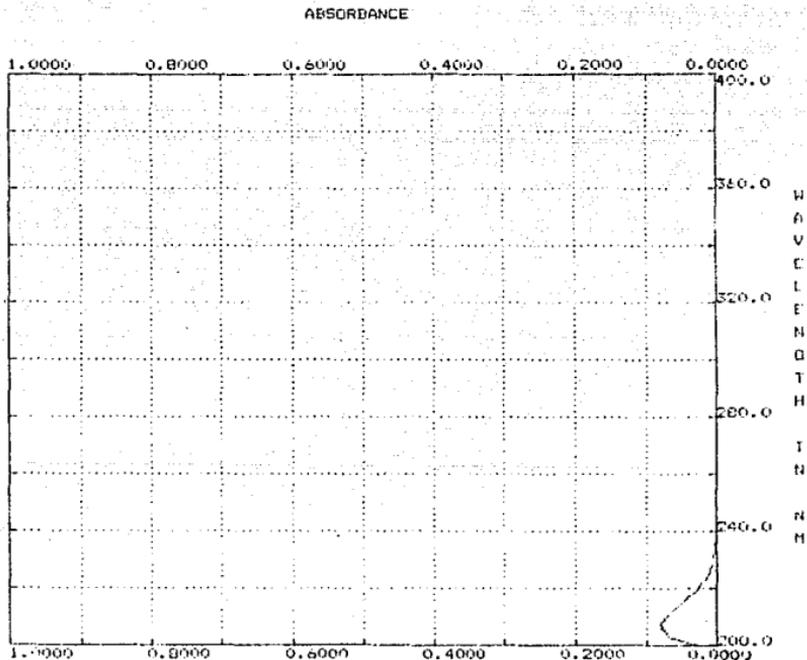
TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE		SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	Fcal	Ftab
ANALISTA	1	0.22	0.22	0.43	161.4
DIA	1	0.02	0.02	0.03	161.4
INTERACCION AD	1	0.51	0.51	1.26	5.32
ERROR	8	3.23	0.40	----	----

De acuerdo los datos obtenidos se comprueba que el método es reproducible.

FIGURA 1. ESPECTRO DE ABSORCION DE  
PLACEBO PARA TABLETAS DE METOPROLOL  
DISOLVENTE HCl 0.1N.

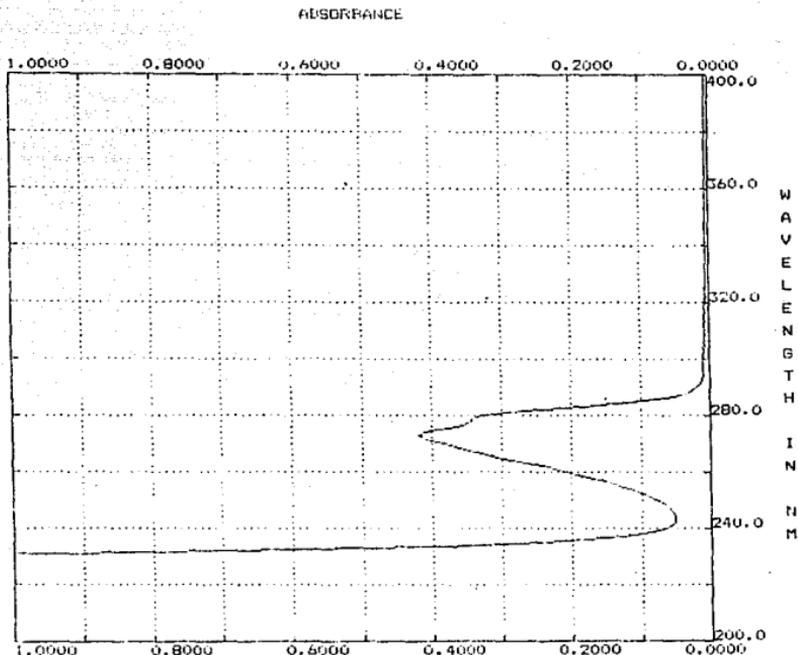
BECKMAN  
DU-64 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 750 nm/min

FIGURA 2. ESPECTRO DE ABSORCION DE  
TABLETAS DE METOPROLOL  
DISOLVENTE HCl 0.1N

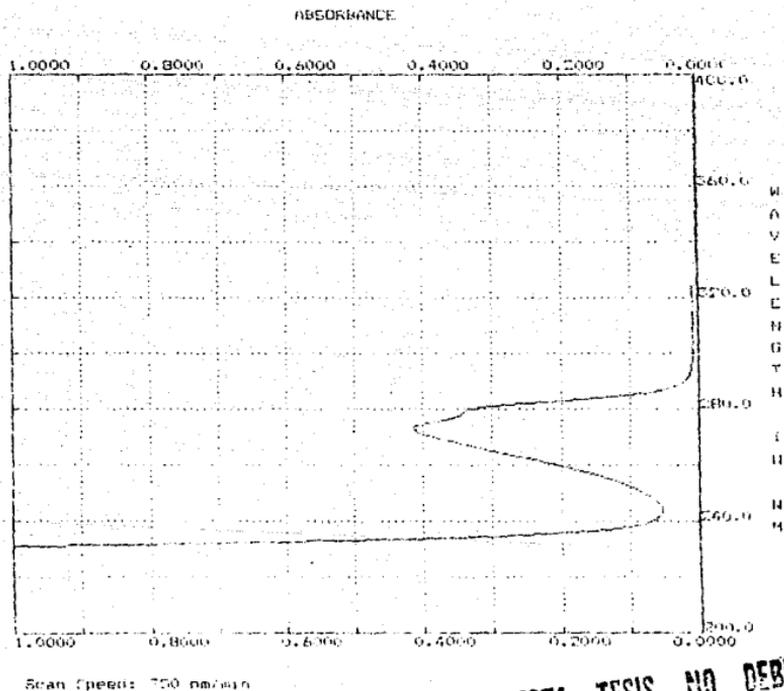
BECKMAN  
DU-64 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 750 nm/min

FIGURA 3. ESPECTRO DE ABSORCION DE  
METOPROLOL ESTANDAR  
DISOLVENTE HCl 0.1N

BECKMAN  
DU-64 SPECTROPHOTOMETER



ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

**METODO  
ANALITICO  
INDICADOR  
DE  
ESTABILIDAD**

VALIDACION DEL METODO ANALITICO INDICADOR DE ESTABILIDAD  
PARA LA DETERMINACION DE METOPROLOL TABLETAS

METODO ANALITICO PROPUESTO

SOLUCION PROBLEMA.- Pulverizar finamente 20 tabletas, pesar el equivalente a 200 mg de metoprolol, colocar el polvo en un matraz volumetrico de 10 ml y llevar, a aproximadamente el 60% de su capacidad con metanol, agitar mecánicamente durante 15 minutos llevar al volumen y filtrar.

SOLUCION ESTANDAR.- Pesar 200 mg de metoprolol estándar de referencia, disolver y llevar a 10 ml con metanol.

PROCEDIMIENTO.- Aplicar por duplicado 50 mcl de solución estándar y problema en carriles diferentes de una placa de Silica Gel GF activada 30 minutos. Utilizar un carril de la placa como blanco.

Colocar la placa en una cámara cromatográfica conteniendo un sistema metanol-nitrogeno de amonio (100 : 4).

Dejar ascender el solvente hasta que el frente de este alcance las tres cuartas partes de la placa. Secar la placa y observar bajo luz U.V; marcar y raspar las zonas donde se encuentren las manchas, colocar la Silica Gel en un tubo de ensayo y adicionar 10 ml de solución 0.1 N de ácido clorhídrico, agitar en mixer 1 minuto, filtrar y leer a 276 nm, usando como blanco la Silica Gel raspada del carril utilizado como blanco que recibe el mismo tratamiento que las demás muestras.

PUNTOS EVALUADOS EN LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO  
DE ESTABILIDAD:

ESPECIFICIDAD

LINEARIDAD DEL SISTEMA

PRECISION DEL SISTEMA

LINEARIDAD DEL METODO

EXACTITUD AL 100%

PRECISION (Reproducibilidad)

ESPECIFICIDAD.- Con esto se comprueba la habilidad del metodo para obtener respuesta debida solo a la sustancia de interes. Se demostro degradando muestras de:

- 1) Placebo.
- 2) Problema (tabletas de metoprolol)
- 3) Estandar de referencia.

A continuacion se muestra un cuadro de las condiciones en que se degradaron estas muestras:

	PLACEBO	PROBLEMA	ESTANDAR
TEMPERATURA	336 hrs 80°C	336 hrs 80°C	336 hrs 80°C
LUZ U.V.	60 hrs	60 hrs	60 hrs
LUZ SOLAR	360 hrs	360 hrs	360 hrs
MEDIO ACIDO	3 hrs Reflujo HCl 0.1 N METANOL	3 hrs Reflujo HCl 0.1 N METANOL	3 hrs reflujo HCl 0.1 N METANOL
MEDIO BASICO	2 hrs Reflujo NaOH 0.1 N METANOL	2 hrs Reflujo NaOH 0.1 N METANOL	2 hrs reflujo NaOH 0.1 N METANOL
OXIDACION	1.5 hrs H <sub>2</sub> O 30% 2 2	1.5 hrs H <sub>2</sub> O 30% 2 2	1.5 hrs H <sub>2</sub> O 30% 2 2

En cada una de las diferentes condiciones de degradacion el principio activo se degrada entre 10 y 25%. Para comprobar que la sustancia recuperada fuera tartrato de metoprolol y no un producto de degradacion se comparo con el Rf de un estandar sin degradar que fue el mismo, (0.7) y a cada uno se le hizo un barrido al U.V., los espectros resultantes fueron identicos. Si degradar el tartrato de metoprolol con peróxido de hidrogeno se observa otra mancha de Rf = 0.65 y al hacerle un barrido este fue diferente al del estandar; en los demás casos solo se observa la mancha debida al tartrato de metoprolol, lo cual al cuantificarla muestra que existió degradacion. Los productos de degradacion no absorben al U.V. por lo que no interfiere en el analisis.

LINEARIDAD DEL SISTEMA.- Se determino haciendo una curva de calibración de la cantidad adicionada vs respuesta del aparato de una misma solución patron utilizando 5 diluciones y haciendo los analisis por duplicado; en las concentraciones analizadas se incluyó el 100%.

Criterio de aceptación:

$$m \approx 1, \quad r > 0.99, \quad r^2 > 0.98$$

CONCENTRACION mcg/ml	ABSORBANCIA	
40	0.135	0.136
60	0.198	0.201
80	0.256	0.257
100	0.342	0.344
115	0.390	0.391

$$m = 1.0020$$

$$b = -1.811$$

$$r = 0.9978$$

$$r^2 = 0.9956$$

Los criterios se cumplen, por lo tanto el método es lineal.

PRECISION DEL SISTEMA.- Se determino analizando por sextuplicado una misma solución estándar correspondiente al 100%.

Criterio de aceptación:

$$C.V. < 1.5 \%$$

ABSORBANCIA	PORCENTAJE
0.345	100.93 %
0.343	100.35 %
0.344	100.64 %
0.338	98.88 %
0.336	98.30 %
0.345	100.93 %

C.V. = 1.1318 %

El C.V. es menor de 1.5 %, por lo tanto se comprueba la precisión del sistema.

LINEARIDAD DEL METODO.- Se determinó mediante el análisis de placebos cargados, cada uno en forma independiente; a tres diferentes concentraciones incluyendo el 100% y llevando a cabo los análisis por triplicado.

Criterio de aceptación :

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada

$$m \approx 1, b \approx 0, r^2 > 0.98$$

El I.C. Porcentaje recuperado para la media debe localizarse el 100%.

El C.V. < 3 %

CONCENTRACION mcg/ml	% RECUPERADO		
80	78.79 %	80.80 %	80.42 %
100	100.00 %	101.14 %	99.71 %
115	116.30 %	113.87 %	111.34 %

$$m = 0.9920, b = 0.66, r = 0.9995$$

En referencia a 100 %.

80 % -	98.49 %	101.01 %	99.92 %
100 % -	100.00 %	101.14 %	99.71 %
115 % -	99.02 %	102.87 %	96.82 %

El I.C. es de 96.55% a 101.27%.

El C.V. es de 1.7290%

Al cumplir los criterios, se concluye que el método es lineal.

EXACTITUD AL 100 %.- Se analizaron seis placebos cargados con el 100% de principio activo, cada uno en forma independiente.

Criterio de aceptación.-

I.C. para la media, debe incluir el 100 % .

C.V.  $\leq$  3 %

ABSORBANCIA	% RECUPERADO
0.338	102.11 %
0.343	105.62 %
0.331	100.00 %
0.327	98.79 %
0.324	97.88 %
0.336	101.51 %

I.C. = 99.79 % a 101.50 %

C.V. = 2.1422 %

Por lo que cumple los requisitos, por lo tanto el método es exacto.

PRECISION (Reproducibilidad) .- Se llevó a cabo por dos analistas en dos días diferentes, analizando una misma muestra homogénea por triplicado.

Criterio de aceptación:

C.V.  $\leq$  3 %

	DIA 1	DIA 2
	99.58 %	99.43 %
ANALISTA 1	100.13 %	99.15 %
	98.76 %	95.77 %
	99.69 %	96.34 %
ANALISTA 2	101.54 %	96.62 %
	99.69 %	101.68 %

C.V. = 1.9165 %

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

	FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	Fcal	Ftab
ANALISTA	1	0.62	0.62	1.58	161.4
DIA	1	9.01	9.01	23.10	161.4
INTERACCION					
AD	1	0.39	0.39	0.10	5.32
ERROR	8	29.6	3.7	----	----

De acuerdo a los resultados obtenidos el método es adecuado para ser utilizado en los estudios de estabilidad de tabletas de metoprolol.

# DISCUSSION

## DISCUSION

En este estudio de reformulacion, el problema mas importante a resolver fue la adherencia del granulado a los punzones. Debido a que el principio activo es higroscopico, al utilizar agua en la solucion o suspension granulante, este problema aumentaba considerablemente por lo que habia que llevar a cabo pruebas para cambiar el disolvente en el que se disuelve el aglutinante.

El mejor resultado se obtuvo con una solucion de pladone h. 90 en alcohol granulando unicamente el principio activo para poder recubrirlo y evitar el problema de adherencia, sin embargo, lo que habia funcionado adecuadamente en lotes pequeños no tuvo los mismos resultados en lotes mayores utilizando el equipo de produccion debido a que el calor que genera la maquina rotativa despues de un tiempo de estar funcionando, ocasiona que se vuelva a presentar el mismo problema.

Una posibilidad para tratar de evitar esta adherencia era el obtener un mejor recubrimiento del farmaco utilizando para esto una mayor cantidad del aglutinante y una parte de la lactosa junto con una porcion del desintegrante para evitar problemas de desintegracion. Esto dio excelentes resultados en lotes pequeños y en lotes utilizando el equipo de produccion con lo que se evito el problema de adherencia y con esto otros problemas secundarios como reprocesos, reanálisis, cambios en la formulacion, tiempos perdidos en produccion, costos excesivos y deterioro del equipo.

El metodo analítico desarrollado con fines de control de calidad del producto es mas sencillo y rápido que el se utilizaba por medio de extracciones. En este metodo solo se disuelve la muestra, se filtra y se lee al espectrofotometro, por lo que resulta mas rapido, cómodo y económico. Para demostrar que los excipientes no presentan interferencia alguna en el analisis se aplico el metodo propuesto a un placebo de la formulacion para comprobar que no existen interferencias a la misma longitud de onda en que se lee el principio activo, al comprobar que no existen interferencias se demuestra que el metodo es útil para la cuantificacion de tartrato de metoprolol para la nueva formulacion.

Para el desarrollo de un método indicador de estabilidad el problema era mayor, ya que se debia desarrollar una técnica capaz de separar al tartrato de metoprolol de sus productos

de degradación para la posterior cuantificación del principio activo. Para estar seguros que el tartrato de metoprolol y sus productos de degradación eran separados en este método se sometió al principio activo a diferentes condiciones de degradación, estas condiciones también fueron sometidos placebo y producto terminado; las muestras ya degradadas se sometieron al método analítico desarrollado. Apoyados con estándares, corridos al U. V. y valores de R<sup>2</sup> se comprobó que el método es capaz de separar tartrato de metoprolol de sus productos de degradación y permite la cuantificación del principio activo.

La formulación propuesta se sometió a un estudio de estabilidad y de acuerdo a los datos obtenidos, la nueva fórmula es cuando menos tan estable como la anterior, ya que no ha presentado ninguna alteración después de 7 meses a temperatura ambiente, 37°, 45° y 60°C.

# CONCLUSION

## CONCLUSION

Con el desarrollo de la nueva formulacion se eliminan los problemas de adherencia a los punzones con esto se logra un gran ahorro de tiempo y costos ya que se evitan los reprocesos, y al mismo tiempo permite cumplir con el programa de produccion.

La disminucion en la cantidad de excipientes con la nueva formulacion es de 100 mg por tableta, lo que significa un gran ahorro en el costo del lote de fabricacion, ademas de manejar mas facilmente el lote por ser mas pequeno o la posibilidad de fabricar lotes mas grandes. El problema de desgaste de tableteadora y punzones se reduce por lo que el mantenimiento de las tableteadoras es menor con la formulacion nueva, ya que si no funcionan y si no pesarse el granulado a los punzones no se dañan tanto.

El metodo analitico desarrollado para fines de control de calidad es mas sencillo, rapido y economico que el anterior, ya que evita el tiempo de agitacion, el manejo de los embudos de separacion, el cloroformo que se utiliza en las extracciones y ademas los resultados de linealidad, precision, exactitud, reproducibilidad muestran que el metodo es adecuado.

Al desarrollar un metodo indicador de estabilidad que puede llevarse a cabo en el laboratorio se evita la necesidad de mandar los analisis a un laboratorio de tercera con el consecuente ahorro economico y de tiempo y por los resultados obtenidos de la validacion del metodo se demuestra que es útil para cuantificacion de tartrato de metoprolol en presencia de sus productos de degradacion.

En resumen los resultados de este trabajo proporcionan ahorro economico, de tiempo, reactivos y excipientes, con lo que se cumple con los objetivos que se trazaron y resuelve los problemas que presentaba tanto la formulacion como el metodo analitico del producto.

# BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Hiaus Fiorey.  
Analytical Profiles Drug Substances.  
Academic Press inc.  
Vol 12. Pag 325 - 350.
- 2.- USP XIII National Formulary XVII 1969  
Pag 887 - 889.
- 3.- The Merck Index. Tenth edition. 1963 Merck.  
Inc USA. Pag 881.
- 4.- Manuel Litter.  
Farmacologia.  
Quinta edicion.  
Editorial Ateneo.  
Pag 544 - 549
- 5.- Goodman y Gilman.  
Bases Farmacologicas de la terapeutica.  
Sexta edicion.  
Editorial Interamericana.  
Pag 200 - 207.
- 6.- Bowman y Rand.  
Farmacologia. Bases Bioquimicas y Patologicas.  
Aplicaciones Clinicas.  
Segunda edicion.  
Editorial Interamericana.  
Pag 11.39 - 11.42.
- 7.- Validacion de Procesos Farmaceuticos.  
Asociación Farmaceutica Mexicana A.C.  
Editor Benito David Couriel. 1982.  
Pag 13 - 15.
- 8.- Validación. Un concepto para la validación económica.  
por Th Naumann.  
De Boch ringer ingrebe im Zentrale GmbH.
- 9.- Porque validar?  
R.G. Kleffer.  
Vol 25. No 07 - 1985.  
SAFYB!
- 10.- Colegio Nacional de Q.F.B. México. A.C.  
Requisitos minimos para la validacion de un método  
analítico.

- 11.- Apuntes de conferencia de:  
Preformulación y Desarrollo Farmacéutico.
- 12.- Apuntes de Desarrollo de Medicamentos.  
Q.F.B. Gabriel Guzman.
- 13.- Apuntes de Biofarmacia.  
Q.F.B. Alfredo Garçon.
- 14.- Apuntes de Desarrollo Analítico.  
Q.F.B. Norma González.
- 15.- Apuntes de Procesos Cinéticos y Estabilidad.  
Q.F.B. Fernando Abadía.
- 16.- X.A. Domínguez.  
Cromatografía en papel y capa delgada.  
Monografía No 16.  
Editorial Organización de los Estados Unidos  
Americanos.
- 17.- Justus. G. Kirchner.  
Thin layer Chromatography.  
Vol 14. Techniques of Chemistry.  
Editorial John Wiley.  
Segunda edición. Capítulo 1.
- 18.- R. Stock. C.B. Rice.  
Chromatographic Methods.  
Editorial Chapman.  
Tercera edición.  
Pag 107 - 108.
- 19.- E. Sthal.  
Thin layer chromatography a laboratory hand book.  
Editorial Springer-Verlag.  
Segunda edición 1970.
- 20.- Denney.  
A dictionary of chromatography.  
Editorial Mc Millan Co. London.  
Primera edición 1977.
- 21.- Enciclopedia de la Química Industrial.  
Tomo B. Cromatografía en Capa Fina.  
Kurt Randerath.  
Ediciones Urmo.  
Pag 1 - 92.

Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceutical  
Body Fluids and Morten Material.  
Segunda edición. The Pharmaceutical Society of Great  
Britain.  
Pag 779 - 780.

- 23.- Handbook of Pharmaceutical EXCIPIENTS.  
American Pharmaceutical Association.  
James C. Boylan.  
Jack Cooper.  
Zak T. Chowhan.