



---

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE QUIMICA

Estabilidad de Tabletas Prednisona y  
Maleato de Clorfeniramina

292

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
MERCEDES CARLOTA REYES GUZMAN

MEXICO, D. F.

1 9 7 4



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

LA  
DE TESI  
FECHA 1974  
REC Mit ~~271~~ 271



QUIMICA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE

Jurado designado  
originalmente  
según el tema.

PRESIDENTE: RAMON ULACIA ESTEVE.  
VOCAL: ETHELVINA MEDRANO DE JAIMES.  
SECRETARIO: ANDRES ZUÑIGA PADILLA.  
1er. SUPLENTE: IGNACIO NEGRETE REYNOSO.  
2o. SUPLENTE: MARIO MIRANDA CASTRO.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIOS SCHERAMEX, S.A.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE:

REYES GUZMAN MERCEDES CARLOTA.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA:

ANDRES ZUÑIGA PADILLA.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUPERVISOR TECNICO:

EMILIO SEGOVIA.



A MIS PADRES, RAFAEL Y MERCEDES  
con gratitud y cariño

A JORGE  
con amor

A LAURA

A MIS HERMANOS Y FAMILIARES

A MIS PROFESORES Y AMIGOS

A MI ESCUELA

AGRADEZCO A LOS LABORATORIOS SCHERAMEX Y  
A LA SRITA. Q.F.B. GRACIELA SAIAZAR, LAS FACI-  
LIDADES QUE ME CONCEDIERON PARA DESARROLLAR ES  
TE TRABAJO.

TAMBIEN AGRADEZCO LA AYUDA DE LOS PROFE-  
SORES Q.F.B. ANDRES ZUÑIGA Y DR. EMILIO SEGOVIA.

## C O N T E N I D O

INTRODUCCION .....	Pag. 1
ESTABILIDAD .....	4
VELOCIDAD DE REACCION Y CURVA DE ARRHENIUS.....	19
GENERALIDADES .....	22
PREDNISONA.....	23
MALEATO DE CLORFENIRAMINA.....	33
CROMATOGRAFIA.....	37
TECNICAS Y RESULTADOS .....	40
CONCLUSIONES .....	73
BIBLIOGRAFIA .....	77

I N T R O D U C C I O N  
~~~~~

I N T R O D U C C I O N

Los laboratorios farmacéuticos, dentro de toda una serie de pruebas previas al lanzamiento comercial de una nueva formulación, deben adoptar un especial cuidado al realizar las pruebas de estabilidad.

Estas pruebas, fundamentalmente, deben demostrar, primero, que el producto al degradarse no produce sustancias tóxicas y segundo, que si su efectividad decrece, no lo hace en un grado tal que impida al producto actuar como debe.

En síntesis: un producto farmacéutico nunca debe causar daño al paciente y siempre debe realizar la función para la cual está diseñado, y única forma de saber lo anterior, consiste en realizar pruebas de estabilidad.

Dichas pruebas, de vital importancia en cualquier fármaco, deben ser realizadas por el Químico Farmacobiólogo, quien las ubicará, si es un producto nuevo, dentro del programa de desarrollo de la formulación, o en caso de que el fármaco, dentro del proceso de control de calidad, lo tenga ya establecido.

El presente trabajo tiene como objetivo el realizar un enfoque general referente a las pruebas que el Químico Farmacobiólogo debe tomar en consideración al efectuar la planificación de un estudio de estabilidad. Por supuesto, no se pretende establecer un patrón universal aplicable a todos los casos, ya que cada formula-

ción necesita ser estudiada en forma individual, según lo requieran sus características propias.

Además, la parte experimental presenta varias técnicas de análisis específicas para prednisona y maleato de clorfeniramina, principios activos de la formulación estudiada, técnicas todas válidas para un estudio de estabilidad.

Como la formulación del presente caso ya había sido estudiada durante largo tiempo, habiéndose obtenido resultados que evidenciaban un alto grado de estabilidad, el actual estudio fue diseñado para obtener resultados rápidos, que confirmaran la estabilidad de dicha formulación. Por lo tanto, este trabajo es una muestra de la aplicación de los estudios de estabilidad bajo condiciones drásticas principalmente de temperatura.





La estabilidad de una preparación farmacéutica es de gran importancia tanto para el fabricante como para el consumidor. A ambos afecta el problema de la seguridad; aunque en un principio la preparación sea inocua, esto no implica que necesariamente su producto o productos de degradación también lo sean, lo que se traduce en un grave riesgo para el usuario; o aunque el producto sea completamente inerte, con el solo hecho de que la preparación baje de efectividad, se corre el riesgo de permitir que un enfermedad sencilla devenga en complicaciones más graves. Todo esto, obviamente, resulta atentatorio a la integridad física del consumidor y perjudicial al prestigio de la empresa.

Existen 3 clases de inestabilidad que afectan la vida de los fármacos; química, física y microbiológica. Puede ser que al principio, un fármaco no sea degradado ni cambiado en su composición, o bien que aparezca una nueva sustancia como resultante, y que pueda ser completamente inocua o altamente tóxica (1,2).

Los medicamentos, cosméticos y alimentos tienen mucho en común, y deben estar sujetos a pruebas de estabilidad, ya que ésta no se puede garantizar solamente por un empaque hermético (3).

Las reacciones bioquímicas pueden afectar adversamente la estabilidad de un producto, por lo que el programa de control de calidad debe ser adecuado para excluir la materia prima contaminada capaz de provocar esas reacciones. Asimismo, cuando una materia prima aparentemente baja de potencia, su análisis debe repetirse

antes de usarla en la producción (3).

\* El problema con que se encuentra el formulador de un producto farmacéutico, será el de determinar el conjunto de condiciones que mejor mantienen la identidad, potencia, calidad y pureza de la substancia activa, y para ello tiene que observar los efectos de temperatura, humedad, pH, aire, luz, trazas de metales, compatibilidad, susceptibilidad a la oxidación, quelación, excipientes, solubilidad, métodos de esterilización, envase, tapa, etc. (1,4).

Hay frecuentes problemas al pasar del lote piloto al lote de producción, por la mayor cantidad de factores que pueden causar degradación, por lo que los problemas de estabilidad deben ser estudiados en relación a los materiales y equipo que serán usados para la producción comercial.

La estabilidad de la preparación de un medicamento es algo que debería ser incorporado al producto desde los pasos iniciales de su fabricación hasta el empaque y comercialización (2,4).

Esto comienza con una proyección efectiva de todas las materias primas que entran en la formulación, un almacenamiento adecuado para evitar la descomposición y pérdida de la actividad, una selección cuidadosa de las condiciones de manufactura y muchas otras decisiones concernientes a: tiempo y temperatura de secado, tiempo y velocidad de mezclado, tamaño de partícula, técnicas de granulación, número de capas, preservativos, diluyentes, procesos de síntesis, especificaciones de materia prima, tipo de equipo, condiciones de trabajo (luz, humedad, temperatura, aire), envase y tapas.

Con frecuencia la falta de estabilidad se debe a una contaminación biológica causada por falta de asepsia en las condiciones de fabricación (4).

Los resultados de los estudios de estabilidad son aplicables solamente a la formulación bajo condiciones de prueba impuestas, descritas anteriormente, por lo que se requiere una estricta observación de los procesos de manufactura, ya que de otro modo se corre el riesgo de afectar la estabilidad final (4).

Una preparación puede ser estable en las manos de una firma farmacéutica, bajo las condiciones de su propia fabricación, y la preparación de la misma composición en otras manos, usando diferentes equipos, envases y variación de técnicas, puede no ser estable (2).

Sin embargo, con la experiencia de técnicas de estabilidad, un científico puede extrapolar los resultados de estabilidad de un producto a otros similares si tiene el conocimiento completo de cada uno de los ingredientes que intervengan en la formulación. La asesoría de equipos de trabajadores especializados, la influencia de factores tales como luz, calor, humedad e incompatibilidades, previstas hasta un cierto grado, con la selección de los mejores parámetros tales como precipitación, obscuridad, pérdida de actividad, olor, humedad, degradación de producto, que pueden ser medidos por cambios, bajo condiciones específicas (4).

Cuando algo no usual aparece en la preparación de un medicamento, es necesario establecer si éste es el resultado de una interac

ción de los componentes o de la degradación de uno de ellos (4).

Se deben utilizar en la fabricación las formas metaestables, evitando polimorfismos y diferentes tamaños de partículas (1).

• Las temperaturas usadas en un estudio de estabilidad varían según la necesidad, pero generalmente se usan de 5 a 10°C y ambiente, 35 a 40 y 41 a 45°' como máximo, que podría ser la temperatura de verano o de prácticas militares o bien de transporte y que no se concidera acelerada. Se aconseja en casos especiales observar los efectos a temperaturas de congelación (5).

El cambiar estos resultados de pruebas aceleradas, ha dado buenos resultados, no obstante que las pruebas de estabilidad acelerado no están mencionadas en los regamentos oficiales (6).

\* El uso de estudios acelerados para seleccionar una posible formulación puede ser muy útil para encontrar la formulación más estable, o cuando se hace una modificación a la formulación original, tal como cambios de síntesis, envase o cambio de composición. (1,2).

Cuando se adiciona un componente nuevo es necesario establecer el resultado de la interacción con otros componentes o, en su caso, los cambios sugeridos.

La prueba de estabilidad acelerada es uno de los métodos más seguros, generalmente aplicable cuando un cambio puede ser medido en función del cambio de condiciones, tales como la temperatura (4).

Estos estudios ayudan a los formuladores, pues proporcionan los datos con mayor rapidez y menor costo, pero no substituyen a los estudios hechos a temperatura ambiente, y deben ser acompañados de los estudios de estabilidad física, química y microbiológica (7,8).

El producto sujeto a condiciones exageradas, permite observar los efectos de inestabilidad, pudiendo modificarse la formulación, caracterizar los productos de degradación, excluyéndolos por métodos, analíticos (5).

El sistema a temperatura elevada es generalmente diferente al sistema a temperatura ambiente, y por lo tanto los cambios físicos y químicos pueden no ser duplicados bajo las dos condiciones. Se deben usar ciclos alternativos de temperatura y humedad en estas pruebas, pues el uso de control de humedad a temperaturas elevadas es una necesidad ya que la mayoría de los medicamentos son mucho más estables a temperaturas elevadas y humedades bajas de lo que son a temperaturas ambientales y humedad normal, sobre todo en formas sólidas en que cambia el contenido de humedad del producto (9).

No es indispensable determinar el mecanismo de degradación. Si alguna característica de los productos de la degradación se muestra como función del tiempo y produce una recta al graficarlo, la velocidad de termodegradación podía obtenerse de la pendiente de dicha recta (10).

Cuando existe reproductibilidad de la función de la velocidad de degradación a varias temperaturas elevadas, es de valor el uso

de tales funciones en la predicción de velocidades de degradación a bajas temperaturas, pero las pendientes de la ecuación de Arrhenius deben determinarse nuevamente cuando se tiene una nueva formulación (11).

Las curvas de Arrhenius también sufren limitaciones en su aplicación a reacciones que tienen relativamente baja energía de activación y que, por tanto, no son grandemente aceleradas por el aumento de temperatura.

Aún y cuando existen muchos factores que afectan la estabilidad de una formulación completa, el que recibe la mayor atención es el efecto de la temperatura con respecto al tiempo (12).

\* Los factores físicos son tan importantes en la deterioración como los químicos. Los más obvios son los cambios en apariencia, color, claridad y uniformidad. De igual importancia son los cambios en dureza y friabilidad. Los cambios en el tiempo de desintegración y en el de disponibilidad, también deben ser considerados, y se deben llevar a cabo para establecer una correlación entre ambos parámetros, (9).

• En el caso de tabletas se deben mantener tamaño, forma, peso y color, así como la disponibilidad biológica, al pasar el tiempo.

La estabilidad del color puede determinarse por medio del colorímetro o del espectrofotómetro, después de hacer una disolución. El calor, la luz solar y la luz artificial intensas pueden acelerar la deterioración química del color, y este hecho es útil cuando se com

para la estabilidad de un color contra otro en la misma formulación.

El uso de máquinas de empaque a diferentes velocidades, puedes dar idea de la fragilidad. Las tabletas deben ser llevadas a través del país en tren, avión y carretera, y después sometidas a observación y pruebas de friabilidad. La dureza y la friabilidad no siempre están relacionadas.

La biodisponibilidad puede ser afectada por polimorfismo, cambios en el tamaño de partícula, cambios en la velocidad de disolución y otros (9).

La biodisponibilidad decrece con el tiempo, por lo que se deben hacer pruebas de velocidad de disolución en jugo gástrico y/o intestinal a 37°C, y lo ideal es correlacionarlos con estudios en vivo.

El cambio en el tiempo de desintegración indicará grandes cambios en las características físicas.

Es conveniente que los estudios se hagan en tabletas guardadas en cabinas de humedad variable, de una a cuatro semanas y, si es frasco, abrirse de una a cuatro veces diarias, tal como la haría el consumidor.

Con relación a las pruebas físicas de estabilidad, se debe recordar que es necesario: tener un sistema similar de comparación, que permite tener una mayor seguridad en la determinación; conocer los sistemas físicos básicos, de acuerdo a observaciones previas; el sistema a temperatura elevada es diferente al sistema a temperatura ambiente, por lo que la extrapolación debe hacerse con cuidado; no

olvidar las pruebas de disponibilidad biológica, a pesar de que no se acostumbran (existen pruebas *in vitro* que ayudan a detectar cuando se van a producir cambios); antes de aprobar un estudio, someten el producto a las condiciones y manipulaciones a que le sometería el paciente (13).

Frecuentemente, los cambios en propiedades físicas, están relacionadas con propiedades químicas, en cuyo caso, es posible compararlas utilizando la curva de Arrhenius (2).

Para la determinación de la degradación química, se hace necesario el empleo de un método de análisis que sea lo suficientemente discriminativo, exacto y preciso, completamente explicado y, de preferencia, realizado por el mismo químico, para poder obtener datos lo más apegados a la realidad (5).

Un problema es que el método de análisis no sea muy preciso, por lo que se requiera un porcentaje alto de producto descompuesto para poder obtener las lecturas correspondientes y poder trazar una línea recta descendente (8).

Se puede incluir la preparación de una impureza de referencia, para dar la valuación del método (5).

Se debe hacer el suficiente número de análisis para obtener datos exactos, sobre todo para el ensayo inicial. Al hacer el ensayo se buscan los grupos lábiles o no encontrados en los productos de degradación (7). Mientras que, generalmente, es deseable determinar la estabilidad de un fármaco mediante el análisis de las muestra



para la cantidad de fármaco que permanece inalterado, en casos don de existe una pequeña descomposición, y particularmente cuando no es conveniente acelerar la reacción mediante el aumento de la temperatura, resulta ventajoso determinar las velocidades de reacción mediante la determinación del producto de reacción formado. Tal aproximación solo puede utilizarse si la reacción está suficientemente caracterizada para asegurar que la cantidad de producto determinado, puede relacionarse de una manera adecuada al grado de descomposición del fármaco (12).

En algunos casos se puede utilizar el mismo método de análisis rutinario para las pruebas de estabilidad. No obstante, esto no sucede con frecuencia, ya que el método debe determinar selectivamente la cantidad de una sustancia en presencia de sus produgtos de descomposición y de reacción.

En resumen, el método de análisis debe determinar la inestabilidad de un fármaco midiendo la cantidad total de éste por un método altamente selectivo, la cantidad total de fármacos contenida no selectivamente y estimando los productos de degradación y una tercera alternativa sería, de ser posible prácticamente, determinar selectivamente las cantidades de ambos: (26).

Los métodos de análisis más comunes, usados en los estudios de estabilidad, incluyen:

1o.- Desarrollo de color o reacción química selectiva del fármaco no alterado, en presencia de productos de degradación.

2o.- Determinación espectrofotométrica, la cual puede

ser específica para el fármaco en presencia de sus productos de degradación o tener ambos el mismo espectro, por lo que la determinación es precedida entonces por un procedimiento cromatográfico o de extracciones para remover los materiales que interfieran.

3o.- Cromatografía en placa o papel, acoplada a procedimientos cuantitativos. Con frecuencia estos son los mejores métodos para determinar la cantidad absoluta de fármaco, y por tanto prueban la especificidad de otros métodos más simples.

4o.- Técnicas de complejometría ácido-base, útiles para ésteres alcalonamínicos, los cuales dan productos de hidrólisis que no forman un complejo colorido bajo las condiciones de reacción.

5o.- Cromatografía gas-líquido, cuantitativa. Aunque no todos los componentes son adaptables a esta técnica, en su forma original, pueden ser convertidos a una forma apropiada para utilizarse en el cromatógrafo de gases.

6o.- Técnicas microbiológicas. De esta manera se determina la actividad del producto cuando sus productos de degradación son inactivos. Debe ser acompañada por un método específico de análisis químico o, al menos, por una correlación entre ambos, (9).

7o.- Extracciones de las formas no ionizadas o ionizadas, según convenga, con el solvente adecuado, para después ser cuantificadas. Tal vez sea el proceso de separación más utilizado (26).

En adición al análisis del producto inicial, se deben hacer

análisis específicos para los productos de degradación, pero la determinación individual de estos productos puede ser muy tediosa si son muchos. Por esto tendrá mayor importancia hacer la determinación para cada producto de degradación, tóxico.

Ya que la toxicidad es de mayor importancia, una alternativa es determinar la toxicidad brutal del medicamento descompuesto con una extensión del 20 al 30%, y comparar con un control de producto inicial al mismo nivel de dosificación. Esta técnica tiene la ventaja de no excluir ninguno de los productos de degradación (9).

Como el empleo de plástico ha aumentado y puede reaccionar con el principio, con los excipientes, o bien permitir la transmisión de oxígeno, dióxido de carbono u otros gases a través de él, se han diseñado pruebas especiales para envases y tapas de este material, que comprenden penetrabilidad, composición, grado de cristalización, presencia de cenizas y metales, acción de la temperatura, transmisión de luz y de vapor de agua, degradación y contaminación biológica, y finalmente control del método de síntesis y análisis, con objeto de igualar lotes. (5).

La fijación de fecha de expiración se ha dejado en manos de las personas que desarrollan el producto y que tienen conocimientos de la estabilidad de los ingredientes y muchos otros factores, tales como el tamaño del lote, la frecuencia de la fabricación, la localización geográfica de las áreas de venta, la forma farmacéutica, las políticas de distribución, la rotación del material en el almacén y el tipo de farmacia (4).

Para asegurar que un producto sea susceptible de deteriorarse se deben tener estándares adecuados de identidad, potencia, calidad y pureza.

La fecha de expiración que aparece en la etiqueta, debe estar justificada por estudios de estabilidad. Asimismo, la fecha de expiración debe estar relacionada con las condiciones adecuadas de almacenamiento establecidas en la etiqueta.

Cuando el medicamento es vendido como sólido para utilizarse en un preparación líquida, la etiqueta debe llevar información de expiración para el producto tanto seco como reconstruido (15).

Puede no darse fecha de caducidad, pero ésta omisión debe estar plenamente justificada (3,9).

La palabra estabilidad recuerda la de por ciento de degradación, pues este concepto significa que todos los productos son inestables física o químicamente.

No se puede imaginar la preparación de un medicamento sin algún exceso de los ingredientes activos, cuando la potencia se garantiza por un período dado de tiempo, principalmente en antibióticos. Con frecuencia, el exceso máximo está dado por factores como precio, solubilidad, sabor o tamaño de la tableta (4). Sin embargo, no siempre es bueno alargar la fecha de caducidad con un exceso de principio activo, que puede ser dañino, puesto que no puede predecirse la fecha de administración del fármaco (7).

Se debe tener una fecha de caducidad interna para todos y cada uno de los productos.

No se pueden evaluar los datos de un estudio de estabilidad cuando las cantidades de principio activo se expresan en un porcentaje de lo etiquetado, particularmente cuando hay un exceso de dicho principio.

Al hacer un estudio se debe tomar la cantidad de muestra apropiada para tener el material necesario para realizar varias determinaciones (2).

Los requerimientos de la ley sobre métodos, facilidades y controles, empleados adecuadamente para preservar las características de un nuevo medicamento, son la base para la obtención de los detalles de estabilidad requeridos en cada caso.

No es posible designar un simple protocolo de los estudios que son necesarios y suficientes para establecer la estabilidad de un producto en general, así como tampoco considerar todas las condiciones que pueden afectarlos en casos extremos como guerras, viajes largos, etc. Cuando se habla de viajes dentro de un país, para fines de estabilidad, lo más exacto será tomar como base la temperatura ambiente promedio, para todo el país (2).

Se sugiere que los estudios deben hacerse cuando menos en tres lotes de cada formulación, para poder saber las variaciones que pueden presentarse de lote a lote (3,) (9). También cuando se sustituye algún ingrediente, deben hacerse nuevas pruebas.

En resumen, la estabilidad deberá determinarse por métodos seguros, significativos y por pruebas específicas, determinadas en el

mismo a los en que será vendido y recordar los datos de modo que puedan utilizarse para establecer la fecha de expiración (15).

La estabilidad es un aspecto de la fabricación de medicamentos, y como tal debe verificarse, ya que es un factor de calidad que además, debe ser regulado por las agencias gubernamentales (4).

Un producto que muestra una velocidad de degradación no significativa, requiere un perfil de estabilidad menos detallado (5).

Pero a pesar de la importancia de las anteriores sugerencias, la esencia de un estudio de estabilidad será el método analítico; de ahí la necesidad que sea lo suficientemente específico para asegurar la identidad, pureza, potencia y calidad del fármaco que se suministra (1).

VELOCIDAD DE REACCION Y APLICACION DE LA RELACION  


---

 DE ARRHENIUS.  


---

Cuando la velocidad de reacción es independiente de la concentración de los reactivos, la reacción es de cero orden. Por tratarse de sólido, todas las tabletas tienen este orden de reacción.

La velocidad de descomposición del principio, se representa matemáticamente en la siguiente ecuación:

$$\frac{-dC}{dt} = K$$

donde: C = concentración de reactivo.

K = velocidad de reacción.

t = tiempo.

$$dC = -K dt$$

$$\int_{C_0}^C dC = -K \int_0^t dt$$

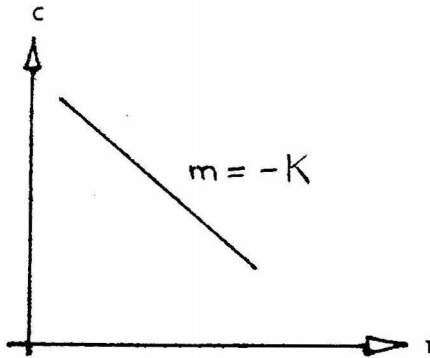
$$[C]_{C_0}^C = -K [t]_0^t$$

$$C - C_0 = -Kt$$

La velocidad es constante y la pendiente no cambia, por lo que se obtiene una recta de pendiente igual a K.

$$K = mg/\text{seg}$$

$$C = -Kt + C_0$$



La velocidad de reacción puede ser expresada en términos de  $K$ , ó bien como vida media, que es el tiempo que tarda la reacción en llevar la concentración a la mitad, por lo que la ecuación queda:

$$\frac{C_0}{2} - C_0 = -Kt_{\frac{1}{2}}$$

Y

$$\frac{C_0}{2K} = t_{\frac{1}{2}}$$

Sin embargo, en la industria farmacéutica lo que se utiliza es  $t_{90}$ , ó sea el tiempo que tarda la reacción para llegar al 90% de la concentración, o sea disminuir un 10%, y es el valor que generalmente se utiliza como fecha de caducidad.



$$0.9 C_o - C_o = -Kt_{90}$$

$$C_o - .9 C_o = Kt_{90}$$

$$\frac{0.1 C_o}{K} = t_{90} = \frac{C_o}{10 K}$$

Cuando se utiliza un estudio acelerado buscando la influencia de la temperatura sobre la velocidad de degradación para predecir la estabilidad del producto a temperatura ordinaria, aplicamos la relación propuesta por Arrhenius:

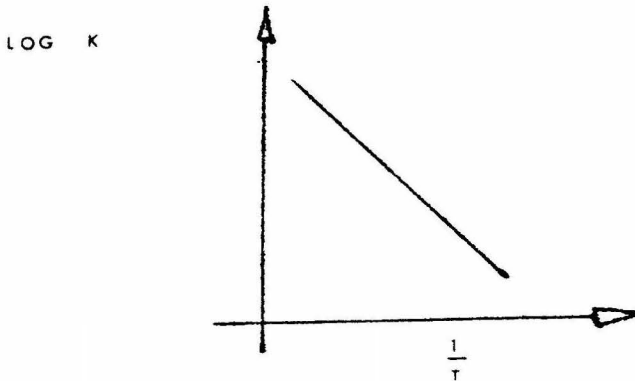
$$\log \frac{K}{K_1} = \frac{E_a}{2.303 R} \left( \frac{T_2 - T_1}{T_2 - T_1} \right)$$

donde:  $E_a$  = energía de activación.

$R$  = constante de los gases (1.987 cal/grado mol)

$T$  = temperatura absoluta.

Al graficar  $\log K$  contra  $\left(\frac{1}{T}\right)$  se obtiene una recta, en la que la pendiente es  $\frac{-E_a}{2.303 R}$  y se puede extrapolar para obtener el valor de  $K_a$  25°C y con ese valor calcular  $t_{90}$ . (16,17).





## P R E D N I S O N A

La prednisona pertenece al grupo de los esteroides adrenocorticales que incluyen sustancias tales como derivados del metabolismo de carbohidratos, proteínas, electrolitos, grasas y agua. Los adrenocorticoides están incluidos dentro de los esteroides de la clase C-21 y la serie de pregnenos (18).

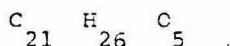
La presencia de un grupo cetónico en C-20, adyacente al grupo primario hidroxilo en C-21 y un grupo cetónico no saturado en posición 3, 4 ó 5 en los esteroides adrenales, son esenciales para la actividad cortical (19).

Los esteroides adrenales oxigenados en la posición 11 y que están regulados por el metabolismo de carbohidratos, se designan como glucocorticoides, el principal es la cortisona (18).

La actividad antirreumática requiere de la adición de un grupo hidróxilo o cetónico en C-11 y un hidroxilo en C-17. (19).

La prednisona es un derivado sintético de la cortisona, de la que difiere solamente por tener un doble enlace adicional entre las posiciones 1 y 2. Esta modificación aumenta la actividad glucocorticoide convirtiéndola en la más potente, de gran actividad antiartrítica en el hombre y en los animales, sin aumentar la actividad mineralocorticoide. El grupo 6-alfa-metilo dentro de la molécula de prednisona aumenta la actividad sin tener un aumento indeseable de los efectos laterales (20).

La fórmula de la prednisona es:

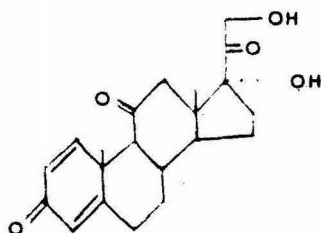


Peso molecular 358.44

Composición C 70.37%

H 7.31%

O 22.32%



Tiene como sinónimos:  $17\alpha$ , 21-dihidroxipregna - 1, 4-dieno, 3, 11-20-triona; 1, 2-denidrocortisona; 1, 4-pregradieno- $17\alpha$ , 21-diol - 3, 20, 11-triona;  $\Delta^1$ , dehidrocortisona;  $\Delta^1$ , cortisona; delta cortisona; delta E; metacortandración.

Es un polvo blanco cristalino, con punto de fusión entre 233 y 235°C, con descomposición.

Presenta una rotación específica de +167 a +175° en una solución al 1% en dioxano.

Es muy poco soluble en agua, pues un gramo se disuelve en 150 ml de alcohol ó 200ml de cloroformo. Soluble en metanol y dioxano.

La absorción máxima en metanol es a 238 milimicras.

IDENTIFICACION.- a) La prueba de color es disolviendo 0.2 mg en 1 ml de ácido sulfúrico, dando color amarillo, que después de cinco minutos es verde pálido fluorescente a la luz ultravioleta.

b) El espectro de absorción infrarrojo, en disco de bromuro de potasio, da los principales picos en 1 668, 1 707 y 912  $\mu$ m

DOSIS.- Es de 10 a 100mg diariamente en dosis divididas. Los niños recibirán dos veces al día: hasta un año, de 1 a 2.5 mg; 1 a 5 años, de 2.5 a 10mg; y de 6 a 12 años, de 5 a 20mg.

Durante su metabolismo parece interconvertible con prednisolona en el hombre y los estudios en caballo indican que el patrón metabólico es similar en ambas especies.

USOS.- Se usa como antiinflamatorio y como antialérgico.

Para fines veterinarios se utiliza en cetosis en ganado vacuno, en edema inflamatorias que involucran las articulaciones, en otitis no específicas y eczema veraniego. La dosis en caballos y vacas es de 100 a 400 mg intramusculares; en perros es de 20 a 25 mg intramusculares por tres a cinco días, seguido de 2.5 a 10 mg orales durante.

Entre los efectos colaterales presenta una menor retención de electrolito que la cortisona, ulceración péptica, supresión de función adrenal, estimulación adrenal, aumento de la

ciones, cara de luna, hipertención, edema, hirsutismo, acné, disturbios del metabolismo de la glucosa, sígnicos e irregularidades menstruales. Prolongados tratamientos pueden causar, por efectos catabólicos de los esteroides, agotamiento proteico, osteoporosis y supresión de crecimiento de los niños. La retención de sales y agua, aunque menor que con la cortisona, así como la pérdida de potasio, también pueden presentar problemas (20), (21), (22), (23).

METODOS DE VALORACION.- Los grupos funcionales importantes para el análisis son los siguientes:

- 1o.- El grupo [21-hidroxi-20-ona] (alfa-cetol) en C-17.
- 2o.- El grupo carbonilo $\alpha\beta$  no saturado en el anillo A.
- 3o.- El grupo [17, 21-dihidro-20-ona]
- 4o.- El oxígeno funcional en C-11.

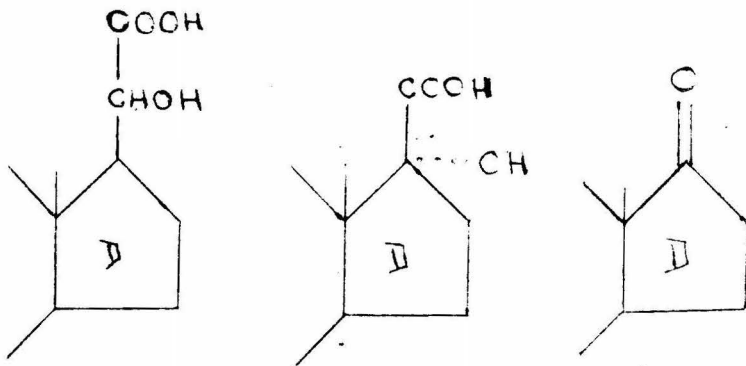
El sistema de cetona $\alpha\beta$  no saturada en el anillo A permite su determinación al ultravioleta, puesto que la doble ligadura conjugada con el grupo carbonilo produce un sistema cromóforo con absorción máxima entre 230 y 270  $m\mu$ . Sin embargo, es un grupo muy estable, por lo que no es conveniente para la determinación de la inestabilidad, al igual que el grupo del oxígeno en C-11, que es relativamente no reactivo, pero que en ciertas ocasiones se puede utilizar para la cuantificación al producir un cromógeno de absorción determinada (18).

Umberger (24) describió el método colorimétrico en que la

acetona insaturada, forma una hidrazona isonicotínica por reacción con la isoniácida. Se produce una hidrazona de color amarillo que absorbe con máximo a 405  $m\mu$  (25).

Otra técnica que cuantifica este mismo grupo es la que utiliza la 4-aminoantipirina, que produce un cromógeno de absorción máxima a 385  $m\mu$ .

La cadena lateral, que tiene la dehidroxi-acetona, o 17-alfa-cetol ha sido demostrada como la porción más lábil de la molécula de prednisona y que es oxidada para dar varios productos inactivos, que son:

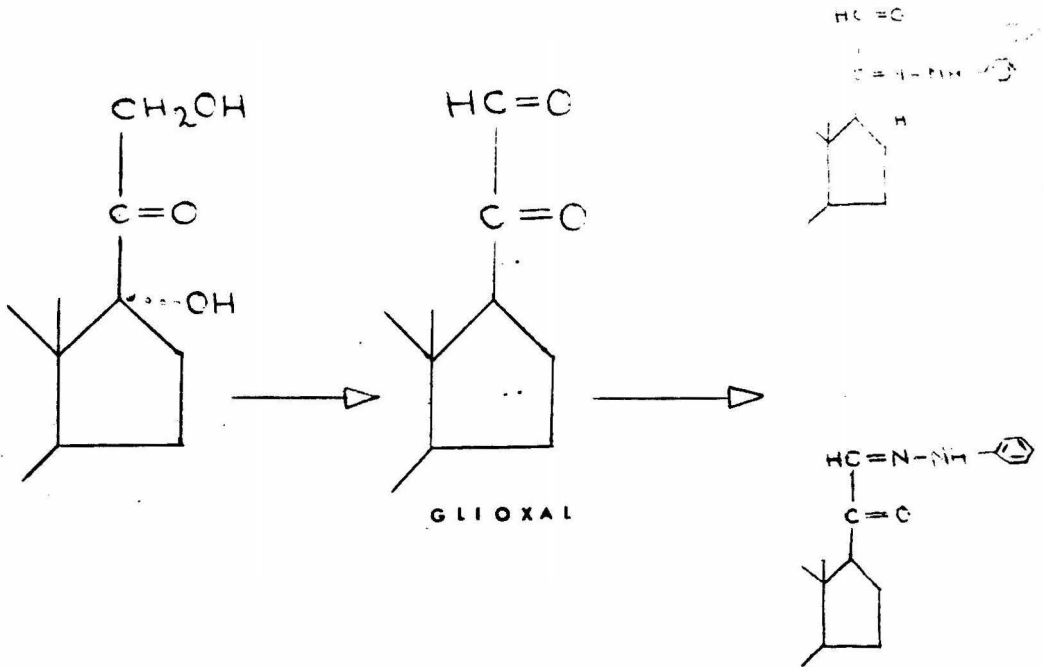


y que mantienen inalterado el anillo A (26).

Porter y Silber (27) describen un método usando fenilhidrazida ácido sulfúrico-alcohol, para producir, por la reacción con

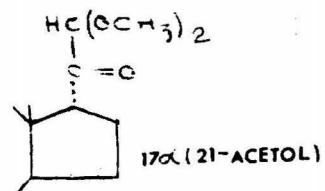
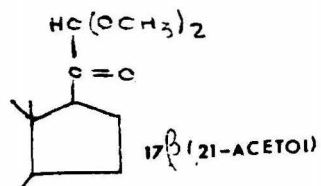
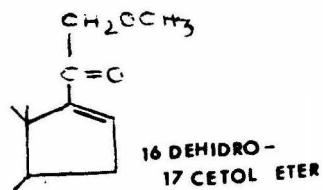
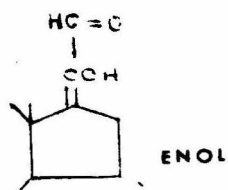
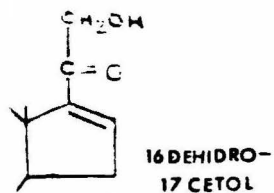
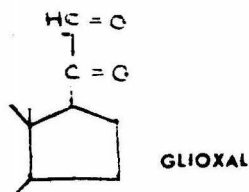
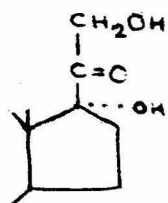
el grupo [17, 21-dehidroxi-20-ona] un cromógeno que da absorción máxima  $410m\mu$ . El cromógeno ha sido identificado como la 21-fenilhidrazona, formada después de un rearrreglo catalizado por el ácido (18), (26).

Lewbart y Marttox (29) sugieren que tanto el 17-hidroxi-cetol como el cetol se arreglan a 17-dioxiglixal y que los pasos de la reacción son:



ya que el ácido sulfúrico-alcohol produce los siguientes compuestos.





Lewbart y Marttox (30a), así mismo sugieren que los compuestos que atacan al lado de la cadena de la deshidroxi acetona sufren un arreglo de Marttox, con la producción de 20, 21-cetol y que este intermediario reacciona con la fenilhidrazona para formar la 21-fenilhidrozona, que es la responsable del color amarillo. El intermediario será un glioxal, que debe mantener el grupo OH en C-17 (30b).

Sin embargo, Barton, McMorris y Segovia (28), dan la 20 ceto esteroide 21 monofenilhidrazona sin el grupo [-OH] en C-17, e indican que el espectro que da, es muy similar tanto en ácido fuerte como en álcali, sugiriendo que se forman grupos cromóforos en los dos extremos de la escala de valores de pH.

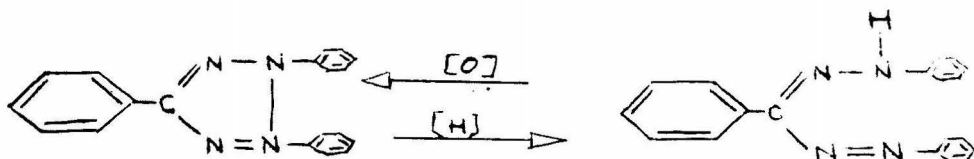
La reacción de fenilhidrozona parece ser específica para la función [17, 21-dehidroxi-20-ona] aunque la respuesta de color equivalente no se obtiene para todos los esteroides que contienen este grupo. Aparentemente, la producción de color está influenciada por la presencia de otros grupos funcionales en la molécula.

Los esteroides con el grupo [21 hidroxil-20-ona] pero sin un grupo hidroxilo en el carbono 17, reacciona con el reactivo para dar cromógenos con absorción máxima en el rango de 340 a 360m $\mu$  que no interfieren en las mediciones a 410m $\mu$  (18).

Como la reacción necesita calor, el reactivo ácido puede reaccionar dando color de productos no específicos de los excipientes (26), tales como fructuosa o ácido dehidroascórbico, por lo que se utiliza blanco de reactivo sin fenilhidrazina, para hacer la co-

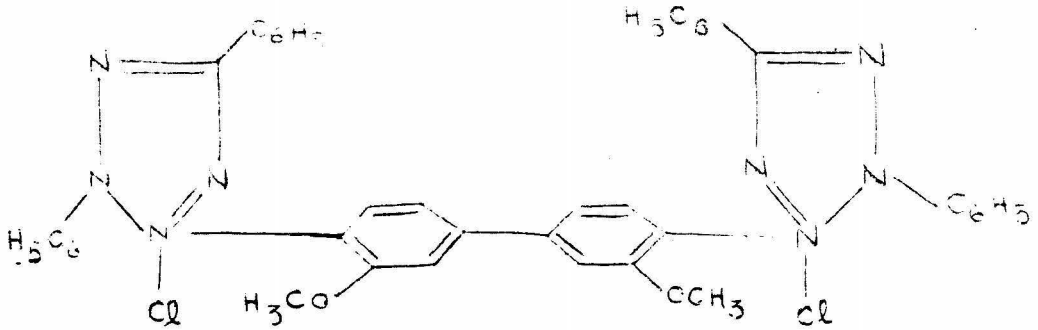
rección. La máxima lectura se observa a los 24 minutos, (27).

Otro grupo funcional que puede utilizarse para hacer la cuantificación es el Alfa-cetol (-CH-OH-CO-). Este grupo tiene propiedades reductoras que se aprovechan al hacerlo reaccionar con las sales de tetrazolio, para dar compuestos llamados formasanos, de color variado, según la sal utilizada. La reacción es:



(18, 26)

El azul de tetrazolio o cloruro de 3,3' dianisol-bis-4,4' - (3,5 difenil) tetrazolio, cuya fórmula es:



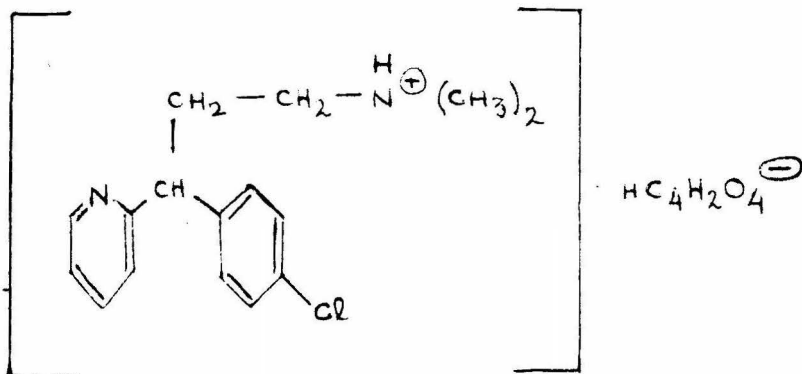
ha sido adoptado como reactivo en el método oficial.

Los azúcares reductores producen color con el azul de tetrazolio, por lo que deben eliminarse por extracción. La intensidad de color es mayor con el alfa-cetol que con cualquier otro grupo cetólico.

Mader y Buck indican que el color máximo se alcanza a los 35 minutos y dura una hora (19).

MALEATO DE CLORFENIRAMINA

El maleato de clorfeniramina es un antihistamínico, cuya fórmula es:



Se presenta como cristales blancos, inodoros, con un punto de fusión de 130-135°C.

Una parte se disuelve en 3.4 partes de agua, en 10 partes de alcohol y 10 partes de cloroformo. Es ligeramente soluble en benceno y éter. El pH de una solución acuosa al 2% es cercano a 5.

Como clorhidrato presenta absorción máxima a 264  $m\mu$  en ultra violeta.

Al infrarrojo, en disco de bromuro de potasio tiene los prin

cipales picos a 1,585  $\mu$ , 1,465  $\mu$  ó 1,530  $\mu$ .

Es uno de los más potentes antihistamínicos, cuya dosis letal en el hombre es de 5 a 10 mg/Kg.

La dosis media va de 2 a 8 mg, siendo generalmente de 4 mg orales, cuatro veces al día.

Aunque la forma activa es la dextrógira conocida como poláramina, la experimentación ha demostrado que se obtienen la misma actividad y los mismos efectos colaterales al administrar una mezcla racémica.

Los efectos laterales son: anorexia, xerostonía, dolor de cabeza y mareos.

Actúa previniendo o disminuyendo la acción de la histamina, que provoca espasmos bronquiales e intestinales, hipotensión, aumento de la permeabilidad capilar, ronchas y ardor cutáneo, por inhibición competitiva como demostró Wells (20), (21) y (23).

La descomposición del maleato de clorfeniramina sería por una ruptura de la cadena alifática, dando productos con fuerzas básicas y el coeficiente de partición en extracciones líquido-líquido sería diferente. Esto es aprovechado en técnica oficial de ensayo (22).

La técnica de análisis usada pertenece al grupo de métodos de colorantes ácidos para la estimación de bases nitrogenadas.

La adición de un exceso de un indicador de ácido a una solución de buffer adecuada que contenga una base orgánica y agi-

tando la mezcla con cloroformo, permiten la extracción cuantitativa de un compuesto de adición colorido, por el solvente orgánico. La distribución de la base entre agua y cloroformo es función del pH.

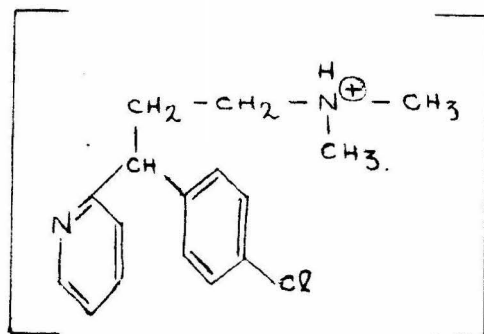
La base acuosa debe contener el buffer adecuado, de tal manera que evite la posibilidad de que trazas del exceso de indicador sean extraídas por el cloroformo (31).

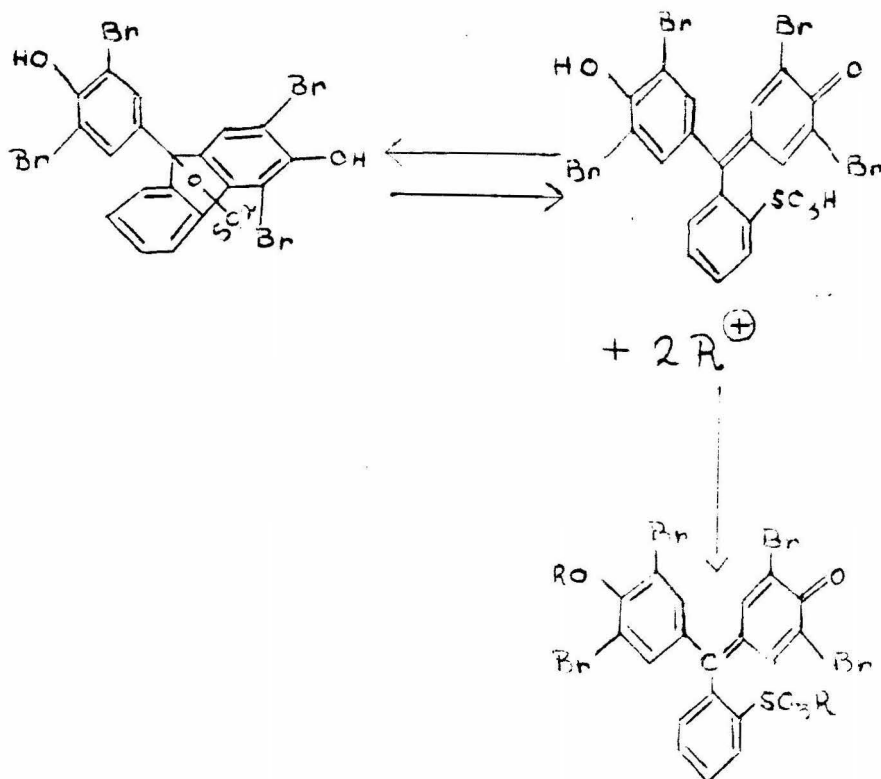
El aumento de la base reduce la solubilidad del colorante en agua.

En una disminución de la concentración de colorante, se altera la relación  $B : A$  que es constante y que, para que el método funcione correctamente debe ser igual o menor a 0.5, en el pH de trabajo (32).

Los estudios de Auerbach (33), muestran que el azul de bromofenol reacciona en una proporción de 1 molécula por cada 2 moléculas de sal de amonio cuaternario para que tenga efecto la reacción siguiente:

si  $R =$





Este colorante presenta color amarillo a pH 3 y morado a pH 4.6 .

La influencia del pH en este método es marcada. El pH preferido es el del rango de transición del colorante. En todo caso, la uniformidad del colorante es esencial y más importante que el valor absoluto del pH dentro de un estrecho rango. Se debe utilizar suficiente buffer para establecer el pH deseado y el



punto final de la reacción se indica por el aumento de color de la fase acuosa (34).

Normalmente se requiere el uso de un blanco en este tipo de ensayos. En este caso, los valores obtenidos sobre blanco son insignificantes y diferentes a los obtenidos con cloroformo (34).

CROMATOGRAFIA.- La cromatografía puede definirse como la técnica de separación de una mezcla de solutos, basándose en la diferencia de velocidades con que se mueve cada uno de los solutos a través de un medio poroso, arrastrados por un disolvente en movimiento.

Como en el sistema cromatográfico se establece el equilibrio muy rápidamente, se pueden llevar a cabo buenas separaciones en un tiempo muy corto.

La cromatografía puede ser de reparto o de adsorción, pero es muy difícil hacer una separación total entre los dos tipos, sobre todo en capa fina.

En la auténtica cromatografía de reparto, el único factor que incluyen en el movimiento de un compuesto a lo largo del soporte, es la solubilidad relativa de éste entre la fase móvil y la estacionaria. El medio poroso sirve únicamente como soporte.

Es muy importante recordar que la distribución de una sustancia entre dos disolventes inmiscibles no se afecta por la presencia de otras sustancias disueltas, hecho que se aprovecha en esta técnica cromatográfica (35).

En la cromatografía de adsorción, la base es el coeficiente de adsorción del compuesto y no es constante, pues varía con la concentración de la solución. Al diluir la solución la adsorción aumenta, de modo que al graficar la cantidad de compuesto adsorbido contra la concentración de la solución, se obtiene una gráfica parabólica que da un coeficiente de adsorción lineal para concentraciones bajas. Mientras más aguda sea la curva, más fueretemente es adsorbida la sustancia y consecuentemente la velocidad de corrimiento a través del adsorbente, por efecto del flujo del solvente será más lenta.

Por tanto, la fuerza de adsorción así como la velocidad de flujo del solvente afectan la velocidad a la cual se transporta el compuesto, a lo largo de la placa.

Después de poner la muestra sobre la placa, el cromatograma se desarrolla al ascender el solvente por la placa, debido a una atracción capilar.

A medida que el solvente se mueve sobre la mancha, el equilibrio se desplaza y los compuestos son desorbidos. El que sea menos soluble o este más adsorbido será el que se mueva más lentamente (14).

El material redisuelto se lleva al otro lado de la mancha donde el adsorbente fresco entra en contacto y una nueva adsorción tiene lugar bajo las nuevas condiciones de equilibrio. En cambio la composición de la solución en movimiento está continuamente cambiando por el intercambio de material entre el soporte

y el solvente. Cuanto más cerca estén los coeficientes de absorción o las solubilidades de los solutos de la mezcla, más difícil será separarlos, hasta el punto en que esas condiciones de trabajo no se puedan emplear (14).

Uno de los aspectos más importantes de la cromatografía es que en un sistema dado, el movimiento relativo de un compuesto con respecto al frente del disolvente es una propiedad característica y reproducible (35), siempre y cuando se trabaje con las mismas condiciones y utilizando el mismo material. En la cromatografía por placa fina esto es un poco difícil pues existen muchos factores que afectan esta relación, y que van desde el tamaño de partículas del soporte hasta la inclinación con que se coloca la placa a desarrollar. Sin embargo, en una misma placa dos muestras de la misma sustancia darán la misma relación de corrimiento además del mismo tipo de mancha tanto en forma como en color.



**F O R M U L A C I O N**

|                           |        |
|---------------------------|--------|
| PREDNISONA                | 2.5 mg |
| MALEATO DE CLORFENIRAMINA | 2.0 mg |
| EXCIPIENTE C.B.P.         | 225 mg |

PARTE EXPERIMENTAL

Para comprobar la estabilidad de las tabletas de prednisona y maleato de clorfeniramina se planeó el estudio a 60°C y 45°C, tomándose muestras, para la primer temperatura, cada mes y para la segunda a los 3 meses.

Las pruebas que se hicieron fueron físicas y químicas.

Dentro de las pruebas físicas están la determinación de dureza y tiempo de desintegración.

Para las químicas, se practicaron 2 técnicas para cuantificar prednisona, 1 técnica para maleato de clorfeniramina y 1 técnica cromatográfica para la separación y análisis de los dos principios activos dentro de la misma placa.

Las técnicas analíticas para prednisona son: Porter-Silber y Azul de Tetrazolio. Para el maleato de clorfeniramina es la técnica de Azul de Bromofenol.

Todas las determinaciones se hicieron sobre cuatro lotes A, B, C y D, preparados con los mismos materiales, equipo y técnica, siendo la única diferencia, que el lote D no contiene principios activos, por lo que es un placebo.

Además, se presentan los resultados de los análisis practicados sobre los lotes llamados 1 y 2, únicamente con una técnica para cada principio activo y sometidos a temperaturas y tiempos diferentes, en los que se observa que no hay descomposición.

## PRUEBAS FISICAS.

Dureza.- Se midió sobre 5 tabletas de cada muestra tomada por lote. Se usó el aparato para medir dureza, de Erweka. La tableta se somete a la presión de un punzón que desciende sobre ella y la fuerza es aplicada sobre un borde lateral, ya que la tableta se encuentra colocada en una pequeña canal, sobre su cara lateral o más angosta.

Tiempo de desintegración.- Se tomó sobre 6 tabletas de cada muestra sacada por lote. Se utilizó el aparato de canastilla - sin discos, de acuerdo a la técnica marcada por la U.S.P., a 37° C, en agua.

TABLA I

Valores obtenidos para la determinación de dureza efectuada en tabletas de prednisona y maleato de clorfeniramina, sometidas a 60°C durante 3 meses.

|                        | LOTE A                  | LOTE B                   | LOTE C                   | LOTE D                  |
|------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Inicial                | 8.75 Kg/cm <sup>2</sup> | 12.75 Kg/cm <sup>2</sup> | 12.60 Kg/cm <sup>2</sup> | 7.75 Kg/cm <sup>2</sup> |
|                        | 8.12                    | 11.25                    | 12.00                    | 8.00                    |
|                        | 7.00                    | 14.70                    | 10.50                    | 8.00                    |
|                        | 8.50                    | 11.37                    | 13.75                    | 8.00                    |
|                        | 8.37                    | 10.87                    | 14.75                    | 7.75                    |
| Mes 1 <sup>a</sup> 60° | 6.75 Kg/cm <sup>2</sup> | 11.25 Kg/cm <sup>2</sup> | 12.50 Kg/cm <sup>2</sup> | 4.75 Kg/cm <sup>2</sup> |
|                        | 7.00                    | 11.25                    | 7.75                     | 8.25                    |
|                        | 6.75                    | 2.00                     | 11.75                    | 7.50                    |
|                        | 5.25                    | 9.75                     | 13.50                    | 8.00                    |
|                        | 7.00                    | 11.00                    | 11.75                    | 8.00                    |
| Mes 2 <sup>a</sup> 60° | 4.50 Kg/cm <sup>2</sup> | 10.50Kg/cm <sup>2</sup>  | 5.50 Kg/cm <sup>2</sup>  | 5.50 Kg/cm <sup>2</sup> |
|                        | 6.75                    | 8.75                     | 10.25                    | 6.75                    |
|                        | 3.25                    | 4.75                     | 11.00                    | 6.75                    |
|                        | 6.50                    | 8.25                     | 13.75                    | 6.75                    |
|                        | 7.50                    | 10.00                    | 8.75                     | 6.75                    |
| Mes 3 <sup>a</sup> 60° | 6.00 Kg/cm <sup>2</sup> | 9.25 Kg/cm <sup>2</sup>  | 15.00 Kg/cm <sup>2</sup> | 7.25 Kg/cm <sup>2</sup> |
|                        | 4.50                    | 11.00                    | 12.50                    | 6.00                    |
|                        | 6.00                    | 10.75                    | 4.50                     | 6.00                    |
|                        | 7.25                    | 10.00                    | 4.50                     | 6.25                    |
|                        | 6.75                    | 10.00                    | 7.50                     | 5.00                    |



TABLA II

Valores obtenidos en la determinación de tiempo de desintegración para tabletas de prednisona y maleato de clorfeniramina, sometidas a 60°C durante 3 meses.

|                        | LOTE A        | LOTE B        | LOTE C        | LOTE D        |
|------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Inicial                | 1 min 20 seg. | 2 min 37 seg. | 1 min 10 seg. | 2 min 35 seg. |
| 1                      | 40            | 3 05          | 2 10          | 2 45          |
| 1                      | 50            | 3 00          | 2 40          | 3 10          |
| 2                      | 00            | 3 15          | 3 37          | 3 10          |
| 2                      | 00            | 3 45          | 3 08          | 3 20          |
| 2                      | 10            | 3 50          | 3 03          | 3 30          |
| Mes 1 <sup>a</sup> 60° | 2 min 10 seg. | 1 min 25 seg. | 4 min 20 seg. | 1 min 25 seg. |
| 2                      | 20            | 1 40          | 4 25          | 3 55          |
| 2                      | 20            | 2 50          | 4 30          | 4 35          |
| 2                      | 25            | 2 15          | 4 35          | 4 45          |
| 2                      | 30            | 2 30          | 4 40          | 4 50          |
| 2                      | 35            | 2 35          | 5 10          | 5 35          |
| Mes 2 <sup>a</sup> 60° | 1 min 05 seg. | 2 min 10 seg. | 1 min 00 seg. | 3 min 40 seg. |
| 1                      | 50            | 2 20          | 2 00          | 3 45          |
| 2                      | 00            | 2 45          | 3 50          | 4 10          |
| 2                      | 10            | 3 00          | 4 40          | 4 35          |
| 2                      | 15            | 3 10          | 5 15          | 4 40          |
| 2                      | 30            | 3 15          | 5 30          | 4 50          |

Mes 3a. 60° 2 min 10 seg. 3 min 10 seg. 3 min 30 seg. 2 min 35 seg.

|   |    |   |    |   |    |   |    |
|---|----|---|----|---|----|---|----|
| 2 | 25 | 3 | 15 | 4 | 30 | 4 | 05 |
| 2 | 45 | 4 | 00 | 4 | 40 | 4 | 10 |
| 2 | 45 | 4 | 05 | 5 | 40 | 4 | 40 |
| 2 | 50 | 4 | 40 | 6 | 45 | 4 | 45 |
| 3 | 15 | 4 | 50 | 7 | 05 | 5 | 00 |

CALIBRACION DE METODOS.

La calibración de los métodos principales, Azul de Bromofenol y Porter-Silber, se hizo utilizando cuatro datos que son cada uno el promedio de tres determinaciones simultáneas. Todas estas pruebas se hicieron para el mismo lote.

## A) AZUL DE BROMOFENOL.

|   |             |     |              |         |
|---|-------------|-----|--------------|---------|
|   | 2.05        | .05 | .0025        |         |
| + | 2.06        | .06 | .0036        |         |
|   | 1.96        | .04 | .0016        |         |
|   | <u>1.94</u> | .06 | <u>.0036</u> |         |
|   | 8.01        |     | <u>.0113</u> | = .0029 |
|   |             |     | 4            |         |

$\bar{x} = 2.00$

$$\sigma = \sqrt{.0029} = .054$$

$$e = \frac{.054}{1.73} = .031$$

$$\bar{x} \pm 1.96 \quad (.031)$$

$$2.00 \pm 1.96 \quad (.031)$$

Límites:      2.061  
                  1.939

b) PORTER-SILBER.

$$\begin{array}{r}
 2.57 \\
 + 2.56 \\
 2.34 \\
 \hline
 2.31 \\
 \hline
 9.78
 \end{array}$$

13  
12  
10  
11

$$\begin{array}{r}
 .0169 \\
 .0144 \\
 .0100 \\
 \hline
 .0169 \\
 \hline
 .0582 \\
 4 = .0145
 \end{array}$$

$$\bar{x} = 2.44$$

$$\sigma = \sqrt{.0145} = .120$$

$$e = \frac{.120}{n-1} = \frac{.120}{1.73} = .069$$

$$\bar{x} \pm 1.96 (.069)$$

$$2.44 \pm 1.96 (.069)$$

Límites: 2.575  
2.305

METODO DE ANALISIS POR LA TECNICA DE AZUL DE BROMOFENOL.

Se pesó una muestra de tabletas y se determinó el peso promedio. Se molieron y una fracción equivalente a 2 mg de maleato de clorfeniramina se colocó en un embudo de separación conteniendo 30 ml de solución buffer. Se agitó.

La solución buffer de pH 4 se preparó disolviendo 4.615 g de fosfato dibásico de sodio anhidro en 350 ml de agua y ajustando con solución saturada de ácido cítrico (aproximadamente 12 ml). Se diluyó a 500 ml con agua.

La solución de referencia se preparó con 50 mg del estándar de maleato de clorfeniramina en 250 ml de solución buffer, para tener aproximadamente 0.2 mg/ml.

Se tomaron 10 ml de esta solución de referencia, y se colocaron en un embudo de separación.

Tanto a la solución problema como a la estándar se agregaron 95 ml de cloroformo y 5 ml de solución de azul de bromofenol, preparada para tener una solución de más o menos 1 mg/ml de azul de bromofenol en cloroformo. Se agitó inmediatamente el embudo, por 2 minutos.

Se separaron las fases, pasando el extracto clorofórmico a través de una capa de sulfato de sodio.

Se tomó una alícuota de 25 ml del extracto clorofórmico y se aforó a 50 ml con cloroformo.

Se leyó la absorción al espectrofotómetro, entre 375 y -  
450 m $\mu$ , usando blanco de cloroformo y obteniendo el máximo a -  
410 m $\mu$ .

TABLA III

Valores obtenidos en la cuantificación de maleato de clorfeniramina, por la técnica de Azul de Bromofenol, para tabletas de maleato de clorfeniramina y prednisona, sometidas a 60°C durante 3 meses.

|        | Inicial | 1 mes   | 2 meses | 3 meses |
|--------|---------|---------|---------|---------|
| Lote A | 1.88 mg | 1.88 mg | 1.88 mg | 1.85 mg |
| Lote B | 1.97    | 1.98    | 1.98    | 2.00    |
| Lote C | 2.00    | 2.00    | 1.99    | 2.04    |

TABLA IV

Valores obtenidos en la cuantificación de maleato de clorfeniramina, por la técnica de Azul de Bromofenol, para tabletas de maleato de clorfeniramina y prednisona, sometidas a 45°C, durante 3 meses.

|        | Inicial | 3 meses |
|--------|---------|---------|
| Lote A | 1.88 mg | 1.84 mg |
| Lote B | 1.97    | 1.98    |
| Lote C | 2.00    | 2.03    |



METODO DE ANALISIS POR LA TECNICA DE PORTER-SILBER.

Para realizar este análisis, se preparó una solución blanca de reactivos, adicionando lentamente y con precaución, 120 ml de ácido sulfúrico a 80 ml de etanol, en un vaso de 500 ml agitando constantemente y dentro de un baño de hielo.

La solución de fenilhidrazina, se preparó disolviendo 65 mg de clorhidrato de fenilhidrazina en 100 ml de la mezcla de sulfúrico alcohol inmediatamente antes de usarse.

La solución estándar de prednisona se preparó disolviendo en alcohol, aproximadamente 100 mg de prednisona estándar y aforando a 100 ml. Se tomó una alícuota de 10 ml de esa solución y se diluyó a 200 ml con cloroformo, para tener una concentración final de aproximadamente 0.05 mg/ml.

Se pesaron 20 tabletas y se determinó el peso promedio. Se molieron y se utilizó una porción equivalente a 5 mg de prednisona, que se colocó en un embudo de separación de 125 ml conteniendo 25 ml de agua.

Después de una agitación vigorosa, se extrajo con 4 porciones de 20 ml de cloroformo, cada una, filtrando cada extracto a través de algodón con sulfato de sodio, recogiendo el filtrado en un matraz volumétrico de 100 ml. Se aforó con cloroformo.

Se tomaron dos alícuotas de 4 ml, que se colocaron, por separado, en matraces de 50 ml haciéndose lo mismo con la solución

estándar. Las soluciones de los 4 matraces se evaporaron a sequedad y se les adicionaron 2 ml de alcohol a cada uno.

Posteriormente, por parejas, se agregaron 20 ml de la mezcla de sulfúrico-alcohol a uno y 20 ml de solución de fenilhidrazona al otro, dejándolos a 60°C en el baño de agua, por 20 minutos. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente y la lectura se hizo en espectrofotómetro, de 250 a 450 m $\mu$ , usando blanco de alcohol. La absorción máxima fue a 410 m $\mu$ .

Para hacer los cálculos, se restó el valor obtenido para el matraz preparado con la mezcla de sulfúrico-alcohol, del valor encontrado para el matraz de la solución de fenilhidrazina.

TABLA V

Valores obtenidos en la cuantificación de prednisona, por la técnica de Porter-Silber, para tabletas de maleato de clorfeniramina y prednisona, sometidas a 60°C durante 3 meses.

|        | Inicial | 1 mes   | 2 meses | 3 meses |
|--------|---------|---------|---------|---------|
| Lote A | 2.48 mg | 2.49 mg | 2.44 mg | 2.16 mg |
| Lote B | 2.42    | 2.52    | 2.41    | 2.19    |
| Lote C | 2.44    | 2.50    | 2.43    | 2.11    |

-----

TABLA VI

Valores obtenidos en la cuantificación de prednisona, por la técnica de Porter-Silber, para tabletas de maleato de clorfeniramina y prednisona, sometidas a 45°C durante 3 meses.

## PORTER-SILBER 45°C

|        | Inicial | 3 meses |
|--------|---------|---------|
| Lote A | 2.48 mg | 2.50 mg |
| Lote B | 2.42    | 2.47    |
| Lote C | 2.44    | 2.48    |

METODO DE ANALISIS POR LA TECNICA DE AZUL DE TETRAZOLIO

Para preparar la solución estandar de referencia de prednisona, se pesaron aproximadamente 10 mg del estandar y se llevaron a 100 ml, teniendo así una concentración de 0.1 mg/ml aproximadamente.

Se pesaron 20 tabletas y se determinó el peso promedio. Se molieron finamente, utilizándose el equivalente a 10 mg de prednisona, que se colocó en un embudo de separación de 125 ml con 10 ml de agua. Se hicieron 3 extracciones con 25 ml de cloroformo - cada una y además una última de 20 ml recogiendo los extractos en un matraz aforado de 100 ml después de filtrarlos a través de sulfato de sodio. Se llegó al volumen.

Se tomaron 10 ml tanto de la solución problema como de la estandar y se evaporaron a sequedad. El residuo se recuperó con 5 ml de una mezcla de cloroformo-agua en partes iguales. Se tomó un mililitro de estas soluciones y se aforaron a 25 ml con alcohol.

Se colocó en matraces de 25 ml opacos, una alícuota de 20 ml de la solución y se adicionaron 2 ml de solución de azul de tetrazolio en 10 ml de metanol, y 2 ml de solución de hidróxido de tetrametilamonio, resultado de mezclar un volumen de solución reactivo de hidróxido de tetrametilamonio con nueve de metanol.

Se preparó blanco de reactivos.

Se dejaron reposar los matraces, en la obscuridad, para desarrollo de color, durante 90 minutos exactamente.

Se leuó a 525 m *M* el máximo.

TABLA VII

Valores obtenidos en la cuantificación de prednisona, por la técnica de Azul de Tetrazolio, para tabletas de maleato de clorfeniramina y prednisona, sometidas a 60°C durante 3 meses.

|        | Inicial | 1 mes   | 2 meses | 3 meses |
|--------|---------|---------|---------|---------|
| Lote A | 2.45 mg | 2.44 mg | 2.45 mg | 2.13 mg |
| Lote B | 2.42    | 2.40    | 2.43    | 2.20    |
| Lote C | 2.44    | 2.41    | 2.45    | 2.11    |

- - - - -

METODO DE ANALISIS POR LA TECNICA DE CROMATOGRAFIA  
EN PLACA FINA.

Se pesaron 20 tabletas y se determinó el peso promedio. Se molieron y una porción equivalente a 10 mg de prednisona (8 mg de maleato de clorfeniramina), se pasó a un embudo de separación de 125 ml, conteniendo 10 ml de agua. Después de dispersar las partículas se hicieron 3 extracciones con porciones de 25 ml de cloroformo y una con 20 ml filtrando los extractos clorofórmicos por sulfato de sodio. Se aforó a 100 ml.

Se evaporó una alícuota de 40 ml, hasta sequedad. El residuo se recuperó con 2 ml de cloroformo.

La solución de referencia se preparó con 20 mg de prednisona estandar y 16 mg de maleato de clorfeniramina estandar, en 10 ml de cloroformo, para tener concentraciones aproximadas de 2 mg y 1.6 mg respectivamente.

El desarrollo se hizo en placas de sílica gel G F, de 250 micrones de espesor, de 20 x 20 cm en 5 carriles, siendo uno blanco.

Se aplicaron 50  $\mu$ l de cada solución utilizando acetato de etilo como fase móvil. Se dejaron correr aproximadamente 16 cm. Se dejaron secar y se observaron bajo luz ultravioleta. La mancha superior corresponde a la prednisona y la inferior al maleato de clorfeniramina.

Se rasparon las zonas marcadas y se colocaron en tubos de -



centrífuga.

A los tubos que contenían las zonas de prednisona y su blanco, se les agragó 8 ml de metanol.

A los tubos de maleato de clórfeniramina se les agregaron - 8 ml de ácido clorhídrico 0.1N, con lo que se obtendrá el clorhidrato de clorfeniramina.

Se agitaron y centrifugaron.

Después de ajustar con el blanco correspondiente, los tubos de prednisona se leyeron a 238 $\mu$  y los de clorhidrato de clorfeni ramina a 264 $\mu$ .

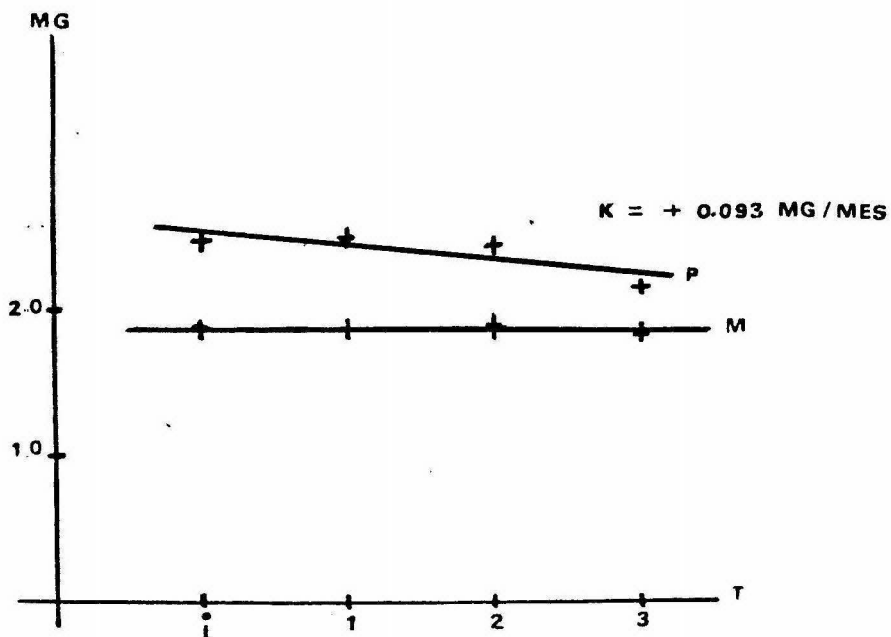
TABLA VIII

Valores obtenidos en la cuantificación por cromatografía en placa fina de prednisona y maleato de clorfeniramina, en tabletas, sometidas a 60°C durante 3 meses.

|        |               | Inicial | 1 mes   | 2 meses | 3 meses |
|--------|---------------|---------|---------|---------|---------|
| Lote A | P             | 2.45 mg | 2.33 mg | 2.40 mg | 2.25 mg |
|        | MC            | 1.88    | 1.89    | 1.85    | 1,87    |
|        | Rf Prednisona | 537     | 549     | 527     | 552     |
|        | Rf Maleato    | 0       | 0       | 0       | 0       |
| Lote B | P             | 2.43    | 2.34    | 2.37    | 2.30    |
|        | MC            | 1.98    | 1.98    | 2.02    | 2.0     |
|        | Rf Prednisona | 547     | 580     | 575     | 552     |
|        | Rf Maleato    | 0       | 0       | 0       | 0       |
| Lote C | P             | 2.44    | 2.41    | 2.36    | 2.26    |
|        | MC            | 2.01    | 1.99    | 2.04    | 2.1     |
|        | Rf Prednisona | 886     | 561     | 556     | 552     |
|        | Rf Maleato    | 0       | 0       | 0       | 0       |

-----

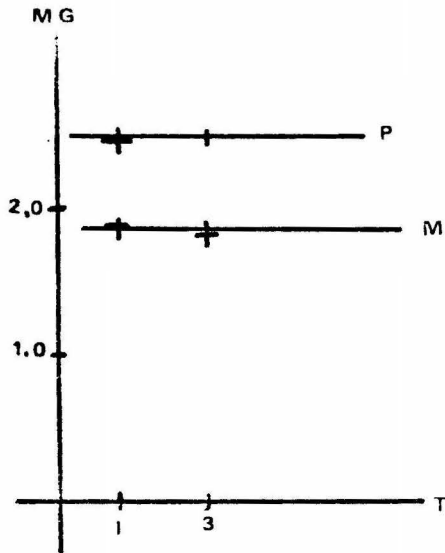
| LOTE A<br>60°C | PREDNISONA |      | MALEATO DE<br>CLORFENIRAMINA |      |
|----------------|------------|------|------------------------------|------|
|                |            |      |                              |      |
|                | INICIAL    | 2.48 |                              | 1.87 |
|                | 1 MES      | 2.49 |                              | 1.87 |
|                | 2 MESES    | 2.44 |                              | 1.88 |
|                | 3 MESES    | 2.16 |                              | 1.85 |



GRAFICA 1

NOTE A  
45°C

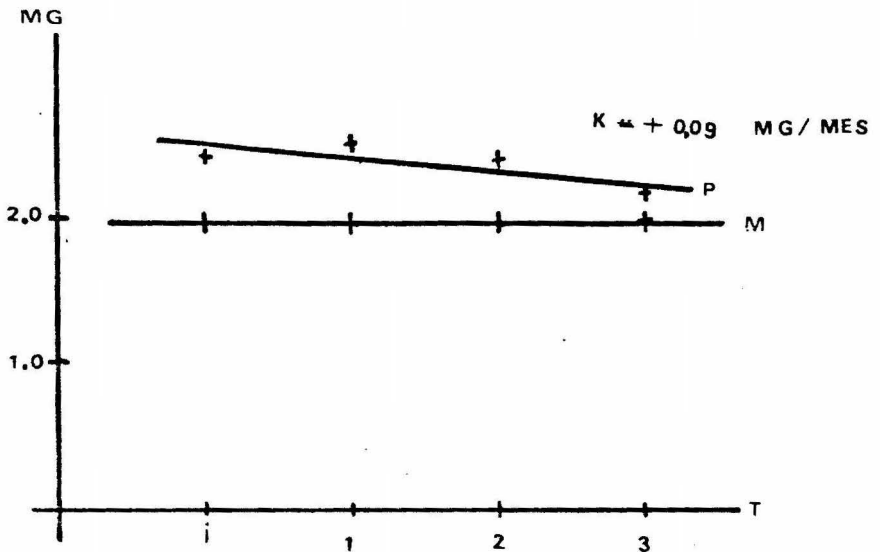
|         | PREDNISONA | MALTEATO DE CLORFENIRAMINA |
|---------|------------|----------------------------|
| INICIAL | 2.48       | 1.87                       |
| 3 MESES | 2.50       | 1.84                       |



GRAFICA 2

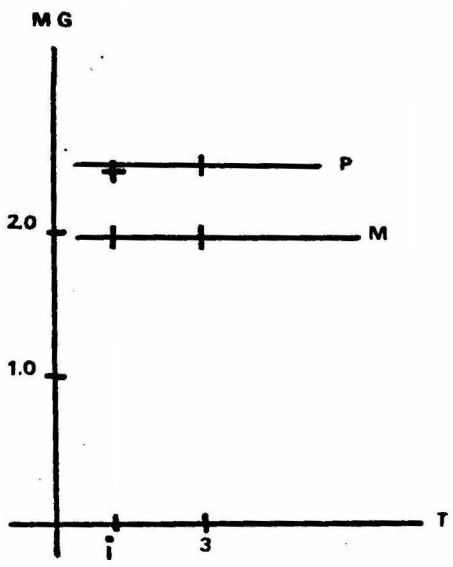
LOTE B  
60° C

|         | PREDNISONA | MALEATO DE CLORFENIRAMINA |
|---------|------------|---------------------------|
| INICIAL | 2,42       | 1,97                      |
| 1 MES   | 2,52       | 1,98                      |
| 2 MESES | 2,41       | 1,98                      |
| 3 MESES | 2,19       | 2,00                      |



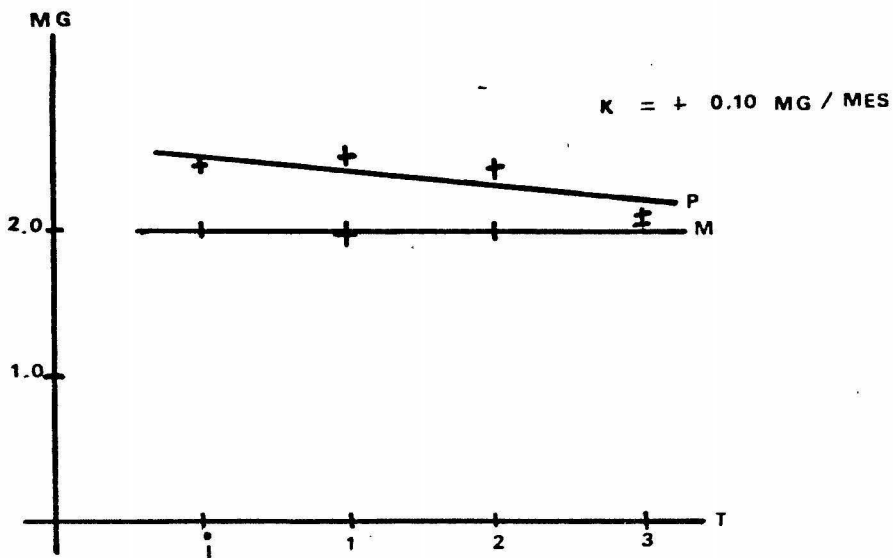
GRAFICA 3

| LOTE B<br>45°C | INICIAL<br>3 MESES | PREDNISONA | MALEATO DE<br>CLORFENIRAMINA |
|----------------|--------------------|------------|------------------------------|
|                |                    | 2.42       | 1.97                         |
|                | 2.47               | 1.98       |                              |



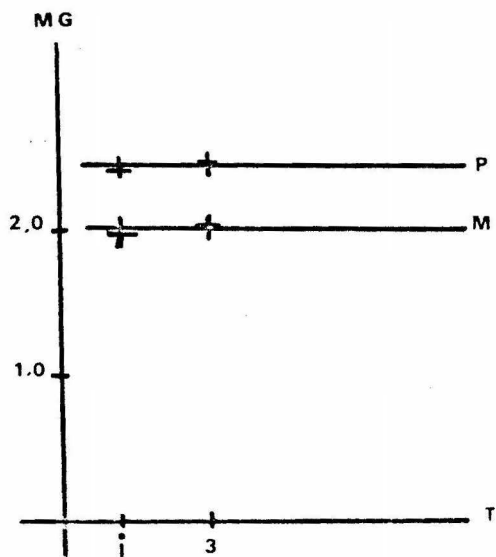
GRAFICA 4

| LOTE C<br>60° C | PREDNISONA |      | MALEATO DE<br>CLORFENIRAMINA |      |
|-----------------|------------|------|------------------------------|------|
|                 | INICIAL    |      |                              |      |
|                 | INICIAL    | 2,44 |                              | 2,00 |
|                 | 1 MES      | 2,50 |                              | 1,99 |
|                 | 2 MESES    | 2,43 |                              | 2,00 |
|                 | 3 MESES    | 2,11 |                              | 2,04 |



GRAFICA 5

| LOTE C | INICIAL | PREDNISONA       | MALEATO DE CLORFENIPAMINA |
|--------|---------|------------------|---------------------------|
|        |         | 45 <sup>OC</sup> | 3 MESES                   |
|        |         | 2.48             | 2.03                      |



GRAFICA 6



Cálculo de la constante de degradación, a 60°C, para prednisona, en tabletas de prednisona y maleato de clorfeniramina, donde:

K = constante de degradación

Co = concentración inicial

C = concentración final

T = tiempo transcurrido

$$K_{60^{\circ}\text{C}} = \frac{C_0 - C}{t}$$

Según gráfica No. 1

$$\text{Lote A} \quad \frac{2.52 - 2.36}{1.72} = .093$$

Según la gráfica No. 3

$$\text{Lote B} \quad \frac{2.4 - 2.34}{.66} = 0.090$$

Según la gráfica No. 5

$$\text{Lote C} \quad \frac{2.42 - 2.4}{2} = 0.10$$

Por lo tanto:

$$K_{60^{\circ}\text{C}} = 0.094 \text{ mg/mes}$$

De acuerdo con lo anterior, y siendo la vida de anaquel igual

a:

$$t_{90} = \frac{.1(C_0)}{K}$$

donde:

$t_{90}$  = tiempo que tarda el fármaco en llegar al 90% de su concentración inicial.

$C_0$  = Concentración inicial

$K$  = Constante de degradación

Si:  $K_{60^\circ\text{C}}$  = 0.094 mg/mes para prednisona,

$$t_{90} = \frac{.1 (2.5)}{.094}$$

$$t_{90} = 2.59 \text{ meses}$$

TABLA IX

Valores obtenidos en la cuantificación de maleato de clorfeniramina por la técnica de Azul de Bromofenol, para los lotes sometidos a diferentes temperaturas.

## Lote I

|                       | Inicial | 3 meses | 16 meses | 24 meses |
|-----------------------|---------|---------|----------|----------|
| Temperatura ambiente. | 1.97 mg | 2.09 mg | 2.08 mg  | 2.06 mg  |
| 35°C                  | 1.97    | 2.08    | 2.03     |          |
| 45°C                  | 1.97    | 2.00    |          |          |

## Lote II

|                       |      |      |      |      |
|-----------------------|------|------|------|------|
| Temperatura ambiente. | 1.97 | 2.08 | 2.06 | 2.05 |
| 35°C                  | 1.97 | 2.06 | 2.03 |      |
| 45°C                  | 1.97 | 2.06 |      |      |

El error del método es de  $\pm 0.061$  mg, para un 95%.

TABLA X

Valores obtenidos en la cuantificación de prednisona, por la técnica de Porter-Silber, para dos lotes sometidos a diferentes temperaturas.

## Lote I

|                       | Inicial | 3 meses | 16meses | 24 meses |
|-----------------------|---------|---------|---------|----------|
| Temperatura ambiente. | 2.48 mg | 2.32 mg | 2.70 mg | 2.70 mg  |
| 35°C                  | 2.48    | 2.33    | 2.72    |          |
| 45°C                  | 2.48    | 2.52    |         |          |

## Lote II

|                       |      |      |      |      |
|-----------------------|------|------|------|------|
| Temperatura ambiente. | 2.58 | 2.85 | 2.70 | 2.69 |
| 35°C                  | 2.58 | 2.84 | 2.71 |      |
| 45°C                  | 2.58 | 2.75 |      |      |

El error del método es de  $\pm 0.135$  mg, para un 95%.



En base a todo lo anterior, podemos considerar que:

- 1) Las pruebas de estabilidad son de gran importancia, tanto para el fabricante como para el consumidor.
- 2) Las pruebas de estabilidad aceleradas ahorran tiempo, trabajo y costo.
- 3) El estudio acelerado no sustituye al estudio a temperatura ambiente, en tanto no exista éste último como antecedente.
- 4) Es necesario un método de análisis adecuado.

Sobre el estudio realizado en las tabletas concluimos:

- 1) El orden de reacción de la descomposición de la prednisona es cero, como corresponde a los sólidos.
- 2) No hay descomposición del maleato de clorfeniramina, cuando menos hasta las condiciones del estudio.
- 3) La constante de la velocidad de descomposición de la prednisona a 60°C por ser la que se puede calcular es 0.094 mg/mes.
- 4) No se puede calcular la velocidad de descomposición del maleato de clorfeniramina, pero se supone es de orden cero.
- 5) La vida anaquel a 60°C, sería de 2.59 meses, lo que llevado a 25°C daría un tiempo muy superior al que se espera dure un producto almacenado.

- 6) No se necesita adicionar de exceso de principios activos en la formulación, para prolongar la vida del producto, por no haber una degradación significativa.
- 7) Un estudio a temperatura más alta no sería posible, pues el material del empaque final no lo soportaría.
- 8) Todos los métodos analíticos empleados son válidos para estudios de estabilidad.
- 9) La selección del método de análisis más conveniente dependerá del equipo disponible y las condiciones de trabajo. Sin embargo consideramos que el método de azul de tetrazolio para prednisona requiere mayor cuidado en el trabajo, sobre todo en el tiempo de desarrollo de color y un número mayor de interferencia posible; la técnica de la placa debe ser trabajada con mucha precisión pues las cantidades son muy pequeñas, además de que, cuando menos para tan poca degradación, no se observa objetivamente cambio en las manchas o la aparición de otra.
- 10) En las condiciones en que se desarrolló este trabajo, se considera el método de Porter-Silber como el mejor para la cuantificación de prednisona, teniendo como límite de confiabilidad  $\pm 0.135$  mg para 95% de probabilidades y siendo su única desventaja el peligro de manejar la mezcla ácido-sulfúrico-alcohol.
- 11) Para cuantear el maleato de clorfeniramina, la técnica

ca de Azul de Bromofenol es la más adecuada y tiene como límites de confianza  $\pm 0.06$  mg para 95% de confiabilidad.

- 12) De acuerdo con los datos obtenidos, se observa que cuando los análisis se realizan por una misma persona y bajo las mismas condiciones, los resultados son más uniformes, lo que es una ventaja del estudio acelerado.





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

- 1.- Graham Joseph H. Some aspects of the problem of drug stability. FDA. Drug Industry. Texas. Feb. 1971.
- 2.- Meyers Earl. Drug stability and quality control. The fifth Annual Federal Services Pharmaceutical Seminar. Washington. Nov. 1966.
- 3.- Brassen Jonas L. Expiration dating. The fourth Annual Quality Control Seminar for the Food, Drug and Cosmetic Industries. New Jersey. Marzo 1972.
- 4.- Tardif Pearl. Stability of drugs and drug products. Frank W. Horner Laboratories. Canadá.
- 5.- Guidelines-Manufacturina and Controls for IND's and NDA's (Excerpt) FDA/PMA Committee.
- 6.- Cooper Jack. The role of contralled, accelerated, environmental conditions in scientific stability testing. Seminar on drug stability as affected by environment and containers. FDA/University of Connecticut. Washington. Nov. 1967.
- 7.- Weiss Peter J. Stability and expiration dating. The Manufacturing Controls Seminar, Proprietary Association

- FDA. New Jersey. Oct. 1971.
- 8). Carstensen Jans Thur, Methods of stability prediction  
The Manufacturin Controls Seminar, Proprietary Association/  
FDA. New Jersey. Oct. 1971.
- 9). French W.N., Stability of drug and drug products.  
Department of Health and Welfare, Health Production  
Branch. Canadá.
- 10). Tardif Peal., Reliability of accelerated-storage test  
to predict stability of Vit. A, B, C in tablets  
J. Pharm. Sci. 54 : 281 (1965).
- 11). Garrett Edwar R., Prediction of stability of drugs and  
pharmaceutical preparations.  
J. Pharm. Sci. 51 : 811 (1962).
- 12). Chace, Deno, Osol y colaboradores.  
Remington's Pharmaceutical Sciences 14a Ed.  
Marck Publishing Co. U.S.A. 1970.
- 13). Tingstad James E., Physical Stability Testing of  
Pharmaceuticals.  
J. Phar. Sci. 53 : 955 (1964).
- 14). Kicheer Justus G., Thin-layer Chromatography.  
Interscience Publishers. U.S.A. 1967.
- 15). Good Manufacturing. Practice Regulations, Federal

Register. Enero 1971.

- 16). Iachman, I; Lieberman, H.A.; Kanig, J.L.  
The Theory and Practice of Industrial Pharmacy  
Lea & Tebiger U.S.A. 1970.
- 17). Martin, Alfred N. Principios de Fisicoquímica,  
para Farmacia y Biología. Editorial Alhambra, S.A.  
España 1967.
- 18). Higuchi T. and Brochmann-Hanssen. Pharmaceutical  
Analysis. Interscience Publishers, John Wiley  
and Sons U.S.A. 1961.
- 19). Mader, W. and Buck, R.R., Colorimetric  
determination of cortisone and related ketol steroids.  
Anal. Chem. 24 : 666 (1952)
- 20). Clarke, E.G.C., Isolation and Identification of  
Drugs. The Pharmaceutical Press. London, 1969.
- 21). The Merck Index. An encyclopedia of chemicals and  
drugs. 8a. Ed. Merck & Co. Inc. U.S.A. 1968.
- 22). The United States Pharmacopeia. XVIII Revision  
1970.
- 23). Osol, Pratt y Altschule. The United States

Dispensatory and Physicians' Pharmacology. 26th.  
Edition. J.B. Lippincott Company U.S.A. 1967.

24). Umberger.

Anal. Chem. 27 : 768 (1955)

25). Klaus Florey. Analytical Profiles of drug substances.

Volumen I. Academic Press. U.S.A. 1972.

26). Chafets Lester. Stability Indicating Assay Methods for  
drug and their dosage forms.

Y. Pharm. Sci. 60 : 3 (1971).

27). Porter, Curt C. y Silber, Robert H. A. quantitative  
color reaction for cortisone and related 17, 21 dihy-  
droxy 20 ketosteroids.

J. Bio. Chem. 185 : 201 (1956)

28). Barton, D.H.R., Mc. Morris T.C. y Segovia, R.

J. Chem. Soc. 2027 (1961).

29). Lewbart y Marttox. Extension of the Porter-Silber  
reaction to 17 deoxy alpha ketolic steroids.

Anal. Chem. 33 : 559 (1961).

30). Lewbart y Marttox. The Mechanismo of the Porter-Silber  
reaction. a) Rearrangement of the dihydroxyacetone group  
of steroids. b) Formation of 17 deoxysteroidal 21 pheny  
lhy-drazones.

- J. Arg. Chem. 29 : 3 (1964).
- 31). Thomis, George N. y Kotions, Alexandr Z. Influence of organic bases on the partition of indicator acids (and vice-versa) in a water-chloroform system.  
Anal. Chem. Ac. 14 : 457 (1956).
- 32). Thomis, George N. y Kotions, Alexander Z. Limites de pH concernant l'emploies amph-indicateurs en alcali-acideimetric biphasi.  
Anal. Chem. Ac. 14: 11 (1956).
33. Auerbach, M.E. Germicidal quaternary ammonium salts in dilute solution.  
Ind. and, Eng. Chem. 15 : 492 (1943)
- 34). Boath, Rober E. Determination of reserpine in pharmaceutical preparations.  
J. Am. Pharm. As. Sci. Ed. 44 : 568 (1955).
- 35). Abbott, David y Andrews, R.S. Introducción a la cromatografía. Editorial Alhambra, S.A. la.-Ed. España, 1966.