

25  
201



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

## DESARROLLO Y VALIDACION DE TECNICAS ANALITICAS PARA EL CONTROL DE CALIDAD DE BUFLOMEDIL - HCL UN VASODILATADOR PERIFERICO

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**  
P R E S E N T A :  
PABLO ISLAS JIMENEZ

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

DIRECTORA DE TESIS,  
Q.F.B. ELIZABETH TORIZ GARCIA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1990



Universidad Nacional  
Autónoma de México

UNAM



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

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

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

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

## I N D I C E

	PAG.
- INDICE DE GRAFICAS, FIGURAS Y TABLAS	
I.- INTRODUCCION . . . . .	1
II.- OBJETIVOS . . . . .	5
III.- GENERALIDADES. . . . .	7
IV.- MATERIALES Y METODOS . . . . .	20
V.- RESULTADOS . . . . .	27
VI.- DISCUSION . . . . .	63
VII.- CONCLUSIONES . . . . .	67
- APENDICES . . . . .	
VIII.- BIBLIOGRAFIA . . . . .	71

## PARAMETROS DE VALIDACION

### ESPECIFICIDAD.

- Tabla No. 2 Método de U.V. pág. 43.  
Figura No. 9 Método de U.V. pág. 42.  
Tabla No. 3 Método de HPLC pág. 43.  
Figura No. 7 y 8 Método de HPLC pág. 40,41.

### LINEARIDAD.

- Tabla No. 4 Método de HPLC (STD) pág. 44.  
Tabla No. 5 Método de HPLC (muestra) pág. 45.  
Gráfica No. 1 Método de HPLC (STD) pág. 44  
Gráfica No. 2 Método de HPLC (Muestra) pág. 45.  
Tabla No. 6,7,8,9 Método de U.V. (STD y Muestra) pág. 46,47,  
48, 49.  
Gráfica No. 3,4,5,6 Método de U.V. (STD y Muestra) pág. 46, -  
47, 48, 49.

### EXACTITUD, PRECISION.

#### Estudio Comparativo

- (Métodos; U.V./MeOH; HPLC; TNA; U.V./H<sub>2</sub>O)  
Tabla No. 10,11,12,13 (para el STD) pág. 50, 51.  
Tabla No. 14,15,16,17 (para la Muestra) pág. 52, 53  
Tabla NO. 18 Método de U.V. (Muestra) pág. 54  
(otro analista)

## INDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRAFICAS

- Tabla No. 1. Estandarización de Clorhidrato de Buflomedil:  
pág. 33. Lote 1,2,3,4,5,6,8,9, de Clorhidrato  
de Buflomedil como materia prima.  
Clorhidrato de Buflomedil en forma purificada.  
Clorhidrato de Buflomedil estándar de referencia.  
Formulación (tabletas) Clorhidrato de Buflomedil:  
Formulación (1,2,3).
- Figura No. 1. Espectro de infrarrojo del estándar de Clorhidrato  
de Buflomedil. Pág. 34.
- Figura No. 2. Espectro de infrarrojo de la muestra estándar de:  
Clorhidrato de Buflomedil. Pág. 35.
- Figura No. 3. Espectro de absorción Ultravioleta del estándar  
de Clorhidrato de Buflomedil y materia prima de  
Clorhidrato de Buflomedil. Pág. 36.
- Figura No. 4. Cromatograma de líquidos de Clorhidrato de Buflomedi  
y No. 5. medil Estándar y materia prima (purificado).  
Pág. 37,38.
- Figura No. 6. Cromatografía de capa fina (CCF):  
Clorhidrato de Buflomedil; Estándar, Purificado,  
Lote 1,2,3,4,5,6,8,9. Pág. 39.

Tabla No. 19 Tabla Comparativa (Técnicas) pág. 55.

#### LIMITE DE DETECCION

Tabla No. 20, 25 Método de U.V. (STD) pág. 57, 61

Gráfica No. 7,9 Método de U.V. (STD) pág. 57, 61

Tabla No. 21, 26 Método de HPLC (Muestra) pág. 58, 62

Gráfica No. 8, 10 Método de HPLC (Muestra) pág. 58, 62

#### REPRODUCIBILIDAD

Tabla No. 22 Método de U.V. (Analista II) pág. 59

Tabla No. 23 Método de HPLC (Analista II) pág. 59

#### ESTABILIDAD

Tabla No. 24 Método de U.V. (1o. y 2o. día) pág. 60

Tabla No. 25 Método de HPLC (1o. y 2o. día) pág. 60

## INTRODUCCION

Clorhidrato de buflomedil es un fármaco con propiedades vaso-activas Periféricas. (1)

Mejora la microcirculación en las extremidades cuando ésta se encuentra disminuida e incrementa el flujo sanguíneo ce rebral en pacientes con enfermedad cerebrovascular. (1)

El mecanismo de acción no es bien conocido, pero se ha demostrado que actúa a nivel de alfa-adrenoreceptores.

De manera que se ha concluido que clorhidrato de Buflo-medil compite reversiblemente con los compuestos que bloquean los sitios alfa-adrenoreceptores, posee una actividad antinicotínica. (2,6)

En algunas publicaciones de manera experimental se ha reportado un método cromatográfico por HPLC, para el análisis de Clorhidrato de Buflomedil, en formulaciones farmacéuticas y en muestra de suero de conejo y ratón. (4,5)

Sin embargo oficialmente en ninguna farmacopea (USP) se encuentra publicado algún método para el análisis de esta sustancia.

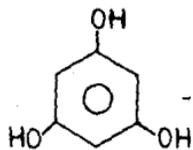
En el presente trabajo se propone una técnica analítica rápida y sencilla, por espectroscopia de Ultravioleta, así como la modificación a la técnica de HPLC mencionada arriba.

Dichas técnicas servirán para el análisis de Clorhidrato de Buflomedil, tanto en materia prima (Rx, crudo) como en forma farmacéutica (tabletas).

Además se han determinado experimentalmente algunas -- propiedades fisicoquímicas del compuesto que no se encuentran reportadas en los libros oficiales y que son de suma importancia para el desarrollo de los métodos propuestos.

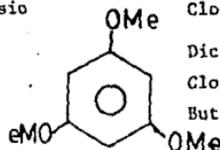
También se han validado los métodos mencionados mediante la consideración de parámetros estadísticos que nos indican la: exactitud, precisión, especificidad, especificidad, reproducibilidad, límites de detección y linealidad, de estos métodos.

El Clorhidrato de Buflomedil se obtiene en el laboratorio mediante la síntesis química que se esquematiza a continuación. Ver pág. siguiente.



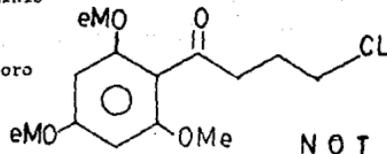
1,3,5 TRIHIDROXY-  
BENCENO

sulfato de dimetilo  
carbonato de potasio  
acetona



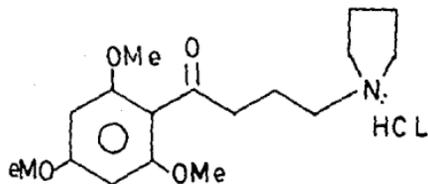
1,3,5 TRIMETOXY-  
BENCENO

Cloruro de aluminio  
Dicloro Metano  
Cloruro de 4-Cloro  
Butirilo



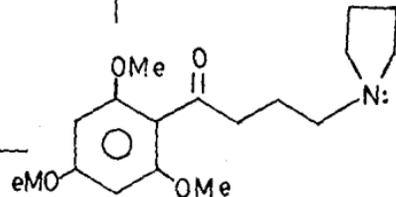
NOT

pirrolidina  
tolueno



BUFLOMEDIL-HCL

HCL



BUFLOMEDIL-BASE

## OBJETIVOS

Establecer los parámetros necesarios para desarrollar dos métodos analíticos: Espectroscopía de ultravioleta y cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) que servirán para evaluar clorhidrato de buflomedil.

Realizar la validación de estos métodos analíticos medante la determinación de los parámetros estadísticos adecudos.

## **GENERALIDADES**

## 1.- PROPIEDADES DEL PRINCIPIO ACTIVO.

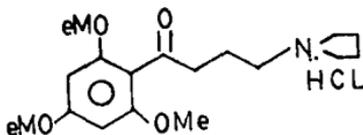
El Clorhidrato de Buflomedil es una droga cardiovascular que se emplea en formulaciones farmacéuticas y cuyas propiedades fisicoquímicas son las siguientes:

## a).- Propiedades fisicoquímicas:

Nombre: Clorhidrato de Buflomedil: 2,4,6-Trimethoxy-4 (pirrolidiny) butyrofenona clorhidrato.

Fórmula condensada:  $C_{17}H_{25}NO_4 \cdot HCl = 343.85$

Fórmula Desarrollada:



Aspecto: Polvo cristalino blanco o ligeramente cremoso, inodoro.

pf: 192-193°C (MERCK INDEX).

## b).- Farmacología y uso terapéutico:

El Clorhidrato de Buflomedil es un agente vasoactivo, el cual incrementa la perfusión vascular de la microcirculación, tiene efectos inhibitorios sobre la agregación plaquetaria, y aumenta la deformabilidad de los eritrocitos con una anormal fluidez en la membrana, terapéuticamente es administrado por ambas vías oral e intravenosa: la dosis intravenosa - -

es de 50-200 mg. al día, por otra parte la dosis oral recomendada es de 150-450 mg. al día (3,7).

El Buflomedil administrado en forma intravenosa y oral; se absorbe y es metabolizado principalmente a nivel hepático y excretado en la orina; alcanza su nivel terapéutico adecuado durante las 2-4 primeras horas. (2,3)

Por vía oral se ha encontrado un 72% de absorción; por vía intravenosa un 76% de absorción, el principal metabolito excretado es el para-monodesmetilbuflomedil (3). Se ha encontrado también que por administración oral se elimina un 23.6% de droga no metabolizada. La concentración de Buflomedil en plasma de aproximadamente  $6-9 \times 10^{-6}$  M, se mantiene durante -- 2-4 horas después de una administración oral de 450 mg, aumentando el flujo sanguíneo periférico. (2,3)

Numerosos estudios han sido realizados, se ha encontrado aplicación clínica en desórdenes de alteraciones periféricas y cerebrales. Se aplica en insuficiencia cerebrovascular, enfermedad de Raynads, entre otras. (7)

El Buflomedil inyectado intradérmicamente posee efectos anestésicos locales.

Los ensayos de seguridad y eficacia siguen siendo estudiados. (7)

## 2. CONCEPTOS BASICOS:

### a) Cromatografía en capa fina (CCF):

Los métodos utilizados para detectar y estimar impurezas de fármacos son de vital importancia en el laboratorio de la Industria Químico Farmacéutica, particularmente se menciona la cromatografía en capa fina (CCF) como una técnica que puede permitir obtener la información requerida acerca de las impurezas de sus productos.

Alrededor de los años 60's los toxicólogos implementaron la CCF como una técnica de sensibilidad mayor que la cromatografía en papel (CP) y a través de los subsecuentes 24 años se ha venido reconociendo su valor.

En la actualidad comercialmente se encuentran disponibles cromatofolios de silicagel (20 X 20 cm.), que es muy cómodo usar. Se coloca la muestra en cantidades adecuadas (.05-50 mg.) se selecciona un eluyente adecuado para la muestra; es básica la medición del Rf.

La CCF tiene varias ventajas de importancia con res--

pecto a la CP por ejemplo: Las separaciones suelen ser mejores y las manchas difunden menos.

El proceso es relativamente rápido, cuando terminan -- las separaciones, la mayoría de los casos los componentes individuales se encuentran en manchas visibles, utilizando lámparas de ultravioleta onda corta y larga. Pueden revelarse con reactivos universales: Vapores de yodo, permanganato, etc. - De tal manera que la CCF es una técnica de gran sensibilidad y rapidez.

b). Espectroscopia de ultravioleta (UV) e infrarrojo (IR).

Con respecto a los métodos espectrofotométricos, estos también representan una herramienta básica en la identificación y cuantificación de diversos productos, los métodos más utilizados son UV e IR.

Todos los átomos, moléculas pueden o son capaces de absorber energía de acuerdo con ciertas limitaciones, las cuales dependen de la estructura de la sustancia; la energía se puede proporcionar en forma de radiación electromagnética. El tipo y cantidad de radiación absorbida por una molécula guarda relación con la estructura de ésta; la cantidad de radiación absorbida está sujeta asimismo al número de moléculas que interactúan con la radiación electromagnética.

Los cambios en una molécula asociados por absorción de luz pueden ser electrónicos, vibracionales, y rotacionales.

Las transiciones electrónicas son ocasionadas por absorción de luz visible y ultravioleta, en tanto que los cambios rotacionales y vibracionales son ocasionados por absorción de radiación infrarroja o de longitud de onda mayor.

Para hacer determinaciones espectrométricas analíticas se selecciona la longitud de onda máxima a la cual absorbe dicha radiación, y se determina la absorptividad molar en esta longitud de onda máxima.

La sensibilidad máxima se alcanza trabajando en el máximo de la banda de dicho compuesto, las variaciones de la absorbancia para pequeños cambios de  $\lambda$  es mínima en el máximo de la banda. Una vez seleccionada la  $\lambda$  máxima y determinada la absorptividad molar es fácil hacer el análisis del compuesto siempre que las concentraciones estimadas estén dentro del intervalo por la ley de Beer. (24)

La concentración de la muestra debe estar ajustada para que se efectúen mediciones espectrofotométricas dentro del intervalo de absorbancia de 0.2-0.8 donde existe menor margen de error. (24)

La radiación de ultravioleta abarca el intervalo espectral desde 10-380 nm, pero la región que se emplea en este tipo de análisis es de 200-380 nm. La principal aplicación de UV es la determinación de compuestos aromáticos (compuestos que tienen benceno u otro anillo aromático) y de compuestos que tienen dobles ligaduras conjugadas.

Por otro lado la espectroscopía por infrarrojo produce variaciones en el movimiento vibracional de una molécula química, estas vibraciones son de dos tipos: elongaciones y flexiones. La radiación infrarroja abarca el intervalo espectral de .75-300 micrómetros pero el que se emplea más comúnmente para el análisis es de 2.5-25 micrómetros.

La espectroscopía de IR es muy valiosa para determinar cualitativamente los compuestos orgánicos y para deducir la estructura de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos.

c).- Cromatografía de líquidos de alta resolución  
(HPLC):

La cromatografía se define como un proceso en el cual los solutos son separados por un proceso dinámico de migración diferencial en un sistema que consiste de dos o más fases, una de las cuales está en movimiento continuo en una dirección dada y en la que las sustancias individuales exhiben diferente -

movilidad por razón de diferencias de adsorción, partición, -- solubilidad, presión de vapor, tamaño molecular, densidad de carga iónica. Las sustancias individuales obtenidas de ese -- modo pueden ser identificadas o determinadas por métodos ana-- líticos.

La técnica cromatográfica en general, requiere que un soluto se distribuya entre dos fases, una de ellas fija (fase estacionaria) y la otra móvil. La fase móvil debe ser tal -- que transfiera el soluto a través del medio hasta que even- - tualmente emerja separado de otros solutos que son eluidos - antes o después que él (16).

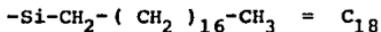
Los tipos de cromatografía usados en análisis cualitativo y cuantitativos son: por columna (C.C); gas; papel; capa delgada y cromatografía de líquidos a presión, comúnmente llamada cromatografía líquida a alta presión o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

El desarrollo de la HPLC se debe a los avances en la tecnología de columna, sistemas de bombeo de alta presión y detectores sensitivos.

Normalmente en cualquier tipo de columna existe algún mecanismo de separación, suele resultar difícil determinar el mecanismo exacto en cada caso concreto. Sin embargo, las condi

sideraciones mecanísticas no deben impedir la selección de un sistema de separación basado en una consideración lfgica de - las propiedades de la muestra, puesto que se trata de lograr la separación, no de determinar el mecanismo.

Los rellenos de fase enlazada en cromatografía de fase inversa (en la cual la fase estacionaria es menos polar - que la fase móvil) resultan muy útiles con muestras insolu -- bles o moderadamente solubles en agua, por ejemplo: hidrocarburos aromáticos, aceites, esteroides, polímeros, plásticos, alcaloides, y otros compuestos de elevado peso molecular. Es te tipo de rellenos son aquellos en donde la fase estaciona - ría está permanente unida al soporte por medio de enlaces quí micos, las columnas de fase enlazada de ODS (octadecilsili -- cio) son probablemente las de mayor uso en la actualidad. (22)



Anexando a esta diversidad de métodos podemos mencio - nar que para complementar el análisis de una muestra, para es tablecer sus caracterfsticas de pureza se pueden determinar - algunas propiedades físicas o químicas tales como: su punto - de fusión; el cual es muy importante y representativo para - muestras puras o para el grado pureza; la solubilidad, pH, -- contenido de humedad.

Otro método muy importante para determinar la pureza de un compuesto y que está en función de un determinado grupo funcional es la titulación en medio no acuoso (TNA).

d). Parámetros de Validación:

Anteriormente en México, algunos fabricantes de medicamentos analizaban sus productos con métodos poco confiables, ya que no había autoridad que legislara al respecto; en la actualidad existen instituciones que obligan a los fabricantes a utilizar métodos farmacopeicos (Farmacopea Nacional, U.S.P. V.P., etc.) o si se utilizan métodos analíticos alternativos se deben presentar estudios que garanticen la confiabilidad de ellos, lo que se conoce como estudios de validación.

Validación y validar se ha convertido hoy en una expresión común en nuestro lenguaje técnico, pues validar significa "dar fuerza o firmeza a una cosa". (14) La validación es pues un reto actual para la industria farmacéutica. Según la Food and Drug Administration (FDA), validar consiste en reunir un conjunto de datos suficientes que permiten asegurar con una confianza razonable que el proceso o método estudiado realiza

y/o realizará aquello que tiene como fin o aquello para lo que está destinado por medio de una evidencia documentada y comprobar con esto que el proceso se desarrollará tal como se ha previsto. (14, 21, 15)

La validación de los métodos analíticos tiene como meta el verificar determinados parámetros para poder evaluar su influencia sobre el resultado analítico. (21)

Existen muchas formas de validar un método analítico, que dependen de las necesidades de cada laboratorio, de la -- aplicación que tenga el método, de los requerimientos gubernamentales y algunas veces del criterio de la persona que la realiza.

Para la validación del método se tomarán en cuenta los siguientes parámetros:

**ESPECIFICIDAD.-** Describe hasta que grado la señal de la sustancia a determinar puede ser interferida, alterada o -- influida por señales de otras sustancias que pueden estar presentes en el material a ser analizado.

**LINEARIDAD.-** Es la interrelación funcional entre la señal y la concentración de la sustancia a evaluar, o bien una medida a la cual la curva de calibración analítica se apro

xima a una línea recta y que puede describirse con la fórmula  $y = ax + b$ . (13)

**LIMITE DE DETECCION.-** Indica la concentración mínima - que puede determinarse cuantitativamente y que se distingue en forma significativa de la concentración "cero" con un grado de confianza determinado. Utilizando las mismas condiciones de operación establecidas, se debe controlar el nivel de señal- - ruido para no confundir la señal ocasionada por la sustancia - con alguna señal originada por el detector (como regla, se recomienda que la señal sea 4 veces el tamaño del ruido).

**EXACTITUD.-** Describe el grado de concordancia entre -- los datos analíticos determinados y el valor real, o bien el - valor de un estándar reconocido. Como medida para la exacti - tud, se toma el error sistemático, éste es el grado de concor - dancia de la medida de los resultados con un nivel de referen - cia aceptado. (13)

**PRECISION.-** Es la característica de un procedimiento - para obtener en aplicaciones repetitivas resultados que presen - tan una dispersión típica; se expresa como la desviación estándar relativa. (13)

**REPETIBILIDAD.-** Es la precisión de un método expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones inde--

pendientes realizadas por un solo analista usando los mismos aparatos y técnicas.

**REPRODUCIBILIDAD.**- Es la precisión de un método expresado como la concordancia "accesible" entre determinaciones - llevadas a cabo por diferentes analistas, en diferentes días o bien diferentes laboratorios, utilizando diferentes equipos.  
(15).

## MATERIALES Y METODOS

## 1.- APARATOS:

- Cromatógrafo de líquidos Perkin-Elmer LCI 100.
- Detector LC85B Espectrofotometro.
- Liquid Chromatografic serie 10.
- Columna cromatográfica. Microbondapak C<sub>18</sub> (30 X 0.4 cm) 10 micrómetros.
- Equipo para filtración de solventes. Millipore.
- Filtros tipo HA. 45 micrómetros. Millipore.
- Espectro Fotometro Beckman DU 70 con impresor y monitor.
- Balanza analítica Mettler AE 160.
- Balanza analítica Galaxy 160 D OHAUS.
- Aparato de Ultrasonido, Mettler; Modelo CAVITATOR.
- Equipo para punto de fusión, Mettler FP 800 y FP 81.
- Termobalanza Mettler.
- Espectrofotometro Perkin-Elmer modelo 55E visible-ultravioleta.
- Espectrofotometro infrared Perkin-Elmer modelo 1320.
- Aparato de Karl-Fischer Automático Mettler.
- Material de vidrio borosilicatado de uso general.

## 2.- ESTANDARES, MUESTRAS Y REACTIVOS:

- Estándar de referencia, QUIMSI, S.A. de C.V.  
Buflomedil-Chorhidrato.
- Materia prima QUIMSI, S.A. de C.V. Buflomedil-Clorhidrato.  
L 1,2,3,4,5,6,8,9.

- Tabletas de Buflomedil Clorhidrato 150 mg (Loftyl, ABBOTT Lab. Lote 81003 mc.)
- Trimetoxibenceno Estándar interno lote L 552307.  
Grupo Roussel, S.A. de C.V.
- Lauril Sulfato de Sodio (MERCK).
- Metanol Absoluto, grado reactivo (MERCK).
- Acido acético, grado reactivo (MERCK).
- Agua destilada. Destilador grupo Roussel, S.A. de C.V.
- Isopropanol RA (MERCK).
- Anhídrido Acético RA (MERCK).
- Cromatofolios de sílica gel 254 nm (MERCK).

### 3.- METODOS

3a). Punto de fusión:

Melting Range. Temperature Clase Ia. (16)

3b). Solubilidad: Procedimiento según la U.S.P. XXI. (16)

3c). Determinación de pH. Procedimiento según la U.S.P XXI. (16)

3d). Cromatografía en capa fina (CCF).

Procedimiento de CCF (16):

Sistema de fase móvil: Metanol-Agua-Acido acético (6:4:.05). (4)

Cromatofolios de sílica gel 10 X 10 cm.

Muestra: Se pesan 100 mg. de la muestra y se disuelven en 2 ml. de metanol.

Tiempo de elución: 30-45 min.

Revelado: Lámpara de ultravioleta onda corta y larga; vapores de yodo.

NOTA: Usar una cámara de saturación de vidrio evitando fugas de vapores del sistema de solventes, dejar saturar 10 min. antes de correr la CCF.

3e). Titulación en medio no acuoso (TNA).

Procedimiento según la U.S.P. XXI (16).

3f). Espectroscopia de Ultravioleta:

Curva Estándar: Se pesan exactamente 100 mg. de Buflo medil-HCL (STD), y se lleva a 100 ml. con metanol, de esta solución se toman alícuotas de 1 ml, 2 ml, 4 ml, 5 ml, y se llevan a un aforo de 100 ml con metanol; obteniéndose concentraciones de: .01 mg/ml; .02 mg/ml; .04 mg/ml; .05 mg/ml, respectivamente.

FORMA FARMACEUTICA: Se pulverizan y trituran el contenido de 10 a 20 tabletas y se toma el peso o la cantidad equivalente a 100 mg. o 150 mg. de principio activo; se disuelve en metanol y se lleva a un aforo de 100 ml. con meta -

nol, de esta solución se toma una alícuota de 4 ml y se lleva a un aforo de 100 ml con metanol.

Las soluciones se pueden leer espectroscópicamente a la longitud de onda de 275 nm, utilizando una celda de cuarzo de 10 mm. (4)

### 3g). Método de HPLC.

Fase móvil: 0.005 M Lauril Sulfato en Metanol-Agua-Acido-acético (60-40-5).

Condiciones: (Tanto para el std como para la mta).

- Detector: UV 275 nm.
- 100 microlitros
- Flujo: 1.5 ml/min.
- Sensibilidad: 0.2 aufs.
- Atenuación: 64
- Velocidad de la carta: 5 nm/min.
- Columna: C<sub>18</sub>, 10 micrómetros, 30 cm X 4.0 mm. Microbondapak.

Curva Estándar: Pesar exactamente 125 mg. de Buflomedil HCL Estándar se aforan a 250 ml con metanol, se toman alícuotas de 20 ml, 30 ml, 40 ml, y se afora a 100 ml en metanol, obteniendo concentraciones de .1 mg/ml; 0.15 mg/ml; 0.2 mg/ml, respectivamente.

Muestra Problema: Se pulverizan 10 tabletas se pesa - la cantidad equivalente a 150 mg de Buflomedil-HCL, se afora a 100 ml con metanol, se toma una alícuota de 10 ml y se lleva a un aforo de 100 ml con metanol.

Para buflomedil-HCL como mat. prima se pesa de 100- - 150 mg. de muestra y se sigue el procedimiento mencionado.

ESTANDAR interno: se pesan 1.34 g. de TRIMETOXIBENCE- NO y se afora a 100 ml con metanol. Se adicionan 5 ml del es tándar interno a cada dilución de la Curva Estándar y la Dilu ción Problema. Se realiza la adición antes del aforo de ca- da una de las diluciones.

### 3h). Espectroscopía de Infrarrojo:

#### PROCEDIMIENTO:

En un mortero de ágata, se colocan 100 mg de KBr (an - hidro) se adicionan 3 mg de la muestra (BUFLAMEDIL-HCL) se pro cede a mezclar y homogenizar por unos minutos, se coloca la -- muestra en una matriz de acero inoxidable para pastillas; esta pastilla se presiona de 2 a 3 min. en una prensa de 12 tonela- das/m<sup>2</sup>, la pastilla resultante es un círculo de media pulgada de diámetro que se coloca directamente en el rayo infrarrojo.

**Condiciones Prueba:**

-Sensibilidad 77

-Abertura 55

-Tiempo de barrido 12 min

-Barrido 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 600  $\text{cm}^{-1}$

## RESULTADOS

1.- PROPIEDADES FISICOQUIMICAS OBTENIDAS EXPERIMENTALMENTE  
EN EL PRESENTE TRABAJO, PARA BUFLOMEDIL-HCL.

- 1.a).- Punto de fusión: 192-195°C.
- 1.b).- Solubilidad: Muy soluble en metanol, ácido acético, y agua.  
Poco soluble en isopropanol, Anhídrido acético.
- 1.c).- Coeficiente de absortividad molar:  
 $E_{\max} = 4672$  (a 275 nm/metanol).
- 1.d).- Cromatografía en capa delgada (CCF):  
Rf de Buflomedil-HCL = 0.55
- 1.e).- Rango de pH (solución 1 g/100 ml acuosa):  
pH = 4-6.
- 1.f).- Espectro de absorción Ultravioleta:  
El espectro de absorción de una solución  $1.2 \times 10^{-4}$  M en metanol exhibe un máximo a la longitud de onda de máxima absorbancia de  $275 \text{ nm} \pm 1 \text{ nm}$ .
- 1.g).- Espectro de Infrarrojo:  
En el rango de longitud infrarrojo se observa - la exhibición de las mismas bandas de absorción del estándar de Buflomedil-HCL con las de Buflomedil Problema.

2.- LOS RESULTADOS OBTENIDOS EXPERIMENTALMENTE PARA ESTANDARIZAR BUFLOMEDIL SE RESUMEN EN LAS SIGUIENTES TABLAS, FIGURAS Y GRAFICAS.

Tabla No. 1. Estandarización de Buflomedil-HCL:

Lote 1,2,3,4,5,6,8,9 de Buflomedil-HCL como materia prima.

Buflomedil-HCL en forma purificada.

Buflomedil-HCL estándar de referencia.

Formulación (tabletas) de Buflomedil-HCL:

Formulación (1,2,3).

Figura No. 1. Espectro de infrarrojo del estándar de Buflomedil-HCL.

Figura No. 2. Espectro de infrarrojo de la muestra (purificado) de Buflomedil-HCL.

Figura No. 3. Espectro de absorción Ultravioleta del estándar de Buflomedil-HCL y materia prima de Buflomedil HCL.

Figuras No. 4. Cromatografía de líquidos de BUFLOMEDIL-HCL

y No. 5. Estándar y materia prima (purificado).

Figura No. 6. Cromatografía de capa fina (CCF):

Buflomedil-HCL; ESTANDAR, Purificado, Lote 1,2,3,4,5,6,8,9.

3.- LOS PARAMETROS DE VALIDACION SE TRABAJARON DE LA SIGUIENTE MANERA: (Para Clorhidrato de Buflomedil).

3.a). Especificidad:

3.a.1: Se utilizó como estándar interno Trimetoxibenceno en técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Para la determinación de Buflomedil-HCL, los resultados obtenidos se presentan en la figura No. 7 y 8 y en la tabla No. 3 (las concentraciones se indican en las tablas; ensayos por triplicado).

3.a.2: Para la técnica de espectroscopía de Ultravioleta; se determinó el coeficiente de absortividad de Buflomedil HCL y TRIMETOXIBENCENO. Los resultados se observan en la tabla No. 2 y figura No. 9.

3.b). Linearidad.

3.b.1: Se utilizó estándar de Buflomedil-HCL con una pureza de 99%. Así como muestra problema de Buflomedil-HCL. Se prepararon diluciones de .1: .15; .2 mg/ml; para el método de HPLC. Los resultados se observan en las tablas No. 4 y 5; en las gráficas No. 1 y 2.

3.b.2: Se utilizó estándar de Buflomedil-HCL con una pureza de 99%. Así como muestra de Buflomedil-HCL. Se prepararon diluciones de .02; .03; .04; .05 mg/ml; para el método de espectroscopía de ULTRAVIOLETA. Resultados en las tablas No. 6,7,8,9 y las gráficas -- 3,4,5,6.

3.c). Determinación de exactitud, precisión (reproducibilidad) y estudio comparativo, para los métodos analíticos de Buflomedil-HCL (las concentraciones respectivas se encuentran en cada tabla).

3.c.1: En el estándar se procedió a determinar estos parámetros; mediante las técnicas de: Espectroscopía de ultravioleta en metanol, agua. Titulación en medio no acuoso. Cromatografía de líquidos de alta resolución. Resultados en las tablas No. 10, 11, 12, 13.

3.c.2: Para la determinación de estos mismos parámetros en la materia prima y formulaciones de Buflomedil-HCL. Resultados en las tablas No. 14, 15, 16, 17.

3.c.3: En la tabla No. 18 se muestran los datos obtenidos al trabajar otro analista la técnica de UV/metanol.

3.c.4: En la tabla No. 19 se muestra el porcentaje de recuperado en todos los métodos para su mejor evaluación.

3.d). Límites de Detección.

3.d.1: Se determinó utilizando el estándar de Buflomedil-HCL. Dilución .02 mg/ml a .05 mg/ml; fueron utilizadas para la técnica de espectroscopía de ultravioleta. Resultados en la tabla No. 20 y la Gráfica No. 7.

3.d.2: Se determinó utilizando el estándar de Buflomedil-HCL. Dilución de 0.1 mg/ml a .2 mg/ml; fue utilizada para la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

Resultados en la tabla No. 21 y la Gráfica No. 8.

3.e). Reproducibilidad de los métodos de ultravioleta y HPLC: este aspecto de validación se estableció usando las concentraciones de 100 por ciento.

3.e.1: Resultados de un segundo analista (U.V.).

Tabla No. 22

3.e.2: Resultados de un segundo analista (HPLC) Tabla No. 23.

3.f.) Estabilidad. Este aspecto de validación se trabajó analizando las muestras de Buflomedil-HCL en un primer día y segundo día. (Las muestras se mantuvieron en refrigeración durante 24 horas).

3.f.1: Estabilidad para (U.V.).

Tabla No. 24.

3.f.2: Estabilidad para (HPLC).

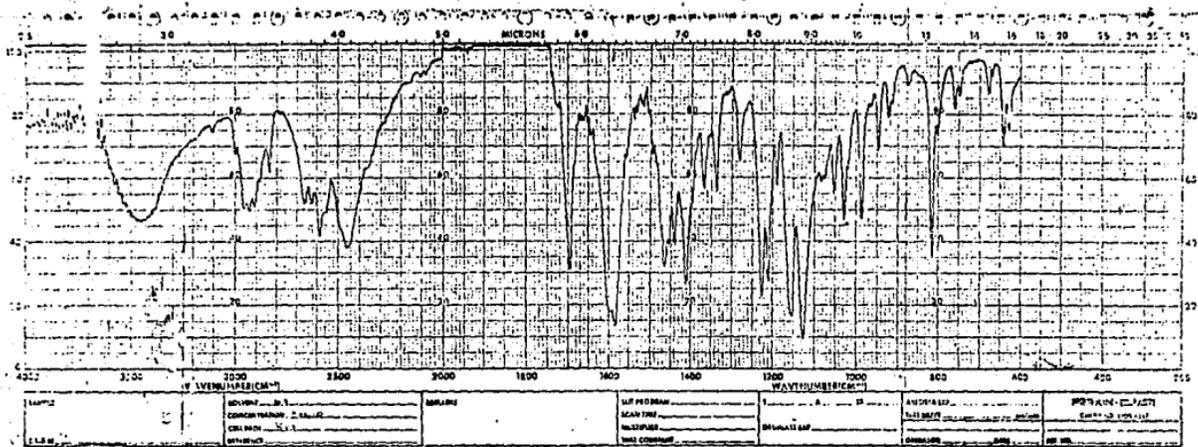
Tabla No. 25.

Tabla No. 1 Estandarización de Buflomedil-HCL

Muestra	Ensayo:	Punto de Fusión	P.S	K.F.	pH	Espectro	C.C.F	VU/MeOH	UV/H <sub>2</sub> O	T.N.A	HPLC
			%	%		I.R	r.f.M	r.f.I	%	% <sup>2</sup>	%
L-1		192.5-192.6°C	.49	.44	6.0	conf	.55	.032	96.25	-	96.87
L-2		192.1-193.0°C	.63	.44	5.5	conf	.55	.032	96.22	-	-
L-3		191.7-193.0°C	.7	.36	4.3	conf	.55	.032	95.83	-	-
L-4		192.0-192.5°C	.73	.41	6.0	conf	.55	.032	95.92	96.6	-
L-5		193.4-193.5°C	.18	.15	5.7	conf	.55	Traz	97.06	-	97.0
L-6		190.1-190.2°C	1.4	1.1	4.4	conf	.55	.032	95.62	95.8	95.8
L-8		193.5-194.2°C	0.3	.16	6.5	conf	.55	Traz	98.03	98.2	98.26
L-9		193.4-193.5°C	0.3	.21	4.2	conf	.55	Traz	97.22	97.25	97.3
Purif.		195.7-195.8°C	-	-	6.0	conf	.55	-	99.15	-	99.2
Estandar		195.6-195.8°C	-	-	-	conf	.55	-	99.0	-	99.9
F-1		-	-	-	-	conf	.55	-	-	-	-
F-2		-	-	-	-	conf	.55	-	-	-	-
F-3		-	-	-	-	conf	.55	-	-	-	101.48

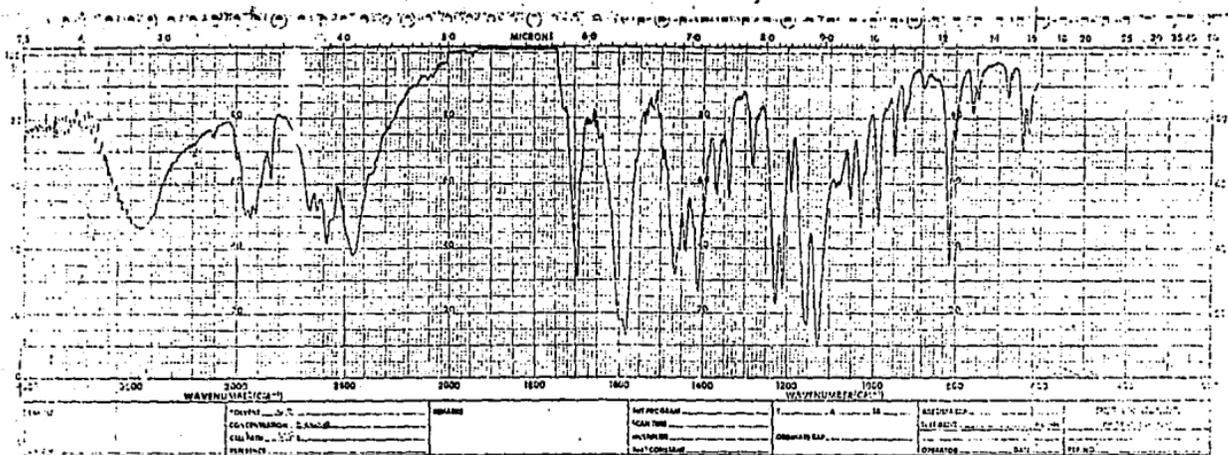
conf= conforme (similar al estandar)  
 P.S= Pérdida por secado (1.5 hrs, 60°C)  
 K.F= Karl-Fisher  
 I.R= Infrarrojo  
 C.C.F= Cromatografía en capa delgada.  
 U.V= Espectroscopia de Ultravioleta (MeOH-METANOL, H<sub>2</sub>O=agua)  
 T.N.A= Titulación en medio no Acuoso (USPCKI)  
 R.F.M= Rf de la mancha principal. R.f.I=Rf de un Impureza.  
 HPLC= Cromatografía de Líquidos de alta resolución.

FIGURA # 1



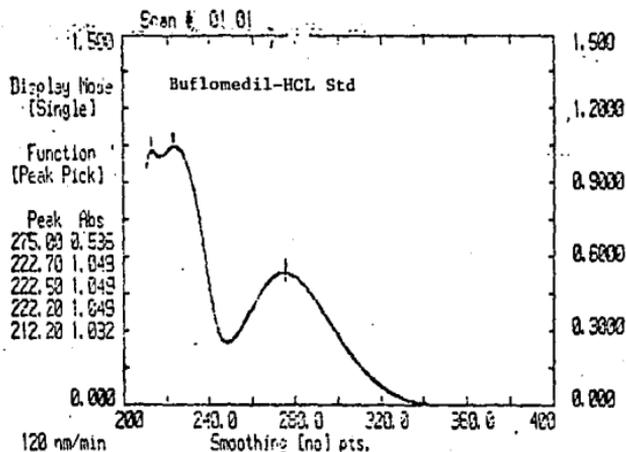
ESPECTRO DE IR DE BUPLOMEDIL-HCL (STD)

FIGURA # 2

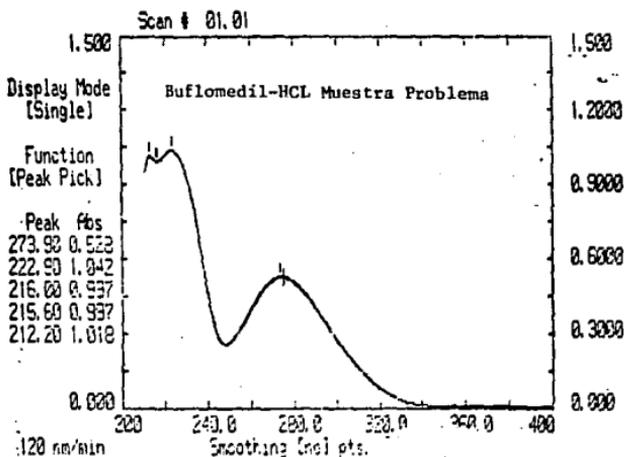


ESPECTRO DE IR DE BUFIOMEDILHEL (PURIFICADO)

FIGURA No 3

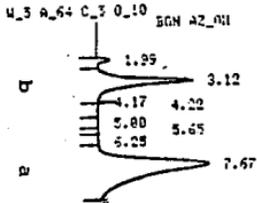


TRACE					
λ	ABS	SOURCE	DATE	λ	ABS
400.0	0.0021	Vis/UV	11/05/88	275.00	0.5364



TRACE					
λ	ABS	SOURCE	DATE	λ	ABS
400.0	0.0071	Vis/UV	11/05/88	275.00	0.5274

TIME EVENT VALUE  
 9.491 Stop Data  
 Exit Setup Calib Dir Copy Delete List  
 FILE 39 RUN 1 STARTED 23:16.7 30/07/11 STD 40 ML  
 % METHOD 5 BUIFLOMEDIL -HCL LAST EDITED 22:42.60 30/07/11



FILE 39 RUN 1 STARTED 23:16.7 30/07/11 STD 40 ML  
 % METHOD 5 BUIFLOMEDIL -HCL LAST EDITED 22:42.6 30/07/11

RT	AREA	HEIGHT	BC	AREA PERCENT	HEIGHT PERCENT
1.39	161415	11.9895	T	1.9911	5.7898
3.12	2233542	37.0700	T	27.5510	42.3377
4.17	4716	5.1957	T	0.0592	2.5264
4.22	19920	1.0295	U	0.2455	0.5246
5.03	10580	0.5711	T	0.1542	0.2777
5.09	5377	0.5427	U	0.0755	0.3125
5.25	12435	0.5227	U	0.1542	0.3028
7.67	5259077	92.5660		59.7920	47.5276

8 PEAKS > AREA REJECT 2166957 TOTAL AREA  
 3 PEAKS > HEIGHT REJECT 205.6562 TOTAL HEIGHT

KEYBOARD DIRECTED EVENTS  
 TIME EVENT VALUE  
 9.491 Stop Data

PERKIN-ELMER

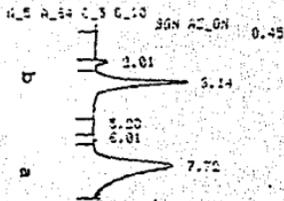
Figura No. 4.- Cromatograma del Estándar de Buiomedil HCL.  
 a.- Buiomedil-HCL (0.2 mg/ml)  
 b.- Trimetoxibenceno (estándar interno)

3.41: Data Data

Exit      Source      Calls      Dir      Copy      Delete

FILE 08    RUN :    STARTED 23:06.3    25/07/11    FPCS

METHOD 5    BUPLOMEDIL -HCL    LAST EDITED 22:42.4    25/07/11



FILE 08    RUN :    STARTED 23:06.3    25/07/11    FPCS

METHOD 5    BUPLOMEDIL -HCL    LAST EDITED 22:42.4    25/07/11

RT	AREA	HEIGHT	QC	AREA PERCENT	HEIGHT PERCENT
0.45	406.7	0.9556	U	0.6152	0.5031
2.01	11137.8	17.7199	T	0.4795	1.6828
3.14	122427.5	85.8210	T	34.3263	45.9554
5.00	2070.2	0.7199	U	0.3181	0.4223
5.01	5337	0.8224	V	0.1475	0.5553
7.72	404237	71.3554		52.1189	71.4443

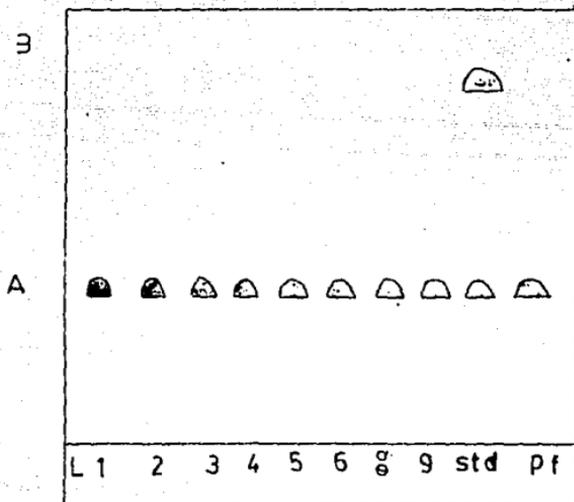
5 PEAKS > AREA REJECT      6508698    TOTAL AREA

5 PEAKS > HEIGHT REJECT    173.2174    TOTAL HEIGHT

Figura No. 5.- Cromatograma de la materia prima de  
 Buflomedil-HCL,  
 a.- Buflomedil-HCL, (0.15 mg/ml)  
 b.- Trimetoxibenceno (estandar interno)

Figura No. 6.- Cromatografía en capa delgada de Buflomedil-HCL.

C.C.F. = Estándar y Materia Prima.

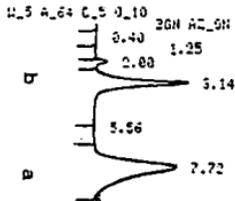


A BUFLOMEDIL-HCL Rf 0.55

B TRIMETOXIBENCENO (ESTANDAR INTERNO) Rf 0.9

NOTA: pf = purificado.

KEYBOARD DIRECTED EVENTS  
 TIME EVENT VALUE Calib Dir Copy Delete List  
 5:48 STOP  
 FILE 37 RUN 1 STARTED 22:55.2 88/07/11 STD 30 ML  
 1 METHOD 5 BUFLONEDIL -HCL LAST EDITED 22:42.6 88/07/11



FILE 37 RUN 1 STARTED 22:55.2 88/07/11 STD 30 ML  
 1 METHOD 5 BUFLONEDIL -HCL LAST EDITED 22:42.6 88/07/11

RT	AREA	HEIGHT	SC	AREA PERCENT	HEIGHT PERCENT
0.40	23410	0.5054	T	0.5402	0.3542
1.25	12723	0.6532	U	0.1361	0.2757
3.14	152072	10.7239	T	2.2675	6.2845
5.56	223145	6.5445	T	13.2514	49.3551
7.72	429560	6.6836	U	62.5767	42.1174

6 PEAKS > AREA REJECT 5763052 TOTAL AREA  
 6 PEAKS > HEIGHT REJECT 172.6103 TOTAL HEIGHT

KEYBOARD DIRECTED EVENTS  
 TIME EVENT VALUE

Figura No. 7.- Especificidad del Método de Cromatografía de Líquidos de alta resolución.  
 a.- Buflomedil-HCL (0.15 mg/ml)  
 b.- Trinitotolueno.

Generating Method 5  
Accept

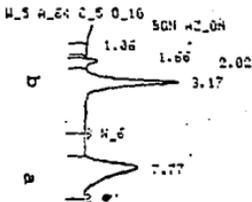
Exit Setup Calib Dir Copy Delete List

22:42.7 28/07/11 METHODE FREE SPACE 739 Blocks

NUMSER	NAME	LAST EDITED	STATUS
0	L.C. DEFAULT		
1:	EUTOX	17:21.3 28/07/11	Setup
5	BUFLOMEDIL -HCL	22:42.6 28/07/11	

Exit Setup Calib Dir Copy Delete List

FILE 36 RUN 1 STARTED 22:44.6 28/07/11 STD 20 ML  
% METHOD 5 BUFLOMEDIL -HCL LAST EDITED 22:42.6 28/07/11



PERKIN-ELMER

FILE 36 RUN 1 STARTED 22:44.6 28/07/11 STD 20 ML  
% METHOD 5 BUFLOMEDIL -HCL LAST EDITED 22:42.6 28/07/11

RT	AREA	HEIGHT	PC	AREA PERCENT	HEIGHT PERCENT
1.06	5219	0.6646	U	0.1259	0.4552
1.56	5571	0.7319	V	0.1210	0.5013
2.02	160113	10.5455	T	5.2455	7.4996
3.17	2231465	84.3276		46.2569	58.1715
7.77	2475666	48.7215		58.1275	33.3722

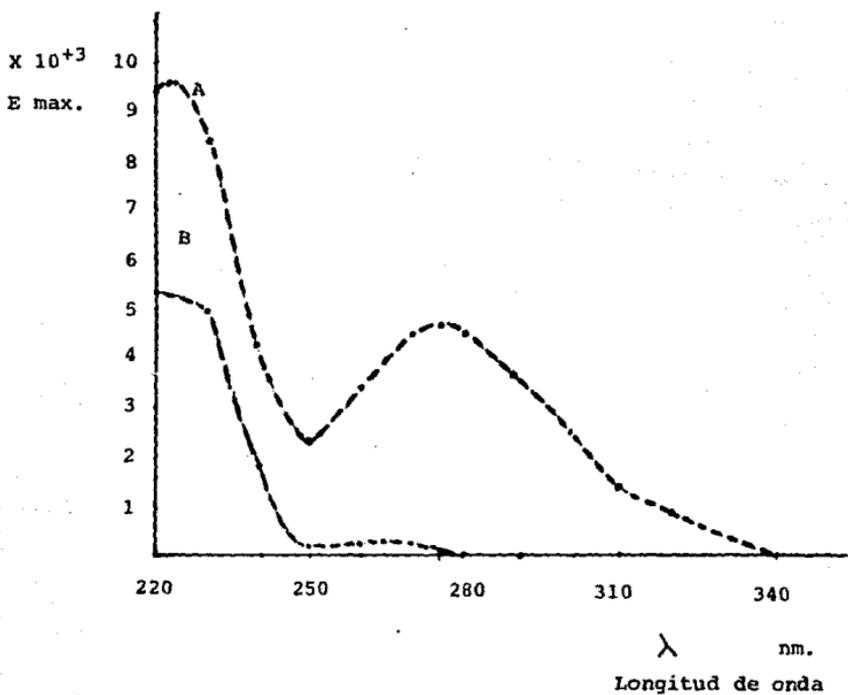
5 PEAKS > AREA REJECT 4332833 TOTAL AREA  
5 PEAKS > HEIGHT REJECT 145.5950 TOTAL HEIGHT

Figura No. 8.- Especificidad del método de Cromatografía de líquidos de alta resolución.  
a.- Buflomedil-HCL (0.1 mg/ml)  
b.- Trimetoxibenceno

Fig. No. 9 Especificidad Técnica de Ultravioleta (en metanol)

A = BUFLOMEDIL-HCL

B = TRIMETOXIBENCENO

Coeficiente de Absortividad molar. =  $E_{\max}$ 

## ESPECIFICIDAD

TABLA No. 2.- Especificidad para la Técnica de Ultravioleta  
 Buflomedil-HCL. Coeficiente de absortividad

		TRIMETOXIBENCENO		BUFLOMEDIL-HCL
	conc mg/ml	.04	.300	.04
METANOL	Celda mm	10	10	10
	E <sub>max</sub> (molar)	-	147	4671.94
	Longitud de onda	275	275	275

TABLA No. 3.- Especificidad para la técnica de HPLC.  
 Buflomedil-HCL:

TIEMPO DE RETENCION

HPLC	BUFLOMEDIL-HCL		TRIMETOXIBENCENO
No. de corrida	STD (min)	MUESTRA (min)	STD (min)
1)	-	7.72	3.14
2)	7.77	-	3.17
3)	7.72	-	3.14
4)	7.67	-	3.12

TABLA No. 4 Linearidad del Estándar de Buflomedil-HCL. Técnica Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución - HPLC).

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
.10028	.0996989	99.42	$\bar{X} = 99.96$
.15042	.1515821	100.77	Det = .71
.20056	.1999789	99.71	Der = .71

L.C. (99.25-100.67)

Gráfica No. 1 Linearidad del método de HPLC.

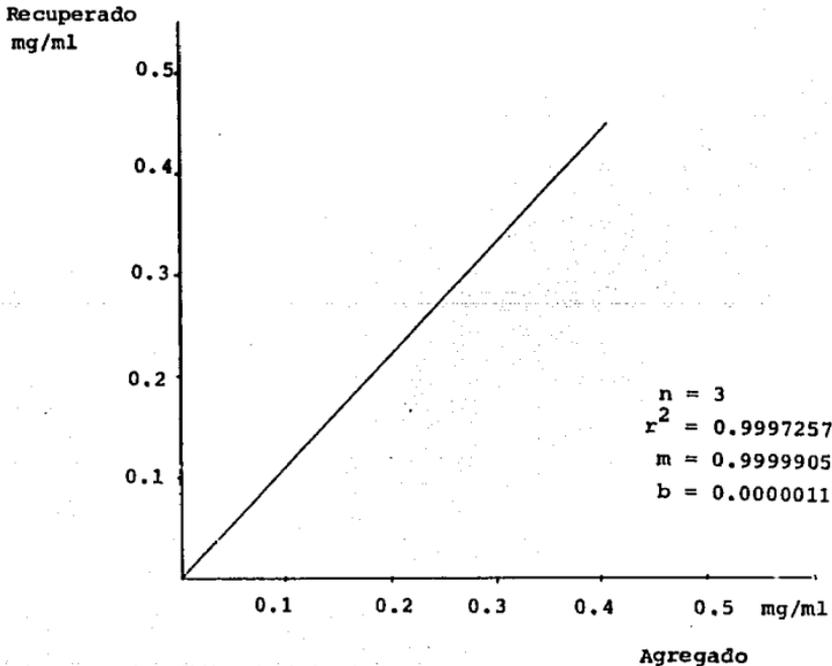


TABLA No. 5 Linealidad de la muestra de Buflomedil-HCL Técnica Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC)

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
.100	.0994512	99.45	$\bar{X} = 99.96\%$
.155	.1562196	100.78	Det = .715
.200	.1993292	99.66	Der = .715

L.C. (99.24-100.67)

Gráfica No. 2. Linealidad del método de HPLC.

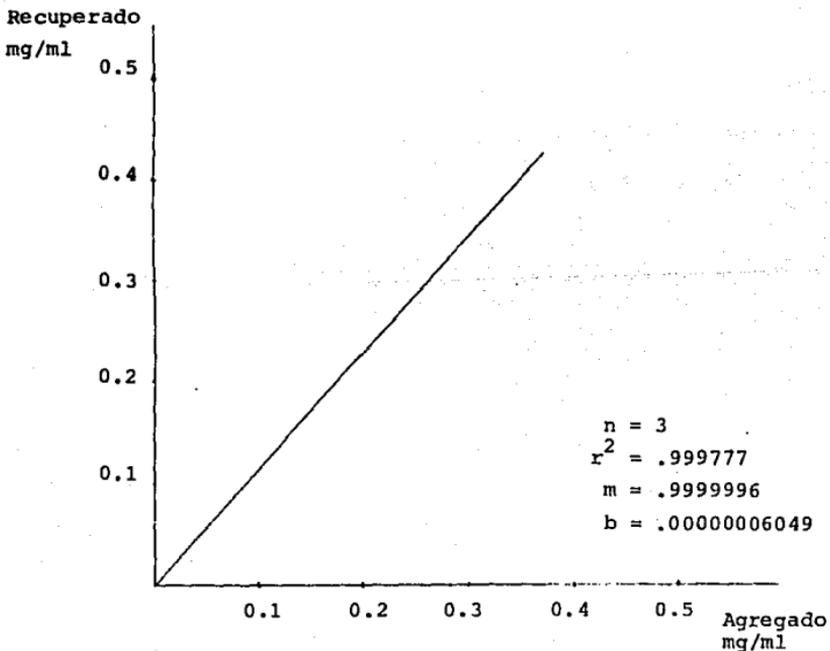


TABLA No. 6 Linearidad del estándar de Buflomedil-HCL.  
Técnica de UV en metanol a 275 nm.

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
.02014	.0202441	100.52	$\bar{X} = 99.97\%$
.0302100	.0300874	99.59	Det = .394
.040280	.040212	99.83	Der = .394
.05035	.0503365	99.97	

L.C. (99.57-100.36)

Gráfica No. 3. Linearidad del método ultravioleta

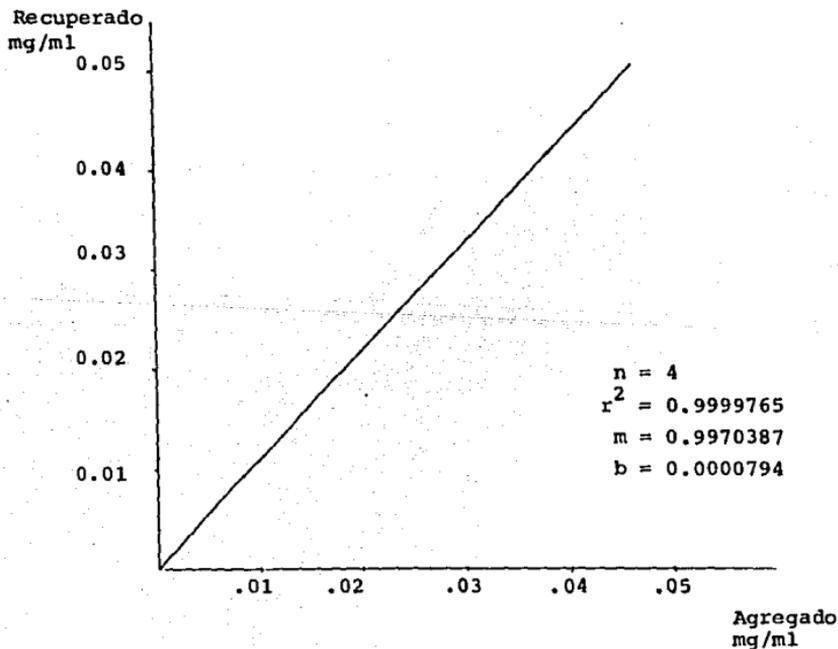


TABLA No. 7 Linearidad del estandar de Buflomedil-HCL. Técnica de Ultravioleta en metanol a 275 nm.

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
.02509	.0250715	99.92	$\bar{X}$ 100%
.037635	.037682	100.12	Det=-.10583
.05018	.0501615	99.96	Der=-.10583

L.C. (99.89-100.16)

gráfica No. 4

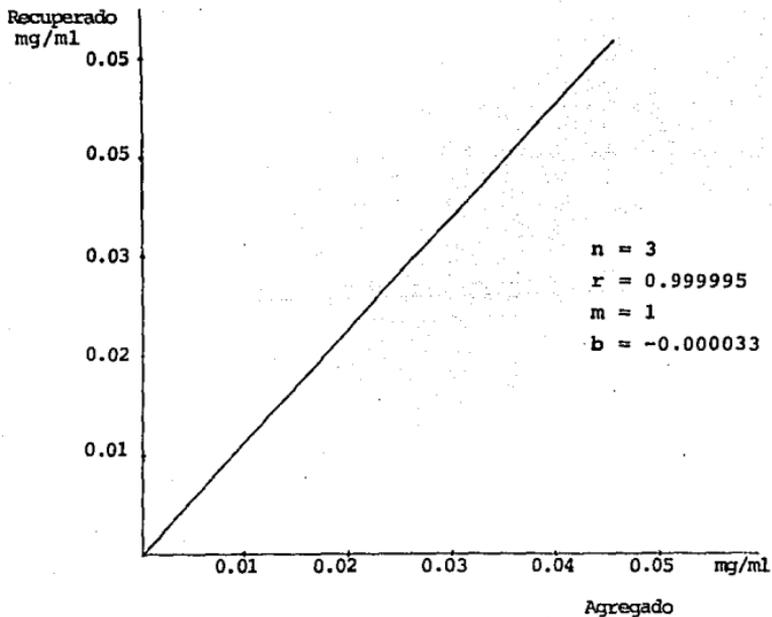


TABLA No. 8 Linearidad de muestra de Buflomedil-HCL. Técnica de Ultravioleta en metanol a 275 nm.

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
.020072	.0199631	99.46	$\bar{X} = 99.94$
.049144	.0404706	100.81	Det = .752
.05018	.0499632	99.56	Der = .752

L.C. (99.18-100.69)

gráfica No. 5

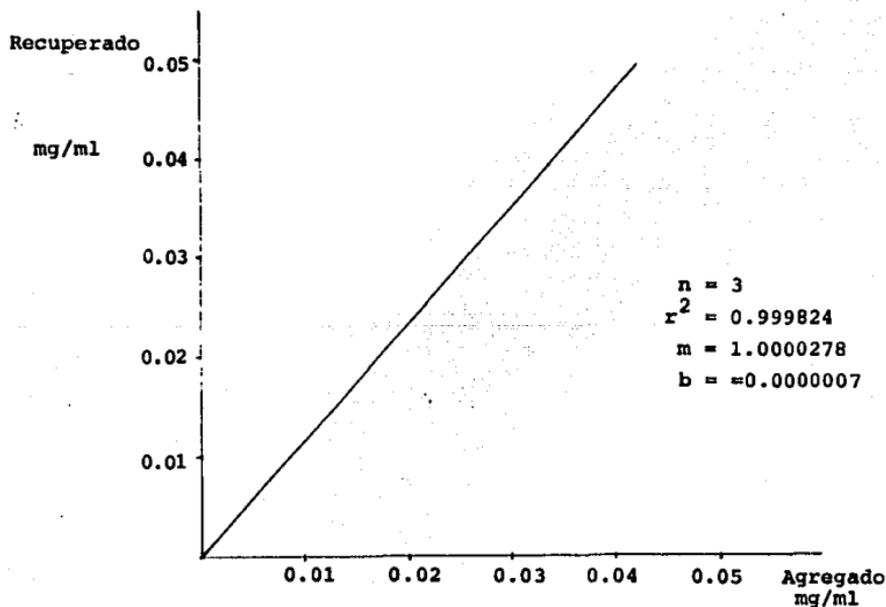
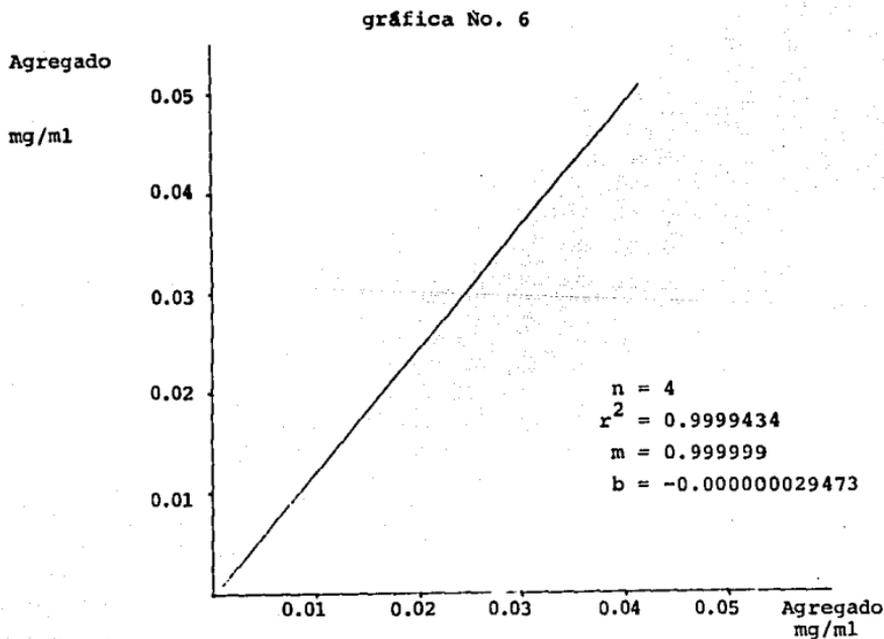


TABLA No. 9 Linearidad del estandar de Buflomedil-HCL. Técnica de UV en metanol a 275 nm (Analista II)

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
.0101	.0100684	99.68	$\bar{X} = 99.3\%$
.0202	.0201515	99.76	Det = .495
.04012	.0403911	100.67	Der = .495
.05015	.049959	99.62	

L.C. (99.43-100.42)



## c:- Exactitud, Precisión y Reproducibilidad. (STD)

Se realizaron determinaciones de Buflomedil-HCL, utilizando 3 técnicas diferentes: Espectroscopía de Ultravioleta variando los disolventes, Titulación en Medio no Acuoso y Cromatografía-HPLC.

TABLA No. 10 Espectroscopía de UV/en metanol

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
101	100.55	99.55%	$\bar{X}$ 99.95%
100.3	100.96	100.66%	Det=0.62
100.3	99.94	99.64%	Der=0.62
L.C. (99.33-100.57)			

TABLA No. 11 Espectroscopía de UV/agua

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
100.9	102	101.3%	$\bar{X}$ =100.18%
100.3	99.4	99.1%	Det=1.1
100.9	101	100.15%	Der=1.098
L.C. (99.08-101.78)			

TABLA No. 12 Titulación en Medio No Acuoso

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
101.4	101.4	100	$\bar{X}=99.86\%$
100.3	100.1	99.8	$D_{qt}=.11$
100.3	100.1	99.8	$D_{er}=.11$
L.C. (99.75-99.97)			

TABLA No. 13 HPLC

Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %	
.20056	0.1999789	99.71	$\bar{X}=99.68$
.200	0.1993292	99.66	$D_{qt}=0.025$
.2006	0.19998	99.69	$D_{er}=0.025$
L.C. (99.65-99.7)			

TABLA No. 14

## Ensayo UV/MeOH(I)

Muestra	Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %
L-1	100.8	97.02	96.25
L-3	100.2	96.04	95.83
L-4	100.5	96.40	95.92
L-5	100.7	97.74	97.06
L-6	100.8	96.38	95.62
L-8	100.3	98.32	98.03
L-9	100.4	97.61	97.22
F-1	100.0	98.90	98.90
F-2	100.0	98.92	98.92
F-3	100.3	99.30	99.6

TABLA No. 15

Ensayo UV/H<sub>2</sub>O(I)

Muestra	Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %
L-4	100.8	97.37	96.6
L-6	100.8	96.57	95.8
L-8	100.5	98.69	98.2
L-9	100.3	97.54	97.25

TABLA No. 16

Muestra	Ensayo		T.N.A. (I)
	Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %
L-6	250	239.5	95.8
L-8	250	245.65	98.26
L-9	250.3	243.54	97.3

TABLA No. 17

Ensayo: Cromatografía de Líquidos de  
Alta Resolución (HPLC) (I)

Muestra	Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %
L-1	150	145.32	96.87
L-9	150	146.56	97.71
F-3	150	152.22	101.48
L-5	150	145.50	97.0

TABLA No. 18 (Otro analista)

ensayo: UV/MeOH(II)

Muestra	Agregado g/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %
L-1	100	96.67	96.67
L-3	100	95.43	95.43
L-5	100	97.19	97.19
L-8	100	98.23	98.23
F-1	150	148.18	98.79
F-2	100	98.92	98.92
F-3	150	151.57	101.04

TABLA No. 19 Tabla comparativa de los métodos utilizados.

Ensayo: (% Recuperado)

Muestra	UV/MeOH(I) %	UV/H <sub>2</sub> O(I) %	T.N.A. %	HPLC %	UV/MeOH(II) %
L-1	96.25	-	-	96.87	96.67
L-3	95.83	-	-	-	95.43
L-4	95.92	96.6	-	-	-
L-5	97.06	-	-	97.0	97.19
L-6	95.62	95.8	95.8	-	-
L-8	98.03	98.2	98.26	-	98.23
L-9	97.22	97.25	97.3	97.71	-
F-1	98.90	-	-	-	98.79
F-2	98.92	-	-	-	98.92
F-3	99.6	-	-	101.48	101.04

## d.- LIMITES DE DETECCION

- 1) Para la técnica de espectroscopia de UV para Buflomedil - Clorhidrato. 10-50 mcg/ml en este rango la gráfica de calibración fue lineal. Se encontró proporcionalidad, entre la cantidad de Buflomedil-HCL y la absorbancia obtenida.
  
- 2) Para la técnica de HPLC.  
0-200 microg/ml en este rango la gráfica de calibración - fue lineal. Se encontró proporcionalidad entre la altura del pico obtenido y la cantidad de Buflomedil determinada en el rango de 0-200 mcg/ml.

TABLA No. 20 Límite de detección (U.V.).

% Teórico	Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	% Recuperado	Abs (275nm)
50	.2509	.2509	99.92	.357
75	.037635	.37682	100.12	.536
150	.050018	.05016	99.96	.713

$\bar{X} = 100\%$  Det = 0.10583 Der = 0.10583 L.C. (99.89-100.16)

Gráfica No. 7

Límite de detección

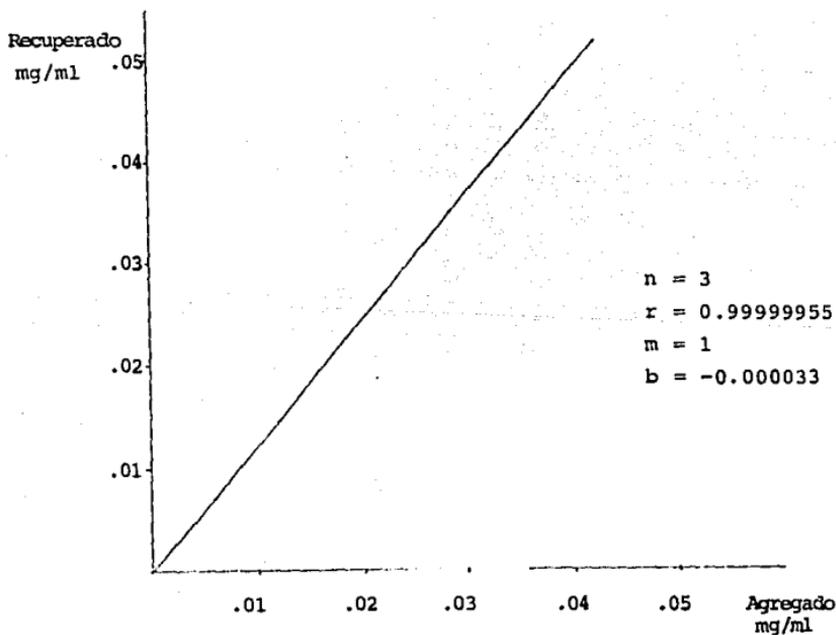


TABLA No. 21 Límite de detección (HPLC)

% Teórico	Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	% Recuperado	Altura (HPLC)
50	.10028	.0996989	99.45	47.7219
100	.15042	.1515821	100.78	74.5104
150	.20056	.1999789	99.66	98.566

 $\bar{X} = 99.96$ 

Det = 0.71

Der = 0.71

L.C. (99.25-100.67)

Gráfica No. 8

Límite de detección

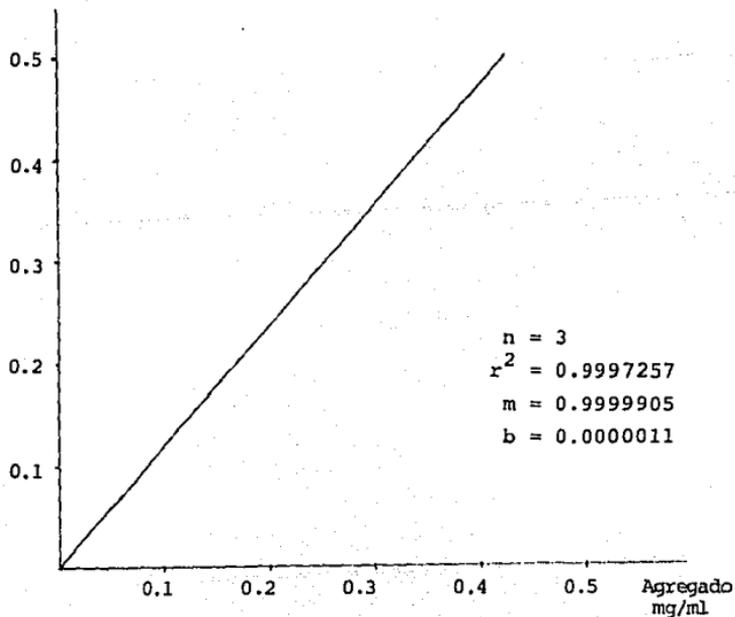


TABLA No. 22 Reproducibilidad del Método (U.V.).  
Analista (II)

% Teórico	Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %
100	100.1	99.6	99.86
100	100.3	100.1	99.70
100	99.9	100.0	100.10

$\bar{X} = 99.86$       Det = 0.21      Der = 0.201  
L.C. (99.65-100.06)

TABLA No. 23 Reproducibilidad del Método  
(HPLC) analista (II)

% Teórico	Agregado mg/ml	Recuperado mg/ml	Recuperado %
100	0.200	.19979	99.89
100	0.2008	.19908	99.10
100	0.2006	.2009	100.15

$\bar{X} = 99.71$       Det = 0.546      Der = 0.548

L.C. (99.16-100.25)

TABLA No. 24 Estabilidad para el método de U.V.  
(Buflomedil-HCL STD)

% Teórico	Día 1 % Recuperado	Día 2 % Recuperado
100	98.9	98.6
100	99.9	99.3
100	100.3	100.0
100	99.8	99.5
	X=99.72 Det=0.590	X=99.35 Det=0.58
	Der=0.592	Der=0.58
	L.C. (99.13-100.31)	L.C. (98.77-99.93)

TABLA No. 25 Estabilidad para el Método de H.P.L.C.  
Blufomedil HCL STD

% Teórico	Día 1 % Recuperado	Día 2 % Recuperado
100	98.9	98.2
100	99.9	99.0
100	99.6	98.9
100	100.1	99.8
	X=99.12 Det=0.525	X=98.97 Det=0.655
	Der=0.527	Der=0.66
	L.C. (98.59-99.64)	L.C. (98.31-99.63)

Tabla 25 LIMITE DE DETECCION (U.V.)

275 nm

Dilución	[mg/ml]	abs
1	.0100684	.132
2	.0201515	.269
3	.0403911	.544
4	.05015	.674

Gráfica 9

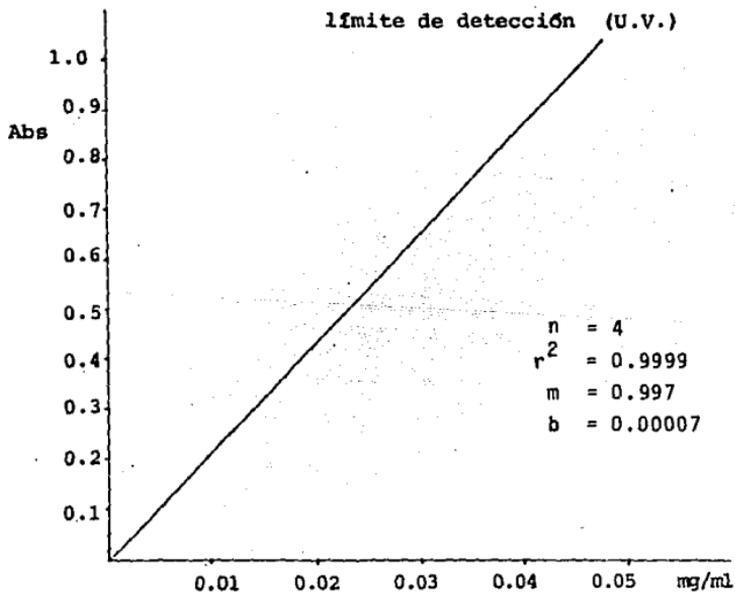
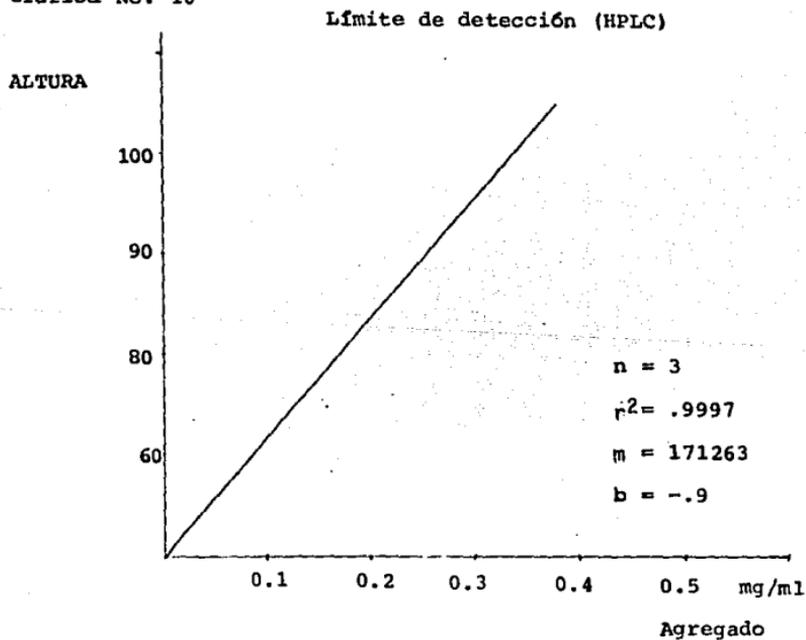


Tabla No. 26 LIMITE DE DETECCION (HPLC)

DILUCION	[mg/ml]	ALTURA
1	.0996989	48.72
2	.1515821	74.51
3	.1999789	98.56

Gráfica No. 10



## DISCUSSION

1.- Los resultados reportados en este trabajo acerca de las propiedades fisicoquímicas se determinaron experimentalmente debido a que no existe publicada una monografía oficial que las especifique, a excepción del punto de fusión que está reportado en el Index Merck como de 192-193°, sin embargo, este punto de fusión se obtiene en nuestro producto cuando posee una pureza de 96% y cuando la pureza es de 99% el punto de fusión es de 195°195.8°. La variación que se observa puede ser debida a que las condiciones en que se determinan en un país y en otro sean diferentes. En nuestro caso lo determinamos en un aparato digital y para comprobar su funcionamiento determinamos puntos de fusión de otros estándares ya conocidos no encontrando variación entre lo obtenido y lo reportado.

2.- Se eligieron como métodos de trabajo la espectroscopia U.V. por ser económico y rápido, HPLC por ser selectivo y también rápido y la T.N.A. por la factibilidad de realizarlo con equipo sencillo que al requerir de poca interpretación se puede utilizar como un método alternativo y si observamos los resultados obtenidos en la tabla 19 nos podemos dar cuenta que son equivalentes.

3.- Se utilizó como Std interno el Trimetoxibenceno - por ser un intermediario de reacción, es estable, químicamente similar al producto, no interfiere en el análisis. Pudimos observar que funcionó adecuadamente.

4.- La función de L.S.S. fue ajustar el pH para que proporcione el par iónico que se requiere en la cromatografía de fase inversa en par iónico que estamos utilizando. (4)

5.- Se eligió la columna cromatográfica C-18 por ser la más recomendada para compuestos que contienen N en su molécula.

6.- Las bandas de absorción características para Buflomedil en I.R. se observan en el estandar y son las mismas que las que presenta el espectro de muestra.

7.- Al trabajar con la forma farmacéutica tabletas - se pudo establecer que los excipientes realmente no interfieren en la cuantificación de Buflomedil ya que se trabajó con muestras a las que se les había extraído esos y se obtuvieron los mismos resultados que cuando los contenían. (4)

8.- En los resultados obtenidos se observa que se cumple la Ley de Beer ya que la absorbancia obtenida es proporcional a las concentraciones de Buflomedil HCL hasta en un rango de 10 mcg/ml.

9.- Con respecto a la confiabilidad del método U.V.- se tiene un rango de variación de 1%. La exactitud y precisión se evaluaron considerando las estadísticas: Media, Desviación estandar y coeficiente de variación según se puede observar en las tablas correspondientes.

10.- Para evaluar la linealidad se determinó, el coeficiente de regresión (pendiente), coeficiente de correlación. Tanto para el método de HPLC y UV.

11.- Con respecto a la Confiabilidad del método de HPLC se tiene un rango de variación menor al 1%.

12.- Con respecto a la reproducibilidad y la estabilidad, los resultados de un segundo analista; así como el resultado de un segundo análisis (2o día), el rango de variación también es menor al 1% como se indica en las tablas correspondientes.

13.- Dadas las limitantes de este trabajo podemos decir que la validación de dichos métodos se acercan de una manera confiable a los objetivos planteados al iniciar este trabajo experimental.

## CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, podemos decir que el método propuesto de Espectroscopia de Ultravioleta (UV), así como el de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC): son lineales, sensibles, exactos, precisos y específicos.

Individualmente el método de Espectroscopia de Ultravioleta es sencillo y rápido, muy económico; en combinación con la TLC nos permite obtener la máxima información en un menor tiempo. De igual manera el método de HPLC se puede utilizar proporcionándonos mayor SENSIBILIDAD, pero éste resulta económicamente más caro, en relación al anterior, debido al tipo de equipo utilizado.

Aún con esta diferencia de cualquier modo se pueden utilizar los dos métodos con la misma CONFIABILIDAD. Su utilización dependerá de la disposición y el requerimiento de sensibilidad por cada laboratorio analítico.

Como se demostró con este estudio, las técnicas mencionadas son reproducibles; ya que trabajan con un mismo lote aplicando diferentes técnicas analíticas, así como diferentes analistas, obtenemos resultados equivalentes.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Apéndice A

Abreviaturas:

Rx	Buflomedil-HCL Purificado por Recristalización.
Crudo	Buflomedil-HCL Cristalizado después de la Reacción.
HPLC	Cromatografía de líquidos de Alta Resolución.
U.V.	Espectroscopia de Ultravioleta.
I.R.	Espectroscopia de Infrarrojo.
Dst	Desviación std.
Dsr	Desviación std relativa.
L.C.	Límites de confiabilidad.
L.S.S.	Lauril Sulfato de Sodio.
nm	manómetros.
E max	Coefficiente de Absortividad Molar.
M	Molaridad (moles/litro o milimoles/mililitro).
Pf	Punto de fusión
Abs	Absorbancia
$\lambda$	Longitud de onda.

## A p é n d i c e B

Fórmulas:

### 1.- Media descriptiva

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

donde: sumatoria.  
n=numero de muestras.  
x=valor individual  
de la muestra.

### 2.- Desviación estándar muestral

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum (x_i - \bar{x})^2}$$

### 3.- L.C. = $\bar{x} \pm Dsr$

$$4.- Dsr = C.V. = \frac{s}{\bar{x}}$$

C.V. = coeficiente de variación.

### 5.- Ecuación de la línea recta.

$$y=mx+b$$

donde:

y=eje de las ordenadas.  
x=eje de las absisas.

m=pendiente  
b=ordenada al origen

## BIBLIOGRAFIA

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

- 1.- B. Levinson, P. Wright. Effect of Buflomedil on Behaviour, Memory, and Intellectual capacity in patients with Dementia. Samj Vol 68 31 August 1985. (302-207).
- 2.- N. Toda, H. Okunishi. Effects of Buflomedil on Isolated dog arteries. Arch. int. Pharmacodyn, 266,117,130, 1983.
- 3.- U. Gunder, Remy. 1981. Pharmacokinetics of Buflomedil. 459-463.
- 4.- J.A. Badmin, J.L. Kumar. Determination of Buflomedil Hydrochloride By Reversed-Phase -Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatography. Journal of Chromatography, 172 (319-325) 1979.
- 5.- Elizabeth. W. Thomas. Analysis of Buflomedil in mouse, rat and rabbit plasma by Reversed-Phase on-Pair High Performance Liquid Chromatography. Journal of chromatography, 228, (1982) 387-391.
- 6.- P. MVANHOUTTE, L.L. AARHUS (1983). Effects of Buflomedil on the responsiveness of canine vascular smooth muscle. The Journal of pharmacology and Experimental Therapeutics. Vol 27 No. 3 613-620.

- 7.- F.L. Fort, S. Tekeli, J.P. Lewkiwski. Buflomedil Three -  
Month Intravenous Safety Evaluation in rats. Drug And -  
Chemical Toxicology, 5(4), 401-414 (1982).
- 8.- P.J. Twitcherr and A.C. Moffat. (1975). High-Pressure Li-  
quid Chromatography of Drugs an evaluation of an Octade-  
cylsilane Stationary phase.
- 9.- J.H. Kbox and J. Jurand. Separation of Catecholamines --  
And their metabolites by Adsorption, Ion-pair and soap-  
Chromatography. Journal of chromatography. 125 (1975) -  
89-101.
- 10.- F. Bailey Applications of High-Performance Liquid Chroma-  
tography in the Pharmaceutical Industry. Journal of --  
Chromatography. 122 (1976) 73-84.
- 11.- Comments ON Reverse -Phase Ion--Pair Partition Chromato-  
graphy. Analytical Chemistry, vol 49, No. 6, may (1977)  
883.
- 12.- R. Dennis. Some aspects of the use of Chromatography in  
Pharmaceutycal Analysis. Pharmacy International, Novem-  
ber (1985) 275-279.
- 13.- Boehrinder Ingelheim. Manual de Validaci6n, Mayo 1983.

- 14.- Industria Farmacéutica. C.I.F. 2 (2a. ép.), 25-28 (1983)  
La validación: un reto actual, Normas para la práctica -  
de una correcta validación.
- 15.- Boehringer Ingelheim. 29.10 (1985) Dr. Vg/Ws. Validación  
de los métodos analíticos para el control de medicamen--  
tos. 1-13.
- 16.- The United States Pharmacopeia XXI, The National Formula  
ry; 16a Edition; United States-Pharmacopeial Convention;  
1985; pág. 1223-1224, 1249-1250, 1258, 1211-1212, 1269,  
1026-1027.
- 17.- The Merck Index; Tenth Edition; Merck and Co. Inc. N.M.  
USA: Martha Windhol: Pág. 203 (1443).
- 18.- Macherey-Nagel-Duren. High Performance Liquid-Chromato--  
graphy Tecnología Cromatográfica. TECROM. 1987.
- 19.- PLM edición 35a (1989) pág. 567-568.
- 20.- SADTLER ULTRAVIOLETA. Vol 83 pág. 22040-22363  
18271-18596.
- 21.- Cemeli P.J. (1985) La validación: una filosofía y un sis  
tema; C.I.F. 4 (2a. ép.) 220-226.

- 22.- Introducción a la cromatografía líquida práctica; Yosr -  
R.W.; Perkin Elmer; USA 1980.
- 23.- Pharmacy Internacional. June 1985. pág. 143. New Drugs  
Annual 22 Cardiovascular Drugs.
- 24.- Química Analítica Cuantitativa; James S. Fritz. George -  
H. Schenk. Editorial Limusa, Tercera Edición (1989) Capí-  
tulo No. 5, pág. 93-134.