

Nº 50  
2 EJ.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO  
PARA DETERMINAR METILBROMURO DE MEPENZOLATO EN  
UNA SUSPENSION ORAL QUE TAMBIEN CONTIENE  
FURAZOLIDONA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
M A R T H A G A R C I A



MEXICO, D. F.

ENERO DE 1992

FALLA DE ORIGEN



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

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

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

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

## INDICE

	Página
I.- INTRODUCCION.....	1
II.- GENERALIDADES.....	3
2.1.- Fármacos anticolinérgicos.....	4
2.2.1.- Mecanismo de acción de fármacos anticolinérgicos...	7
2.2.- Monografía de Metilbromuro de Mepenzolato.....	8
2.2.1.- Nombres químicos.....	8
2.2.2.- Nombre genérico.....	8
2.2.3.- Fórmula condensada.....	8
2.2.4.- Fórmula desarrollada.....	8
2.2.5.- Peso molecular.....	8
2.2.6.- Sinónimos.....	8
2.2.7.- Descripción.....	9
2.2.8.- Solubilidad.....	9
2.2.9.- Identificación.....	9
2.2.10.- Métodos de valoración.....	9
2.2.11.- Farmacodinamia.....	10
2.2.12.- Farmacocinética.....	10
2.2.13.- Usos.....	11
2.2.14.- Efectos colaterales.....	11
2.2.15.- Formas dosificadas.....	12
2.2.16.- Vía de administración.....	12
2.2.17.- Dosis.....	13
2.2.18.- Contraindicaciones.....	13
2.3.- Validación de métodos analíticos.....	13
2.3.1.- Especificidad del método.....	14
2.3.2.- Linealidad del sistema.....	15
2.3.3.- Repetibilidad del sistema.....	19
2.3.4.- Linealidad del método.....	20
2.3.5.- Exactitud del método.....	21

2.3.6.- Repetibilidad y reproducibilidad del método.....	23
2.3.7.- Estabilidad de las soluciones obtenidas en el proceso de análisis.....	26
2.4.- Método del colorante ácido.....	29
III.- PARTE EXPERIMENTAL.....	33
3.- Trabajo experimental.....	33
3.1.- Método analítico.....	33
3.1.1.- Reactivos.....	33
3.1.2.- Preparación de la solución de referencia.....	34
3.1.3.- Preparación de la solución de la muestra.....	34
3.1.4.- Procedimiento.....	34
3.1.5.- Cálculos.....	35
3.2.- Validación del método analítico.....	36
3.2.1.- Especificidad del método.....	36
3.2.2.- Linealidad del sistema.....	37
3.2.3.- Repetibilidad del sistema.....	37
3.2.4.- Linealidad del método.....	37
3.2.5.- Exactitud del método.....	37
3.2.6.- Repetibilidad del método.....	38
3.2.7.- Reproducibilidad del método.....	38
3.2.8.- Estabilidad de las soluciones obtenidas en el proceso de análisis.....	38
IV.- RESULTADOS.....	40
4.1.- Especificidad del método.....	40
4.2.- Linealidad del sistema.....	43
4.3.- Repetibilidad del sistema.....	46
4.4.- Linealidad del método.....	47
4.5.- Exactitud del método.....	51
4.6.- Repetibilidad del método.....	51
4.7.- Reproducibilidad del método.....	52

<b>4.8.- Estabilidad de las soluciones obtenidas en el proceso de análisis.....</b>	<b>53</b>
<b>V.- CONCLUSIONES.....</b>	<b>56</b>
<b>VI.- BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>59</b>

## I. - INTRODUCCION

La propiedad de bloquear los impulsos colinérgicos posganglionares reside especialmente en una serie de alcaloides naturales (Atropina, Hiosciamina y Escopolamina) que se encuentran en vegetales de la familia de las Solanáceas. Estos alcaloides poseen acciones múltiples sobre distintos sistemas orgánicos, muchas de las cuales constituyen efectos colaterales indeseables cuando se desea actuar en una estructura determinada. Por esta razón, se han sintetizado compuestos como el Metilbromuro de Mepenzolato, para obtener una acción selectiva a nivel del tracto gastrointestinal bajo.

El propósito de este trabajo fue desarrollar y validar un método de análisis para cuantificar Metilbromuro de Mepenzolato en una suspensión oral que también contiene Furazolidona. Este estudio se realizó porque no hay un método oficial que permita su determinación en esta forma farmacéutica y además al aplicar el método descrito en la USP XX, para la valoración de Metilbromuro de Mepenzolato, en las formas farmacéuticas de solución oral y de tabletas, se obtuvieron resultados bajos. Probablemente con este método existe alguna interferencia debida a los excipientes o a la presencia de la Furazolidona en el producto.

Con base en la propiedad que tiene el Metilbromuro de Mepenzolato de reaccionar con un colorante ácido (Purpura de Bromocresol) para formar un par iónico de color amarillo, el cual es soluble en Cloroformo, se aplicó el Método del Colorante Acido. En esta etapa de formación del par iónico en la fase cloroformica, se determinaron las absorbancias de dos soluciones correspondientes a la Sustancia de Referencia y a la muestra problema, respectivamente. Las absorbancias medidas a 420 nm fueron semejantes en el estándar y en el problema, pero al obtener los espectros de absorción a un intervalo de longitudes de onda entre 360 nm y 480 nm, el problema no presentó un pico de máxima absorción que si presentó el estándar a 420 nm. Como consecuencia de esto, fue necesario efectuar una segunda etapa de extracción, que consistió en tratar la fase cloroformica con una solución diluida de Hidróxido de Sodio para

extraer la sal sódica del colorante, que permanece en la fase acuosa impartiendo un color morado. La intensidad de color de esta sal se determina en la región visible del espectro a una longitud de onda de aproximadamente 590 nm y así se obtiene de modo indirecto, la concentración de Metilbromuro de Mepenzolato que se liberó en la fase orgánica.

El método anterior se validó realizando el estudio estadístico, lo que implicó determinar los siguientes parámetros analíticos: especificidad, linealidad, exactitud, repetibilidad, reproducibilidad y estabilidad de las soluciones obtenidas en el proceso de análisis. Los resultados obtenidos mostraron que el método es confiable y aplicable al control de calidad del producto farmacéutico.

## II.- GENERALIDADES

Los nervios colinérgicos inervan el músculo liso y las glándulas exocrinas. Como las terminales nerviosas no hacen contacto directo con las células de estos dos sistemas orgánicos, se requiere de un neurotransmisor que lleve al impulso nervioso a través de la hendidura sináptica que separa las terminaciones nerviosas de las células del músculo liso y de las glándulas exocrinas. Este neurotransmisor es la Acetilcolina<sup>11</sup>, que al ser liberada en la hendidura sináptica, produce cambios en la estructura molecular de los receptores específicos que se encuentran en la membrana postsináptica (células efectoras musculares y glandulares) y se une a ellos. Esta unión altera la permeabilidad de la membrana celular originando dos tipos de procesos: a) un aumento en la entrada de los iones Sodio al interior de la célula, lo cual provoca el potencial postsináptico excitador por despolarización de la membrana y b) un incremento en la salida de los iones Potasio que da lugar al potencial postsináptico inhibitor por hiperpolarización de la membrana, para producir una estabilización de la misma e impedir una despolarización eventual<sup>21</sup>.

La actividad postsináptica aparece cuando el potencial postsináptico excitador alcanza un nivel crítico y da origen a un potencial de acción propagado en la célula efectora, lo que conduce a una estimulación de ésta en forma de contracción muscular o secreción glandular. En el caso del potencial postsináptico inhibitor, la hiperpolarización y la estabilización de la membrana causan la inhibición de la estructura implicada<sup>21</sup>.

Para un flujo ordenado de impulsos que ocurran del nervio al músculo o a la glándula, el transmisor químico debe ser destruido después de interactuar con su receptor y la disociación subsecuente del complejo receptor-agonista. La Acetilcolina es removida de la sinápsis por medio de una hidrólisis catalizada por la enzima Acetilcolinesterasa<sup>11</sup>.

El sistema nervioso colinérgico contiene dos clases de recepto-

res: muscarínicos y nicotínicos, así llamados porque el primero es estimulado específicamente por la muscarina y el último por la nicotina. La estructura del receptor muscarínico ha sido mejor elucidada debido a que tiene más requerimientos específicos de unión que los receptores nicotínicos<sup>11</sup>.

Estudios realizados con la muscarina han llevado a la postulación de la existencia de un receptor muscarínico común que posee la estructura mostrada en la figura No. 1<sup>21</sup>:

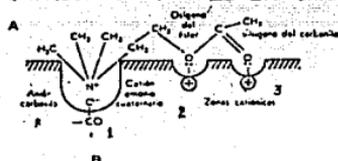


Figura 1. Modelo del receptor muscarínico en su unión con la acetilcolina: 1) Zona aniónica representada por un grupo carbóxilo, al cual se une por enlace electrovalente, el catión de amonio cuaternario de la acetilcolina; 2) Zona catiónica que se une a través de un enlace dipolar, con los dos electrones que posee el oxígeno del grupo éster; 3) Zona catiónica que se une al oxígeno del grupo carbonilo por enlace dipolar.

Las acciones muscarínicas que se efectúan principalmente en el músculo liso y en las glándulas secretoras incluyen: inhibición cardíaca, vasodilatación periférica, contracción de las pupilas de los ojos, incremento del flujo de la mayor parte de las glándulas secretoras y contracciones y/o movimientos peristálticos en el tracto gastrointestinal y genitourinario<sup>11</sup>.

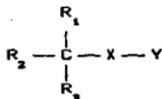
## 2.1.- FARMACOS ANTICOLINÉRGICOS,

Son compuestos considerados como análogos a la atropina por lo que al actuar sobre las células efectoras, inhiben las respuestas de éstas a los impulsos de las fibras colí-

nérgicas posganglionares y a la Acetilcolina, bloqueando así los receptores colinérgicos. Estos fármacos tienen los efectos opuestos de los agonistas colinérgicos y su administración está caracterizada por<sup>22</sup> :

- Incremento de la velocidad cardíaca.
- Disminución de la secreción salival, gástrica, intestinal y de la producción de sudor.
- Disminución de la motilidad intestinal e inhabilitación para orinar.
- Dilatación de la pupila.

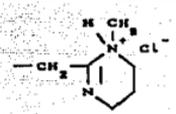
Se han preparado muchos compuestos sintéticos y semisintéticos semejantes a los alcaloides naturales, para intentar obtener fármacos de acción más selectiva, sobre todo a nivel del intestino<sup>21</sup>. En general, la estructura química de la Atropina ha sido la base de un gran número de fármacos anticolinérgicos, los cuales se han clasificado en dos grupos : aminas terciarias y compuestos de amonio cuaternario. Las fórmulas de diversos compuestos de tipo atropínico generalmente presentan la estructura siguiente<sup>11</sup> :



En donde :  $R_1$  y  $R_2$  son generalmente estructuras cíclicas.  
 $R_3$  es un -H, -OH,  $-CH_3$  o  $-CH_2OH$ .  
 $X$  es un grupo capaz de uniones hidrógeno (éster, alcohol o amida).  
 $Y$  es una estructura que contiene un átomo de nitrógeno básico.

Los compuestos mostrados en la Tabla I son anticolinérgicos usados clínicamente e ilustran la aplicabilidad de esta fórmula.

Tabla I. Antagonistas muscarínicos de utilidad clínica<sup>14</sup>.

Nombre Genérico	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	X	Y
Clorhidrato de Oxifenciclina	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-OH	-CO <sub>2</sub>	
Metilbromuro de Mepenzolato	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-OH	-CO <sub>2</sub>	
Bromuro de Clinidío	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-OH	-CO <sub>2</sub>	
Bromuro de Glicopirrolato	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-OH	-CO <sub>2</sub>	

## 2.2.1.- Mecanismo de acción de fármacos anticolinérgicos.

Los fármacos anticolinérgicos muestran semejanzas estructurales con los compuestos colinérgicos. Esto indica que ambos pueden atacar e interactuar de una manera similar con un receptor simple. La diferencia está en el tamaño del grupo acilo y en los sustituyentes sobre el átomo de nitrógeno. Los grupos grandes además de incrementar la afinidad del fármaco anticolinérgico hacia los receptores, también son capaces de bloquear el acercamiento de la Acetilcolina al receptor<sup>11</sup>. Así, se ha sugerido que estos compuestos compiten con la Acetilcolina por los sitios receptores muscarínicos (figura No. 2) y al unirse a estos ocasionan que la respuesta agonista no se efectúe<sup>21</sup>.

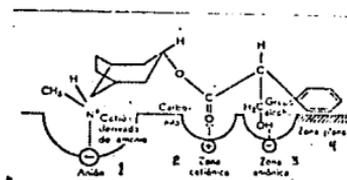


Figura No. 2. Modelo del receptor muscarínico en su unión con los fármacos anticolinérgicos; es para el caso de la l-Hiosciamina, componente activo de la Atropina : 1) Zona aniónica representada por un grupo carboxilo al cual se une por enlace electrovalente, el catión de amonio cuaternario; 2) el oxígeno del grupo carbonilo se une por enlace de sus dos electrones no compartidos con la zona catiónica; 3) el hidrógeno alcohólico se une por un enlace de hidrógeno no con una zona aniónica; 4) el anillo bencénico se une con la zona plana por un enlace de Van der Waals.

Algunos investigadores<sup>10</sup> han propuesto que la parte activa del receptor en una membrana celular, consiste de dos cadenas paralelas de proteína, enlazadas por uniones dúplicas y iónicas. La acción despolarizante de la Acetilcolina resulta de la ruptura de las uniones hidrógeno, causada por su interacción con una de estas cadenas y el consecuen

te pasaje de iones. Los fármacos antagonistas además de atravesar las dos cadenas, interactúan con ambas. Esto las conserva de ser atacadas y previene el flujo de iones.

## 2.2.- MONOGRAFIA DE : METILBROMURO DE MEPENZOLATO.

### 2.2.1.- Nombres químicos.

Bromuro de 3-[(hidroxidifenilacetil)oxil]-1,1-dimetilpiperidinio<sup>24</sup>.

Metilbromuro de N-metil-3-piperidilo, Bencilato de<sup>24</sup>.

Metobromuro de N-metil-3-piperidil difenilglicolato<sup>24</sup>.

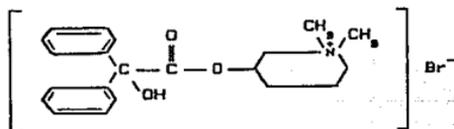
Bromuro del Bencilato de 3-hidroxi-1,1-dimetilpiperidinio<sup>80</sup>.

Bromuro de 3-benciloiloxi-1,1-dimetilpiperidinio<sup>22</sup>.

### 2.2.2.- Nombre genérico : Metilbromuro de Mepenzolato<sup>7</sup>.

### 2.2.3.- Fórmula condensada : $C_{21}H_{26}BrNO_3$ <sup>24</sup>.

### 2.2.4.- Fórmula desarrollada<sup>24</sup>.



### 2.2.5.- Peso molecular : 420.37<sup>24</sup>.

### 2.2.6.- Sinónimos.

Cantil, Cantril, Gastropodil, Trancolon, Eftoron, Tralanta, Colibantil, Colum<sup>22,24</sup>.

### 2.2.7.- Descripción.

Es un polvo blanco o ligeramente crema<sup>2d</sup>.

### 2.2.8.- Solubilidad.

El Metilbromuro de Mepenzolato es libremente soluble en Metanol. Es poco soluble en Agua y Cloroformo y es prácticamente insoluble en Eter<sup>2d</sup>.

### 2.2.9.- Identificación.

- a) Punto de fusión : Entre 228 °C y 229 °C<sup>2d</sup>.
- b) Espectroscopía infrarroja : El espectro de absorción infrarrojo de una dispersión de aceite mineral de Metilbromuro de Mepenzolato, previamente secado a 80 °C durante 3 horas en una estufa de vacío, solo exhibe máximos a las mismas longitudes de onda que un Estándar de Referencia NF de Metilbromuro de Mepenzolato<sup>2d</sup>.

### 2.2.10.- Métodos de valoración.

#### a) Análisis volumétrico.

- Titulación en medio no acuoso : Se utiliza Acido Acético Glacial, Acetato Mercurico y se titula con Acido Perclórico. El punto final se determina potenciométricamente<sup>30</sup>.

#### b) Análisis espectrofotométrico.

- Extracción líquido-líquido con espectrofotometría en el visible : A la alícuota de una solución acuosa ácida de Metilbromuro de Mepenzolato se le adiciona una solución de Cobaltotiocianato de Amonio y se extrae con Cloroformo. El complejo colorido que se forma en la fase cloroformica se determina a 620 nm<sup>30</sup>.

### 2.2.11.- Farmacodinamia.

El Metilbromuro de Mepenzolato es una sal de amonio cuaternario cuyas acciones periféricas son similares a las de la Atropina, por lo tanto antagoniza las acciones de la Acetilcolina en los sitios colinérgicos postganglionares. Disminuye la motilidad del colon, la del intestino delgado y en un grado menor la del estómago. También relaja el esfínter de Oddi. Administrado parenteral u oralmente en dosis elevadas, reduce la secreción ácida gástrica de ácido clorhídrico, pero este efecto no ocurre durante el uso clínico ordinario promoviendo lo contrario<sup>15,16</sup>.

Las dosis tóxicas de este compuesto producen dos tipos de bloqueo: ganglionar y neuromuscular somático. La inhibición de la transmisión ganglionar es capaz de contribuir en los efectos antiespasmódico y antisecretorio.

Los efectos del Metilbromuro de Mepenzolato en el Sistema Nervioso Central, son mínimos debido a que es un compuesto muy polar que no cruza fácilmente la barrera hematoencefálica<sup>8</sup>.

### 2.2.12.- Farmacocinética.

Los derivados de amonio cuaternario tienen coeficientes de partición lípido/agua relativamente bajos con respecto al valor del pH fisiológico; en consecuencia no atraviesan fácilmente las membranas de la mucosa gastrointestinal, de la conjuntiva y de la barrera hematoencefálica. De este modo, la absorción gastrointestinal de Metilbromuro de Mepenzolato es escasa después de una administración oral<sup>15,20,22</sup>. Esto fue comprobado con un estudio piloto en el que se administró a cuatro voluntarios humanos, una dosis oral de 25 o 30 miligramos de Metilbromuro de Mepenzolato, conteniendo aproximadamente 24  $\mu\text{g}$  de  $\text{C}^{14}$ . La eliminación de  $\text{C}^{14}$  se siguió en la orina y en las heces por 4

o 5 días y se encontró que el  $C^{14}$  se eliminó en la orina en un promedio del 14 % <sup>12</sup>.

#### 2.2.13.- Usos.

El Metilbromuro de Mepenzolato es usado en el tratamiento de la colitis ulcerativa (aguda, subaguda o crónica : colitis mucosa, colitis espática, colon irritable con diarrea y/o constipación), de la ileitis, como coadyuvante en la diarrea infecciosa (diarrea de origen bacteriano o parasitario) y en otros desórdenes inflamatorios del tracto gastrointestinal<sup>7</sup>.

Cuando la diarrea se asocia con inflamación notable de la pared del colon, es necesario que la terapéutica anticolinérgica se combine con la terapéutica antibacteriana o antiparasitaria. Así, el Metilbromuro de Mepenzolato unido a la Furazolidona, es prescrito a pacientes para disminuir la flora bacteriana excesiva y eliminar los microorganismos patógenos<sup>8</sup>.

A dosis moderadas, la unión de este anticolinérgico con Fenobarbital, también se prescribe con frecuencia, pues así se proporcionan dos efectos : el antiespasmódico y el sedante. En la mayoría de los padecimientos gastrointestinales el efecto sedante siempre es deseable y potencializa la acción antiespasmódica<sup>10</sup>.

#### 2.2.14.- Efectos colaterales.

Los efectos colaterales causados por el Metilbromuro de Mepenzolato a nivel de los diferentes sistemas orgánicos incluyen<sup>27</sup> :

Sistema Nervioso Central : Cefalea, insomnio, somnolencia, mareo, confusión o excitación en pacientes ancianos, nerviosismo, debilidad.

**Cardiovascular :** Palpitaciones, taquicardia.

**Ojos :** Visión borrosa, midriasis, aumento de la tensión ocular, cicloplejía, fotofobia.

**Gastrointestinal :** Resequedad de la boca, disfagia, acidez estomacal, pérdida del gusto, náusea, estreñimiento, vómito, íleo paralítico.

**Genitourinario :** Titubeo y retención urinaria.

**Piel :** Urticaria, transpiración disminuida o anhidrosis.

**Otros :** Fiebre, reacciones alérgicas.

Una de las principales ventajas del Metilbromuro de Mepenzolato es que los efectos colaterales que se encuentran con relativa frecuencia al utilizar otros fármacos anticolinérgicos derivados de la Atropina, son menos notables con éste<sup>10</sup>.

Los efectos de este fármaco en el Sistema Nervioso Central no se observan excepto con dosis muy elevadas. Hasta el momento no se conocen reportes de reacciones severas o tóxicas. Sin embargo, las precauciones y contraindicaciones que se tienen con el uso de la Atropina, deben informarse al administrar Metilbromuro de Mepenzolato<sup>10</sup>.

#### 2.2.15.- Formas dosificadas.

Tabletas que contienen 25 mg de Metilbromuro de Mepenzolato; Solución Oral con 12.5 mg de Metilbromuro de Mepenzolato en 5 ml<sup>7,22</sup>.

#### 2.2.16.- Vía de administración : Oral<sup>7</sup>.

### 2.2.17.- Dosis.

La dosis inicial para adultos es de 25 mg 4 veces al día. La dosis puede ser incrementada gradualmente a 50 mg si es necesario, hasta que se obtiene el efecto terapéutico deseado<sup>7</sup>.

### 2.2.18.- Contraindicaciones.

El Metilbromuro de Mepenzolato está contraindicado en glaucoma de ángulo cerrado, uropatía obstructiva, enfermedad obstructiva de vías digestivas, colitis ulcerativa grave, miastenia grave, hipersensibilidad a anticolinérgicos, íleo paralítico, atonía intestinal, condición cardiovascular inestable en hemorragia aguda y megacolon tóxico<sup>7</sup>.

## 2.3.- VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

En los últimos años la validación de métodos analíticos ha adquirido gran importancia en la industria farmacéutica, cuyo objetivo principal es fabricar productos que permitan recuperar la salud o prevenir padecimientos y que por lo tanto tienen requisitos estrictos de calidad. Por esta razón, es necesario validar tanto el proceso de fabricación como el método analítico.

Un método validado es útil porque permite realizar en forma confiable, rápida y a un costo razonable, la determinación cuantitativa de fármacos que se encuentran en diferentes formas farmacéuticas de productos terminados<sup>12, 25</sup>.

La validación de un método analítico se define como el proceso por el que se establece mediante estudios de laboratorio, que las características de capacidad del método cumplen los requerimientos para las aplicaciones analíticas deseadas. Las características de capacidad se expresan en

términos de parámetros analíticos que al ser evaluados a través de un análisis estadístico, permiten demostrar la confiabilidad del método analítico y que este cumple con su propósito. El término "Validación" sugiere una actividad que toma lugar después de que el procedimiento analítico de medición ha sido desarrollado<sup>8</sup>.

Por otra parte, los criterios que deben cumplir los parámetros analíticos son establecidos por organismos internacionales (por ejemplo, la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos, la Secretaría de Salud de México), los cuales han publicado una serie de normas y especificaciones legales que deben respaldar al método analítico. Tomando esta referencia, cada laboratorio realiza la validación de sus métodos analíticos de acuerdo con sus requerimientos<sup>20</sup>.

Los parámetros analíticos que generalmente se consideran en la validación de métodos de valoración de los fármacos que están presentes en diferentes formas farmacéuticas, se describen a continuación :

### 2.3.1.- Especificidad.

Es la capacidad de un método analítico para que la respuesta obtenida proceda del fármaco de interés y no de otros componentes que estén presentes en la formulación, como principios activos adicionales, excipientes o productos de degradación.

La prueba de especificidad se realiza de acuerdo con su aplicación. En el caso de formas farmacéuticas que correspondan a producto terminado, se efectúa para conocer las posibles interferencias debidas a los demás componentes de la formulación. Así, la especificidad del método analítico se determina analizando muestras que correspondan al fármaco de interés, a placebos y a muestras que presenten todos

los constituyentes de la formulación. Se comparan los resultados y los requerimientos se cumplen si la respuesta obtenida con la formulación completa es igual a la del fármaco<sup>1,2,3</sup>.

### 2.3.2.- Linealidad del sistema.

Es la relación que se establece mediante una recta que se obtiene al evaluar una propiedad física, química o biológica, en función de la cantidad del fármaco presente. Indica que la respuesta obtenida es proporcional a la concentración<sup>1,2</sup>.

La linealidad del sistema se determina al realizar el análisis del fármaco, utilizando un mínimo de cinco concentraciones diferentes, incluyendo el 100 %. Los valores que representan la concentración de fármaco utilizado y los resultados de las respuestas obtenidas, se tratan por el método de mínimos cuadrados para evaluar la correlación lineal entre los datos<sup>1,2</sup>. La línea recta que se obtiene a través de este tratamiento estadístico, está definida por la ecuación siguiente :

$$y = mx + b$$

donde: y = Cantidad recobrada.  
x = Cantidad adicionada.  
b = Ordenada al origen.  
m = Pendiente.

Las transformaciones matemáticas utilizadas en el análisis de regresión son :

$$\text{Pendiente (m)} = \frac{n(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{n(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}$$

$$\text{Ordenada al origen (b)} = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{n}$$

$$\text{Coeficiente de determinación } (r^2) = \frac{[n(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[n(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][n(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]}$$

$$\text{Coeficiente de regresión} = [r^2]^{1/2}$$

donde : n = Número de datos.

x = Cantidad adicionada de fármaco.

y = Cantidad encontrada de fármaco.

En ausencia de errores, la línea recta de regresión tiene una pendiente de 1, un intercepto de 0 y un coeficiente de correlación de 1. Esto indica que todos los puntos caen sobre la línea. Sin embargo, en la práctica esto no ocurre, ya que, aún cuando los errores sistemáticos se eliminan, los errores aleatorios provocan que el procedimiento analítico no proporcione resultados en concordancia exacta para todas las muestras<sup>5</sup>.

La presencia de errores aleatorios en el método analítico, lleva a la dispersión de los puntos alrededor de la línea recta y a una desviación ligera de la pendiente y el intercepto calculados, de la unidad y cero, respectivamente<sup>5</sup>.

Para conocer si los valores de la pendiente y el intercepto que se obtienen en forma experimental, son significativamente diferentes de los valores considerados como teóricos, se aplican pruebas de t y se establecen los límites de confianza para m y b<sup>5,6</sup>.

1.- Las hipótesis y las expresiones para la "t de Student" son :

a) Ordenada al origen :

$$H_0 : b = \beta \quad (\beta = 0)$$

$$H_1 : b \neq \beta$$

$$t_{\text{cal}} = \frac{b - \beta}{S_{y/x} \left[ \frac{\sum x_i^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2} \right]^{1/2}}$$

b) Pendiente :

$$H_0 : m = \gamma \quad (\gamma = 0)$$

$$H_1 : m \neq \gamma$$

$$t_{\text{cal}} = \frac{[(m - \gamma)] [S_x] [(n - 1)^{1/2}]}{S_{y/x}}$$

Desviación estándar en la dirección y ( $S_{y/x}$ ) :

$$S_{y/x} = \left[ \frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2} \right]^{1/2}$$

2.- Intervalos de confianza :

a) Desviación estándar para la ordenada al origen ( $S_b$ ) :

$$S_b = S_{y/x} \left[ \frac{\sum x_i^2}{n[\sum (x_i - \bar{x})^2]} \right]^{1/2}$$

Límites de confianza para la ordenada al origen :

$$LC_b = b \pm [t_{lab} (n-2, 0.975)] [S_b]$$

b) Desviación estándar para la pendiente ( $S_m$ ) :

$$S_m = \frac{S_{y/x}}{[\sum (x_i - \bar{x})^2]^{1/2}}$$

Límites de confianza para la pendiente :

$$LC_m = m \pm [t_{lab} (n-2, 0.975)] [S_m]$$

donde :  $m$  = Valor de la pendiente experimental.

$\gamma$  = Valor de la pendiente teórica = 1.

$b$  = Valor la ordenada al origen experimental.

$\beta$  = Valor de la ordenada al origen teórico = 0.

$x_i$  = Cantidad adicionada.

$\bar{x}$  = Media de las cantidades adicionadas.

$S_x$  = Desviación estandar de las cantidades adicionadas.

$n$  = Número de determinaciones.

$\hat{y}_i$  = Los valores de  $\hat{y}_i$  son los puntos sobre la línea de regresión calculada y corresponden a los valores individuales de  $x_i$ . Los valores de  $\hat{y}_i$  para un valor dado de  $x_i$ , son fácilmente calculados de la ecuación de regresión.

El sistema de medición es lineal si  $m$ ,  $b$  y  $r$  cumplen con los siguientes criterios de aceptación<sup>5,7</sup>.

1.- Ordenada al origen ( $b$ ) :

Si  $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}} (n-2, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 0, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la ordenada al origen que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente de 0.

2.- Pendiente ( $m$ ) :

Si  $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}} (n-2, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 1, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la pendiente que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente de 1.

3.- El coeficiente de correlación ( $r$ ) debe ser mayor o igual a 0.99 .

2.3.3.- Repetibilidad del sistema.

Es la precisión del sistema expresada como la concordancia entre los valores de los resultados que se obtienen de determinaciones independientes realizadas por un sólo analista, usando los mismos aparatos y técnicas. Se analizan un mínimo de 6 soluciones del fármaco de interés con una concentración al 100 % , establecida en la linealidad del sistema. Se evalúa con el coeficiente de variación :

$$C.V. = \frac{S_x}{\bar{x}} \times 100$$

donde :  $S_x$  = Desviación estándar.

$\bar{x}$  = Media de la serie de datos.

Criterio de aceptación :

C.V.  $\leq$  1.5 % (técnicas espectrofotométricas)<sup>4,9</sup>.

#### 2.3.4.- Linealidad del método.

Es una relación representada por una recta, la cual se establece al evaluar la cantidad recuperada del fármaco en estudio y la cantidad adicionada de dicho fármaco. Este parámetro se determina al realizar el análisis de muestras de placebos adicionados con cantidades conocidas del fármaco de interés y que corresponden a un mínimo de cinco concentraciones diferentes, incluyendo el 100 % .

Los datos obtenidos en el análisis se reportan de la siguiente forma : en el eje de las abscisas la cantidad adicionada al placebo y en el eje de las ordenadas la cantidad encontrada. En seguida, se procede a efectuar las operaciones siguientes utilizando las fórmulas matemáticas descritas en la prueba para determinar la linealidad del sistema<sup>4,9,5,6</sup> :

- 1.- Evaluar la correlación lineal entre los datos para obtener  $m$ ,  $b$  y  $r$ .
- 2.- Aplicar pruebas de  $t$ , para conocer si los valores de la pendiente y el intercepto, que se obtienen en forma experimental, son significativamente diferentes de los valores considerados como teóricos.
- 3.- Establecer los límites de confianza de la pendiente y de la ordenada al origen.

El método de medición es lineal si  $m$ ,  $b$  y  $r$  cumplen con los siguientes criterios de aceptación :

1.- Ordenada al origen (b) :

Si  $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}} (n-2, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 0, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la ordenada al origen que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente de 0.

2.- Pendiente (m) :

Si  $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}} (n-2, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 1, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la pendiente que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente de 1.

3.- El coeficiente de correlación (r) debe ser mayor o igual a 0.99 .

2.3.5.- Exactitud del método.

Es la concordancia que existe entre un valor obtenido experimentalmente y su valor real de referencia. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de placebos adicionados con cantidades conocidas del fármaco.

Uno de los procedimientos utilizados para determinar la exactitud consiste en hacer n ensayos de placebos adicionados con un mínimo de tres concentraciones diferentes incluyendo el 100 % de la concentración teórica. En este caso, se pueden emplear los resultados de los porcentajes encontrados en la linealidad del método.

La exactitud se evalúa por medio del modelo probabilístico "t de Student" y el cálculo del intervalo de confianza para la media o a través del cálculo del coeficiente de variación  $1,2,5,6,20$ .

a) La distribución "t" está definida por la expresión :

$$t_{\text{calculada}} = \frac{\bar{x} - \mu}{S_x / (n)^{1/2}}$$

donde :  $\bar{x}$  = Media de las determinaciones.

$\mu$  = Media teórica (100 %).

$S_x$  = Desviación estándar.

n = Número de determinaciones.

Previamente se establece un contraste de hipótesis :

$$H_0 : \bar{x} = 100 \% .$$

$$H_1 : \bar{x} \neq 100 \% .$$

b) Intervalo de confianza del porcentaje encontrado (I.C.):

$$I.C. = \bar{x} \pm t(n-1, 0.975) \left[ \frac{S_x}{(n)^{1/2}} \right]$$

El método de medición es exacto si se cumple con los criterios de aceptación siguientes :

- 1.- Si  $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 100 %, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye el valor de la media que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente del 100 %
- 2.- El valor del coeficiente de variación debe ser menor o igual a 3 % (técnicas espectrofotométricas).

### 2.3.6.- Repetibilidad y reproducibilidad del método.

La precisión de un método analítico se expresa como la concordancia entre los valores de los resultados de mediciones experimentales sucesivas, que se obtienen bajo las mismas condiciones (repetibilidad) y/o bajo diferentes condiciones de trabajo (reproducibilidad).

La repetibilidad del método se determina al realizar el análisis de un mínimo de seis muestras correspondientes a un placebo adicionado con el 100 % del fármaco. Se calcula el coeficiente de variación con los resultados obtenidos.

Criterio de aceptación :

C.V.  $\leq$  3 % (técnicas espectrofotométricas)<sup>1,2</sup>.

La reproducibilidad del método se determina al analizar muestras de la formulación por triplicado con dos análisis, en dos días diferentes. Se trabaja de manera independiente partiendo de una muestra homogénea del producto cercano al 100 % de la concentración teórica<sup>4,8</sup>.

Los resultados obtenidos se tabulan de acuerdo con la Tabla II<sup>29</sup> para evaluar la reproducibilidad mediante el análisis de varianza representado en la Tabla III<sup>19,29,28</sup>. Este análisis permite conocer las interacciones entre análisis, días y analista-día.

Tabla II

		Analista (i)	
		% Encontrado	
		1	2
D	1	$Y_{111}$	$Y_{211}$
		$Y_{112}$	$Y_{212}$
		$Y_{113}$	$Y_{213}$
a	2	$Y_{121}$	$Y_{221}$
		$Y_{122}$	$Y_{222}$
		$Y_{123}$	$Y_{223}$
(j)			

Donde "Y" es el resultado de cada análisis (primer subíndice) en cada día (segundo subíndice) para cada repetición (tercer subíndice).

Calcular las siguientes sumatorias :

$$1) \Sigma Y_{ijk} = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + \dots + Y_{223})$$

$$2) \Sigma Y_{(i)}^2 = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + Y_{122} + Y_{123})^2 + (Y_{211} + Y_{212} + Y_{213} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})^2$$

$$3) \Sigma Y_{(j)}^2 = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{211} + Y_{212} + Y_{213})^2 + (Y_{121} + Y_{122} + Y_{123} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})^2$$

$$4) \Sigma Y_{(i,j)}^2 = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113})^2 + (Y_{121} + Y_{122} + Y_{123})^2 + (Y_{211} + Y_{212} + Y_{213})^2 + (Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})^2$$

$$5) \Sigma Y_{(i,j,k)}^2 = [(Y_{111})^2 + (Y_{112})^2 + (Y_{113})^2 + \dots + (Y_{223})^2]$$

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA					
Fuente de variación (FV)	Grados de libertad (GL)	Suma de cuadrados (SC)	Medias de cuadrados (MC)	F calculada	F tabla (0.05, $\frac{GL \text{ numerador}}{GL \text{ denominador}}$ )
Analista (A) A <sub>i</sub>	(i-1)	$\frac{\sum Y_{i.}^2}{jk} - \frac{(\sum Y_{i.j})^2}{ijk}$	$\frac{SC_A}{(i-1)}$	$\frac{MC_A}{MC_{AD}}$	0.05, $\frac{(i-1)}{(j-1)}$
Día (D) D <sub>j</sub>	(j-1)	$\frac{\sum Y_{.j}^2}{k} - \frac{\sum Y_{i.j}^2}{jk}$	$\frac{SC_D}{(j-1)}$	$\frac{MC_D}{MC_{AD}}$	0.05, $\frac{(j-1)}{(i-1)(j-1)}$
Interacción Analista-Día (A-D) A <sub>i</sub> -D <sub>j</sub>	(i-1)(j-1)	$\frac{\sum Y_{i.j}^2}{k} - \frac{\sum Y_{i.}^2}{jk} - \frac{\sum Y_{.j}^2}{ik} - \frac{(\sum Y_{i.j})^2}{ijk}$	$\frac{SC_{AD}}{(i-1)(j-1)}$	$\frac{MC_{AD}}{MC_E}$	0.05, $\frac{(i-1)(j-1)}{i(jk-1)}$
Error Experimental (E) E <sub>i.j.k</sub>	ijk(k-1)	$\sum Y_{i.j.k}^2 - \frac{\sum Y_{i.j}^2}{k}$	$\frac{SC_E}{i(jk-1)}$		

Donde i = Número de analistas (2).  
 j = Número de días (2).  
 k = Número de repeticiones (3).

TABLA III.

El método de medición es reproducible si se cumple con los criterios de aceptación siguientes :

1.- El C.V. debe ser menor o igual a 3 % (técnicas espectrofotométricas).

2.- Si : a)  $F_{\text{calculada A}} < F_{\text{tablas A}}$   
b)  $F_{\text{calculada D}} < F_{\text{tablas D}}$   
c)  $F_{\text{calculada AD}} < F_{\text{tablas AD}}$

Entonces no existen efectos por analista, por día y por interacción analista-día.

2.3.7.- Estabilidad de las soluciones obtenidas en el proceso de análisis.

Se pretende conocer las condiciones en las cuales, las soluciones que se obtienen durante el proceso de análisis, mantienen constante su propiedad medible en un lapso determinado. Esto proporciona una mayor confiabilidad en los resultados, pues se comprueba que no presentan degradación, antes de medir su respuesta para ser cuantificadas.

El estudio de estabilidad de las soluciones, se realiza de la forma siguiente : las soluciones analizadas previamente, se almacenan en diferentes condiciones, por ejemplo, en refrigeración, en la oscuridad, a temperatura ambiente y en presencia de luz blanca . Posteriormente se vuelven a analizar en el tiempo que establezca el analista. Los resultados obtenidos se tabulan con base al formato de la Tabla IV, para calcular el coeficiente de variación<sup>1,9</sup> :

Tabla IV

Tiempo (h)	Condición		
	% Encontrado		
	Luz Blanca	Oscuridad	Refrigeración
0	Y <sub>A</sub>	Y <sub>D</sub>	Y <sub>O</sub>
	Y <sub>B</sub>	Y <sub>E</sub>	Y <sub>H</sub>
	Y <sub>C</sub>	Y <sub>F</sub>	Y <sub>I</sub>
3	Y <sub>1</sub>	Y <sub>10</sub>	Y <sub>19</sub>
	Y <sub>2</sub>	Y <sub>11</sub>	Y <sub>20</sub>
	Y <sub>9</sub>	Y <sub>12</sub>	Y <sub>21</sub>
6	Y <sub>4</sub>	Y <sub>13</sub>	Y <sub>22</sub>
	Y <sub>5</sub>	Y <sub>14</sub>	Y <sub>23</sub>
	Y <sub>6</sub>	Y <sub>15</sub>	Y <sub>24</sub>
24	Y <sub>7</sub>	Y <sub>16</sub>	Y <sub>25</sub>
	Y <sub>8</sub>	Y <sub>17</sub>	Y <sub>26</sub>
	Y <sub>P</sub>	Y <sub>18</sub>	Y <sub>27</sub>

Cálculo del coeficiente de variación :

Para cada condición/tiempo/muestra calcular el factor (I) con la siguiente fórmula :

$$I = \frac{(\text{análisis muestra/condición/tiempo})}{(\text{análisis inicial})} \times 100$$

$$I_1 = \frac{Y_1}{Y_A} \times 100$$

$$I_{10} = \frac{Y_{10}}{Y_D} \times 100$$

$$I_{19} = \frac{Y_{19}}{Y_O} \times 100$$

$$I_2 = \frac{Y_2}{Y_B} \times 100$$

$$I_{11} = \frac{Y_{11}}{Y_E} \times 100$$

$$I_{20} = \frac{Y_{20}}{Y_H} \times 100$$

$$I_1 = \frac{V_1}{V_a} \times 100 \quad I_{12} = \frac{V_{12}}{V_f} \times 100 \quad I_{21} = \frac{V_{21}}{V_i} \times 100$$

$$I_2 = \frac{V_2}{V_a} \times 100 \quad I_{18} = \frac{V_{18}}{V_f} \times 100 \quad I_{27} = \frac{V_{27}}{V_i} \times 100$$

Para condición/tiempo calcular la media del factor (I) con la siguiente fórmula :

$$I = \frac{\Sigma I(\text{condición/tiempo})}{N}$$

donde : N = Número de muestras para cada condición/tiempo.

$$\bar{I}_1 = \frac{I_1 + I_2 + I_3}{3}$$

$$\bar{I}_6 = \frac{I_{16} + I_{17} + I_{18}}{3}$$

$$\bar{I}_2 = \frac{I_4 + I_5 + I_6}{3}$$

$$\bar{I}_7 = \frac{I_{19} + I_{20} + I_{21}}{3}$$

$$\bar{I}_3 = \frac{I_7 + I_8 + I_9}{3}$$

$$\bar{I}_8 = \frac{I_{22} + I_{23} + I_{24}}{3}$$

$$\bar{I}_4 = \frac{I_{10} + I_{11} + I_{12}}{3}$$

$$\bar{I}_9 = \frac{I_{25} + I_{26} + I_{27}}{3}$$

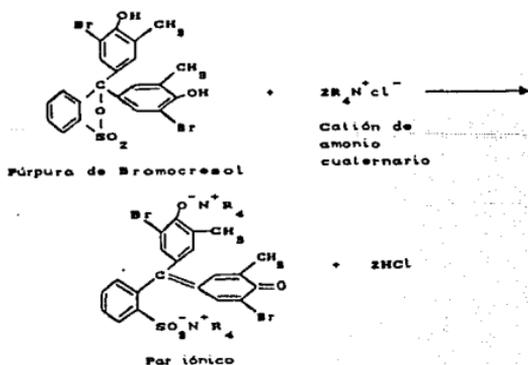
$$\bar{I}_5 = \frac{I_{13} + I_{14} + I_{15}}{3}$$

Criterio de aceptación :

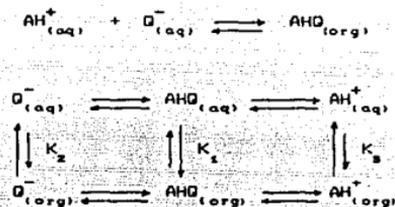
La media del factor (I) para cada condición/tiempo se debe encontrar entre los valores de 97 % y 103 % .

## 2.4.- METODO DEL COLORANTE ACIDO.

El Método del Colorante Acido es un método de análisis colorimétrico aplicable para la valoración de sales de amonio cuaternario y de bases nitrogenadas como las aminas primarias, secundarias y terciarias<sup>2,25</sup>. Este procedimiento, llamado también Extracción del Par Iónico, está basado en la reacción de un colorante aniónico con un compuesto catiónico, en una solución amortiguadora de pH específico, para producir un compuesto de adición o par iónico colorido, el cual es soluble en un disolvente orgánico, con el que se extrae cuantitativamente, permitiendo su determinación espectrofotométrica<sup>4,17,18,25</sup>. Los pares iónicos en algunos casos tienen una estequiometría sencilla 1:1 y la electroneutralidad se mantiene por los iones de ambos componentes. Cuando la reacción se efectúa con indicadores ácidos que son dipróticos como el Azul de Bromotimal o el Púrpura de Bromocresol, se obtienen pares iónicos de composición 1:2; es decir, una molécula de colorante reacciona con dos moléculas de la sal de amonio cuaternario<sup>10,23,34</sup>:



En la extracción de una base orgánica como par iónico, existen una serie de equilibrios importantes que se efectúan al mezclarse conjuntamente el colorante aniónico y el compuesto catiónico, en el sistema de dos fases orgánica-acuosa<sup>14,17,25,28</sup> :



Donde :  $\text{AH}^+$  es la base protonada.

$\text{D}^-$  es el colorante aniónico.

$\text{AHD}$  es el par iónico neutro.

$K_2$  y  $K_3$  son los equilibrios que representan la partición del colorante aniónico y de la base protonada entre las fases acuosa y orgánica.

$K_1$  es el equilibrio que representa la partición del par iónico en las dos fases.

Si el analito es polibásico o se adiciona a la fase orgánica una sustancia que incremente el coeficiente de extracción del par iónico, entonces se deben considerar otros equilibrios adicionales por la presencia de varias especies iónicas y complejos.

En algunos casos, cuando el par iónico es inestable en presencia de luz o bien existe interferencia de otras sustancias, se requiere tratar la fase orgánica con una solución diluida de Hidróxido de Sodio para formar la sal sódica

del colorante, la cual permanece en la fase acuosa. La intensidad de color que presenta la solución de Hidróxido de Sodio, está en función directa de la concentración de dicha sal y se mide en la región visible del espectro, para obtener de modo indirecto la concentración de la base que se liberó en la fase orgánica<sup>18</sup>.

Los equilibrios en este método, dependen principalmente de los siguientes factores :

- 1.- pH de la solución amortiguadora. Para elegir el pH adecuado que permita la formación del par iónico, es necesario tener conocimiento de las constantes de disociación del colorante ácido (contra-ión) que se va a utilizar y del compuesto básico que se va a valorar, ya que, el pH depende de las características de partición de las dos sustancias y de sus productos de adición en los disolventes acuoso y orgánico. Normalmente, dependiendo del  $pK_a$ , la base estará presente en su forma iónica en concentración significativa solamente en un intervalo limitado de pH. Así pues, es necesario que el intervalo de pH en el que está ionizado el contra-ión sea tal, que cubra el intervalo de ionización de la base. Por ejemplo, mientras los compuestos de amonio cuaternario están cargados positivamente en toda la escala de pH, la extracción de una amina como par iónico requiere de un pH suficientemente ácido que permita tener una concentración significativa del ion amonio conjugado y facilite la ionización del colorante, si este es un ácido relativamente fuerte. Es por esta razón, que en este tipo de reacciones se utilizan los colorantes ácidos alquilfosfóricos, alquilsulfónicos y arilsulfónicos<sup>18,23</sup>.
- 2.- Naturaleza y concentración óptima del colorante. El colorante se emplea en exceso, lo cual no causa interferencia, ya que al controlar el pH de la fase acuosa se reduce la cantidad de colorante en la fase orgánica. Sin embargo, se recomienda correr un blanco de reactivos, para eliminar el

error causado por la pequeña cantidad de colorante que podría estar presente en la fase orgánica. Se sugiere trabajar con un pH arriba del  $pK_a$  del colorante, si su coeficiente de partición intrínseco es relativamente grande. La condición anterior se elimina si la forma ácida del indicador es insoluble en la fase orgánica<sup>25,33</sup>.

El tamaño y polaridad de los sustituyentes del contra-ión también influyen en la eficiencia de la extracción. En general, los grupos no polares grandes (arilo o alquilo) incrementan el coeficiente de partición del par iónico en el disolvente orgánico, mientras que los grupos pequeños o polares (hidroxilo, carboxilo o amino), lo reducen<sup>33</sup>.

- 3.- **Naturaleza del disolvente.** El coeficiente de partición del par iónico depende en gran medida de la capacidad del disolvente para formar uniones hidrógeno. Mouin y Schill realizaron estudios en diferentes sistemas y encontraron que se obtiene un coeficiente de partición elevado cuando se forman uniones fuertes de hidrógeno entre el catión y el anión del par, y entre el par iónico y el disolvente. Por esta razón, propusieron que los compuestos donadores o aceptores de hidrógenos requieren ser extraídos con disolventes aceptores o donadores de protones respectivamente. Sin embargo, la selectividad es mayor, si el contra-ión es el componente del par iónico, que dona los protones para unirse al disolvente<sup>34</sup>.

Los enlaces de hidrógeno de los componentes del par iónico, influyen tanto en su polaridad como en la unión al disolvente. Puesto que los componentes de un par iónico están unidos por fuerzas electrostáticas, las uniones hidrógeno entre los iones, bajan la polaridad del par iónico e incrementan la constante de extracción. El complejo es soluble en disolventes de baja polaridad, porque las cargas iónicas de compuestos orgánicos que poseen cationes o aniones grandes, son protegidas por el disolvente<sup>35</sup>.

### III.- PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.- Trabajo Experimental.

El trabajo experimental consistió en aplicar el procedimiento indicado en el método propuesto, para analizar un medicamento en la forma farmacéutica de suspensión oral para adultos que contiene 90.75 mg de Metilbromuro de Mepenzolato y 363.00 mg de Furazolidona en 50 ml de suspensión.

#### 3.1.- Método Analítico.

##### 3.1.1.- Reactivos.

- a) Solución amortiguadora de fosfatos, pH 5.3<sup>±</sup>4.

Disolver 3.8 g de Fosfato de Sodio Monobásico Hidratado R.A. y 0.2 g de Fosfato Disódico Anhidro R.A. en agua destilada, diluir a 100 ml y mezclar. Verificar el pH de la solución resultante y en caso necesario ajustar a 5.3.

- b) Solución del colorante de Púrpura de Bromocresol.

Disolver totalmente 0.08 g de Púrpura de Bromocresol R.A. en una mezcla de 50 ml de agua y 1.3 ml de solución de Hidróxido de Sodio 0.1 N aprox. y si es necesario ajustar el pH de la solución a 5.3 con solución de Hidróxido de Sodio 0.1 N aprox., diluir a 100 ml y mezclar.

- c) Solución A.

Mezclar volúmenes iguales de la solución amortiguadora de fosfatos pH 5.3 y de la solución del colorante de Púrpura de Bromocresol.

- d) Solución de Hidróxido de Sodio 0.05 N aproximadamente.

- a) Cloroformo R.A., Metanol R.A., Hidróxido de Sodio R.A., Sulfato de Sodio Anhidro R.A.

### 3.1.2.- Preparación de la solución de referencia.

Pesar exactamente alrededor de 12.5 mg de Metilbromuro de Mepenzolato, Sustancia de Referencia<sup>§</sup>, transferirla cuidadosamente a un matraz volumétrico de 250 ml, adicionar 0.3 ml de Metanol, agitar hasta disolución completa, agregar agua destilada hasta el volumen y mezclar. La solución tiene una concentración de 0.05 mg/ml.

<sup>§</sup>Nota : Se utilizó como Sustancia de Referencia, la materia prima de Metilbromuro de Mepenzolato y se valoró de acuerdo al procedimiento indicado en la USP XX, para determinar su pureza. El título de pureza en base húmeda fue de 99.60 %.

### 3.1.3.- Preparación de la solución de la muestra.

Homogeneizar perfectamente el contenido de cinco frascos de la suspensión y mezclarlo. Determinar la densidad de la muestra obtenida por el método del picnómetro y proceder a pesar en un matraz volumétrico de 50 ml, una cantidad de suspensión equivalente a 2.5 mg de Metilbromuro de Mepenzolato; agregar 1.3 ml de Metanol, agitar, adicionar agua destilada hasta el volumen y mezclar. La solución tiene una concentración de 0.05 mg/ml.

### 3.1.4.- Procedimiento.

Transferir 5 ml de la solución de referencia, 5 ml de la solución de la muestra y 5 ml de agua destilada (blanco de reactivos) a cada uno de tres embudos de separación de 125 ml y proceder en todos los casos como se indica a continuación :

Agregar 5 ml de solución A y agitar por 30 segundos. Extraer con tres porciones de Cloroformo de 20, 20 y 9 ml respectivamente, agitando durante 30 segundos en cada extracción. Filtrar las fases clorofórmicas a través de papel filtro Whatman No. 1 que contenga 0.5 g de Sulfato de Sodio Anhidro, previamente humedecido con Cloroformo. Recibir la solución clorofórmica filtrada en un matraz volumétrico de 50 ml, llevar al volumen con Cloroformo y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un embudo de separación de 125 ml, adicionar 15 ml de una solución de Hidróxido de Sodio 0.05 N aproximadamente y agitar durante 1 minuto. Dejar separar las fases y recibir la fase acuosa en un vaso de precipitados de 50 ml. Determinar las absorbancias de las soluciones acuosas que corresponden a la Sustancia de Referencia, a la muestra problema y al blanco de reactivos, en un espectrofotómetro adecuado, a la longitud de onda de máxima absorción de aproximadamente 589 nm, utilizando la solución de Hidróxido de Sodio 0.05 N aprox. como blanco de referencia.

### 3.1.5.- Cálculos.

Calcular la cantidad de Metilbromuro de Mepenzolato expresada en gramos, contenida en 50 ml de suspensión, aplicando la fórmula siguiente :

$$\text{Metilbromuro de Mepenzolato} = \frac{\left[ \begin{array}{cc} A_P & -A_{BR} \\ A_{BR} & -A_{BR} \end{array} \right] \times C \times 15 \text{ ml} \times 50 \text{ ml} \times 50 \text{ ml} \times 50 \text{ ml}}{10 \text{ ml} \times 5 \text{ ml} \times V}$$

donde :  $A_p$  = Absorbancia de la solución de la muestra de suspensión.

$A_{bk}$  = Absorbancia del blanco de reactivos.

$A_{sr}$  = Absorbancia de la solución de referencia.

$C$  = Concentración de la Sustancia de Referencia ( $\mu\text{g/ml}$ ).

$V$  = Volumen de la muestra en ml, que contiene una cantidad de suspensión equivalente a 2.5 mg de Metilbromuro de Mepenzolato. Este volumen se calcula a partir de la cantidad pesada para el análisis, tomando como referencia la densidad de la suspensión.

### 3.2.- Validación del método analítico.

Con base en el valor de pureza obtenido al valorar la materia prima de Metilbromuro de Mepenzolato, se realizaron los ajustes necesarios para cada una de las concentraciones utilizadas en el proceso de validación.

La validación del método analítico se efectuó al evaluar los siguientes parámetros :

#### 3.2.1.- Especificidad.

Se hizo un barrido espectrofotométrico a un intervalo de longitudes de onda entre 530 nm y 620 nm, para obtener los espectros de absorción de las siguientes muestras :

- 1) Sustancia de Referencia : Metilbromuro de Mepenzolato (estándar secundario).
- 2) Muestra problema.
- 3) Placebo : vehículo de la suspensión + Furazolidona.
- 4) Blanco de reactivos.

### 3.2.2.- Linealidad del sistema.

Se prepararon soluciones de Metilbromuro de Mepenzolato, Sustancia de Referencia, en concentraciones que corresponden al 80 %, 90 %, 100 %, 110 % y 120 %, de la cantidad de Metilbromuro de Mepenzolato expresada en el marbete de la muestra problema. Cada una de las concentraciones se analizó por triplicado.

### 3.2.3.- Repetibilidad del sistema.

Se efectuó analizando seis muestras de una misma solución preparada con Metilbromuro de Mepenzolato, en concentración correspondiente al 100 % de la cantidad expresada en el marbete de la muestra problema.

### 3.2.4.- Linealidad del método.

Se trabajó con muestras de placebos adicionados con Metilbromuro de Mepenzolato, Sustancia de Referencia, en concentraciones correspondientes al 80 %, 90 %, 100 %, 110 % y 120 %, de la cantidad expresada en el marbete en la muestra problema. Cada placebo adicionado se analizó por quintuplicado.

### 3.2.5.- Exactitud del método.

Este parámetro se evaluó comparando los porcentajes de la cantidad encontrada de Metilbromuro de Mepenzolato, con los porcentajes de dicha Sustancia de Referencia, adicionados a cada muestra preparada para la determinación de la linealidad del método.

### 3.2.6.- Repetibilidad del método.

Se analizaron seis muestras diferentes de un placebo al que se le adicionó Metilbromuro de Mepenzolato, en una concentración que corresponde al 100 % de la cantidad expresada en el marbete de la muestra problema.

### 3.2.7.- Reproducibilidad del método.

Dos analistas analizaron por triplicado en dos días diferentes, muestras de un placebo al que se le adicionó Metilbromuro de Mepenzolato, en una concentración que corresponde al 100 % de la cantidad expresada en el marbete de la muestra problema.

### 3.2.8.- Estabilidad de las soluciones obtenidas en el proceso de análisis.

La determinación de este parámetro se efectuó en dos etapas :

En la primera etapa se analizaron nueve muestras de un placebo al que se le adicionó Metilbromuro de Mepenzolato, en una concentración que corresponde al 100 % de la cantidad expresada en el marbete de la muestra problema. Posteriormente en cada caso se desarrolló el procedimiento del método propuesto, hasta el paso en que se obtiene el par iónico en los 50 ml de solución clorofórmica. Estas soluciones clorofórmicas obtenidas, se mantuvieron durante 3, 6 y 24 horas, en las condiciones que a continuación se indican :

- Luz blanca (tres soluciones).
- Oscuridad (tres soluciones).
- Refrigeración (tres soluciones).

Al cumplirse el término de cada condición se continuó el procedimiento analítico para finalizar el análisis y evaluar si las muestras se mantienen estables.

En la segunda etapa, con el objeto de evaluar la estabilidad de la solución que se obtiene al extraer la fase clorofórmica con la solución de Hidróxido de Sodio 0.05 N aprox., para formar la sal sódica del colorante, se mantuvieron alícuotas de nueve muestras analizadas, en las condiciones que a continuación se indican, durante 3, 6 y 24 horas :

- Luz blanca (tres alícuotas).
- Oscuridad (tres alícuotas).
- Refrigeración (tres alícuotas).

#### IV.- RESULTADOS

##### 4.1.- Especificidad.

Los resultados obtenidos se expresan en la Tabla No. 1 y en los espectros de absorción que corresponden a cada una de las muestras analizadas (figura No. 3 y figura No. 4).

Tabla No. 1

	Absorbancia <sub>1</sub> $\lambda = 550 \text{ nm}$	Absorbancia <sub>2</sub>	C <sub>a</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	C <sub>e</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
Metilbromuro de Mepenzolato (Sustancia de Referencia)	0.486	0.421	3.4	3.4
Muestra Problema	0.498	0.433	3.4	3.5
Placebo (vehículo + Furazolidona)	0.075	-	-	-
Blanco de Reactivos	0.065	-	-	-

Absorbancia<sub>2</sub> = Absorbancia<sub>1</sub> - Absorbancia del blanco de reactivos.

C<sub>a</sub> = concentración adicionada de Metilbromuro de Mepenzolato.

C<sub>e</sub> = concentración encontrada de Metilbromuro de Mepenzolato.

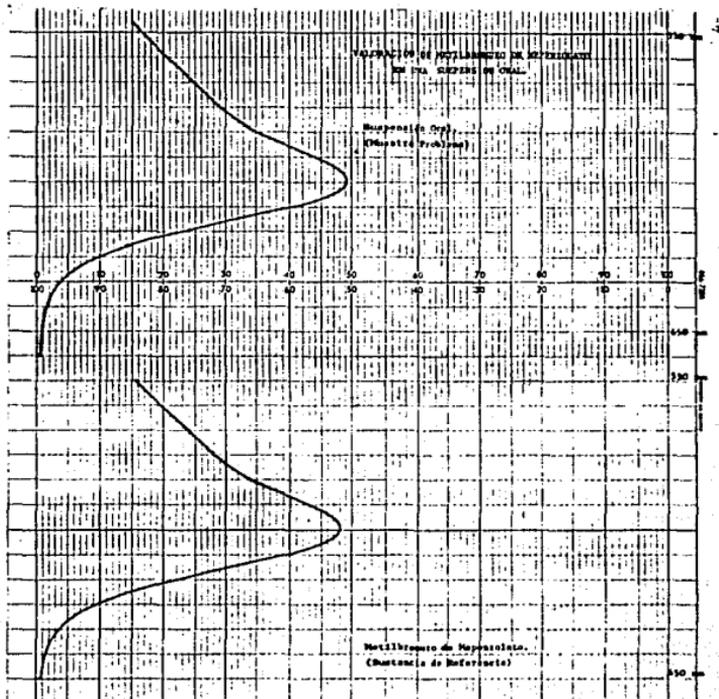


Figura No. 3.

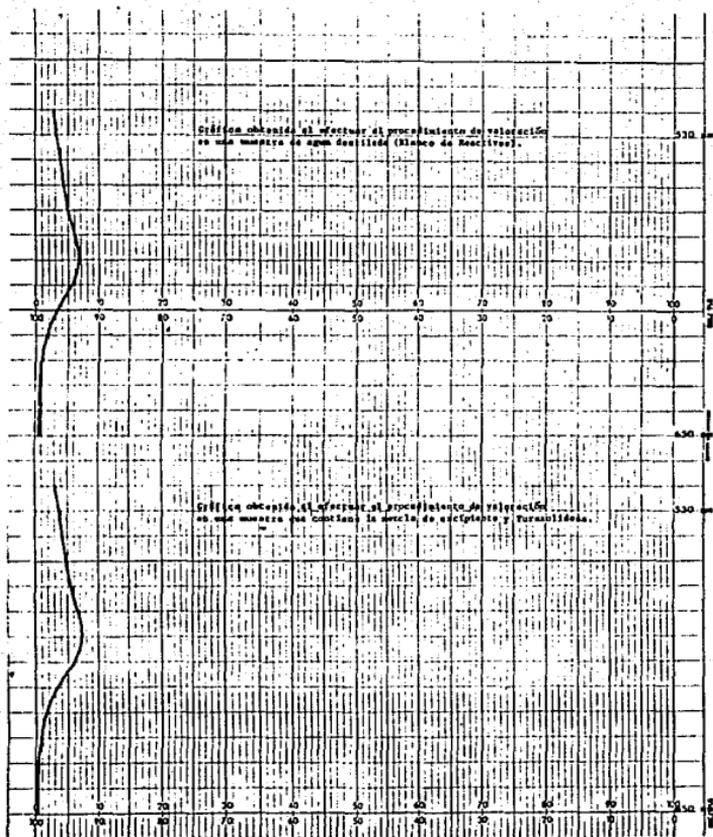


Figura No. 4.

Basándose en los datos de la Tabla No. 1 y en los espectros de absorción obtenidos, se plantean las conclusiones siguientes:

- 1.- La espectroscopía visible de las soluciones obtenidas al efectuar el procedimiento del método propuesto, para la va ración de Metilbromuro de Mepenzolato en la solución de rg ferencia y en la suspensión en estudio (muestra problema), presenta espectros de absorción semejantes, con máximo de absorbancia a 589 nm.
- 2.- El blanco de reactivos y el placebo presentan absorbancias muy bajas, por lo que cabe suponer, que ni la Furazolidona ni el vehículo de la suspensión causen interferencia signi ficativa.

Por lo antes expuesto, se concluye que el método es especi fico.

#### 4.2.- Linealidad del sistema.

La Tabla No. 2 muestra los resultados obtenidos en la prue ba de linealidad y en la gráfica No. 1 se observa la tend encia lineal entre los datos :

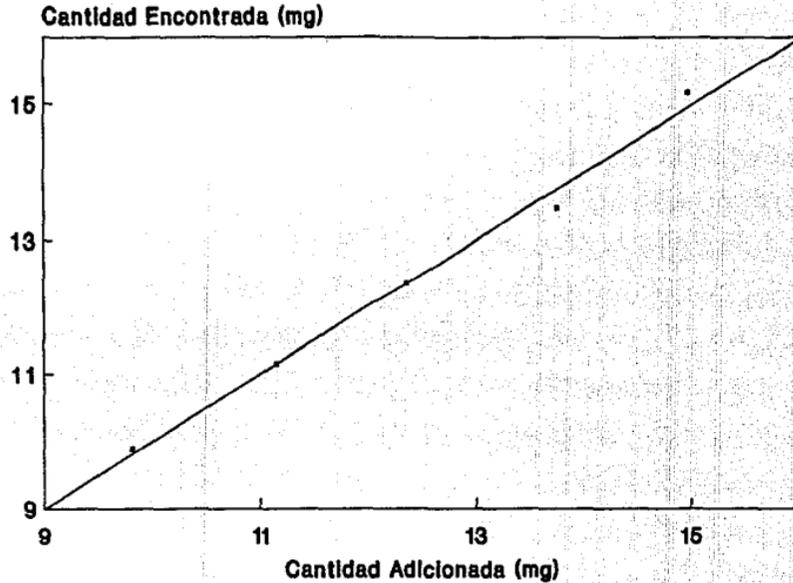
Tabla No. 2

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad encontrada (mg)
9.81	9.90
9.81	9.75
9.81	9.97
11.15	11.21
11.15	11.10
11.15	11.10
12.35	12.45
12.35	12.30
12.35	12.30
13.74	13.39
13.74	13.42
13.74	13.54
14.94	15.11
14.94	15.22
14.94	15.15

Promedio cantidad adicionada (mg)	Promedio cantidad encontrada (mg)	Regresion lineal
9.81	9.87	$m = 1.0016$
11.15	11.14	$b = -0.0238$
12.35	12.35	$r^2 = 0.9918$
13.74	13.45	$r = 0.9959$
14.94	15.16	

Ordenada al origen	Pendiente
$t_{cal} = -0.0360$	$t_{cal} = 0.0304$
$t_{tab} (3, 0.975) = 3.1820$	$t_{tab} (3, 0.975) = 3.1820$
$I.C. = -0.0238 \pm 2.1001$	$I.C. = 1.0016 \pm 0.1677$
$LS = 2.0763$	$LS = 1.1693$
$LI = -2.1239$	$LI = 0.8339$

## Soluciones de Metilbromuro de Mepenzolato, Sustancia de Referencia.



Gráfica No. 1. Linealidad del Sistema.

El sistema de medición es lineal, ya que,  $b$ ,  $m$  y  $r$  cumplen con los criterios de aceptación como se muestra a continuación :

1.- Ordenada al origen ( $b$ ) :

Como  $|t_{cal}| < t_{tab}$  (3,0.975) y los límites de confianza incluyen al 0, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la ordenada al origen obtenida en forma experimental, no es significativamente diferente de 0.

2.- Pendiente ( $m$ ) :

Como  $t_{cal} < t_{tab}$  (3,0.975) y los límites de confianza incluyen al 1, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la pendiente obtenida en forma experimental, no es significativamente diferente de 1.

3.- Coeficiente de correlación ( $r$ ) :

Como  $r > 0.99$ , hay una relación entre la cantidad adicionada y la cantidad encontrada. La relación se representa por la línea recta propuesta.

4.3.- Repetibilidad del sistema.

La Tabla No. 3 presenta los resultados obtenidos para la evaluación de este parámetro :

Tabla No. 3

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad encontrada (mg)	% encontrado
12.35	12.45	100.81
12.35	12.30	99.59
12.35	12.30	99.59
12.35	12.26	99.27
12.35	12.26	99.27
12.35	12.34	99.92

$$n = 6$$

$$\bar{x} = 99.74 \%$$

$$S_x = 0.58$$

$$C.V. = 0.58 \%$$

El sistema de medición es repetible , ya que, el C.V. obtenido es menor que 1.5 % .

#### 4.4.- Linealidad del método.

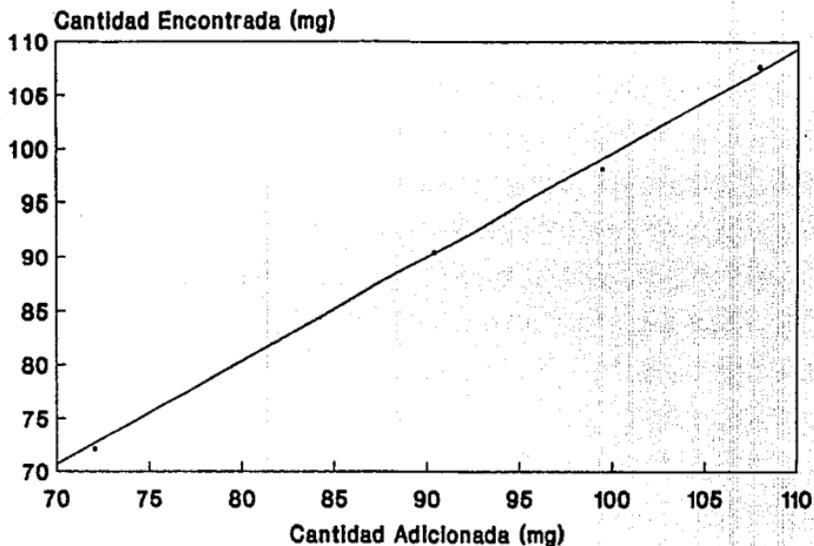
La Tabla No.4 presenta la cantidad adicionada de Metilbromuro de Mepenzolato a placebos, la cantidad encontrada en la muestra respectiva y su % correspondiente. En la grafica No. 2 se observa la tendencia lineal entre los datos :

Tabla No. 4

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad encontrada (mg)	% encontrado
72.01	72.01	100.00
72.01	72.55	100.75
72.01	71.25	98.94
72.01	70.71	98.19
72.01	73.93	102.67
81.37	83.51	102.63
81.37	81.65	100.34
81.37	83.51	102.63
81.37	82.45	101.33
81.37	82.18	100.99
90.34	91.30	101.06
90.34	89.67	99.26
90.34	90.00	99.62
90.34	88.66	98.14
90.34	92.53	102.42
99.40	98.03	98.62
99.40	98.30	98.89
99.40	97.50	98.09
99.40	98.30	98.89
99.40	98.57	99.16
107.87	108.01	100.13
107.87	106.95	99.15
107.87	106.95	99.15
107.87	108.27	100.37
107.87	108.27	100.37

Promedio Cantidad adicionada (mg)	Promedio Cantidad encontrada (mg)	Regresión lineal
72.01	72.09	$m = 0.9657$
81.37	82.66	$b = 3.0978$
90.34	90.43	$r^2 = 0.9969$
99.40	98.14	$r = 0.9984$
107.87	107.69	

Suspensión preparada adicionando  
Metilbromuro de Mepenzolato al placebo  
(Placebo = Furazolidona + vehículo).



Gráfica No. 2. Linealidad del método.

Ordenada al origen	Pendiente
$t_{cal} = 1.0933$	$t_{cal} = -1.1026$
$t_{tab} (3, 0.975) = 3.1820$	$t_{tab} (3, 0.975) = 3.1820$
$I.C. = 3.0978 \pm 9.0162$	$I.C. = 0.9657 \pm 0.0990$
$LS = 12.1140$	$LS = 1.0647$
$LI = -5.9184$	$LI = 0.8667$

El método de medición es lineal, ya que,  $b$ ,  $m$  y  $r$  cumplen con los criterios de aceptación como se muestra a continuación :

1.- Ordenada al origen ( $b$ ) :

Como  $t_{cal} < t_{tab} (3, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 0, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la ordenada al origen obtenida en forma experimental, no es significativamente diferente de 0.

2.- Pendiente ( $m$ ) :

Como  $|t_{cal}| < t_{tab} (3, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 1, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la pendiente obtenida en forma experimental, no es significativamente diferente de 1.

3.- Coeficiente de correlación ( $r$ ) :

Como  $r > 0.99$ , hay una relación entre la cantidad adicionada y la cantidad encontrada. La relación se representa por la línea recta propuesta.

#### 4.5.- Exactitud del método.

Para conocer la exactitud del método se consideraron los valores de porcentaje encontrados de la Tabla No. 4.

$$\begin{aligned}n &= 25 \\ \bar{x} &= 100.07 \% \\ S_x &= 1.45 \\ \text{C.V.} &= 1.45 \% \\ t_{\text{calculada}} &= 0.41 \\ t_{\text{tablas}}(24, 0.975) &= 2.06\end{aligned}$$

Intervalo de confianza del % recuperado.

$$\text{I.C.} = 100.07 \pm 0.60$$

Límite superior : 100.67 % .

Límite inferior : 99.47 % .

El método de medición es exacto, ya que :

1.- Como  $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}(24, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 100 %, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la media obtenida en forma experimental, no es significativamente diferente del 100 % .

2.- El valor del C.V. obtenido es menor que 3 % .

#### 4.6.- Repetibilidad del método.

La Tabla No. 5 muestra los datos de porcentaje encontrados para evaluar la repetibilidad del método.

Tabla No. 5

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad encontrada (mg)	% encontrado
90.34	90.82	100.07
90.34	89.28	98.37
90.34	93.11	102.59
90.34	91.30	100.60
90.34	89.67	98.80
90.34	90.00	99.16

$$n = 6$$

$$\bar{x} = 100.54 \%$$

$$S_x = 1.83$$

$$C.V. = 1.82 \%$$

El método de medición es repetible, ya que, el C.V. obtenido, es menor que 3 % .

#### 4.7.- Reproducibilidad del método.

En la Tabla No. 6 se indican los resultados obtenidos al efectuar el procedimiento del método propuesto para la valoración de Metilbromuro de Mepenzolato, en la muestra problema, por dos analistas y en dos días diferentes.

Tabla No. 6

Día (j)	Analista (i)	
	% Recobro	
	1	2
1	101.06	97.70
	99.26	97.20
	99.62	97.20
2	98.14	99.16
	102.42	103.50
	102.72	103.80

1.- Coeficiente de variación :

$$\begin{aligned}n &= 12 \\ \bar{x} &= 100.15 \% \\ S_x &= 2.46 \\ C.V. &= 2.46 \%\end{aligned}$$

Como el coeficiente de variación obtenido es menor que 3 %, entonces, el método de medición es reproducible.

2) Tabla de Análisis de Varianza.

Tabla No. 7

FV	GL	SC	MC	F <sub>cal</sub>	F <sub>tab</sub>
A(t)	1	1.81	1.81	0.18	161.40
Dj(t)	1	36.22	36.22	3.58	161.40
A-D	1	10.12	10.12	2.83	5.32
E(t,j)k	8	28.59	3.57		

- Como :
- a) Efecto por analista,  $0.18 < 161.40$  .
  - b) Efecto por día,  $3.58 < 161.40$  .
  - c) Efecto por interacción analista-día,  $2.83 < 5.32$  .

Basándose en el Análisis de Varianza de los datos obtenidos, el método de medición es reproducible, ya que, no existen efectos por analista, por día y por interacción día-analista.

4.8.- Estabilidad de las soluciones obtenidas en el proceso de análisis.

Las Tablas No. 8 y No. 9 presentan los resultados de la valoración de Metilbromuro de Mepenzolato, después de mantener las soluciones en las condiciones indicadas.

Primera etapa de extracción: Solución clorofórmica, que contiene el par iónico (solución amarilla).

Tabla No. 8

Tiempo (h)	Condición		
	% Encontrado		
	Luz blanca	Oscuridad	Refrigeración
0	100.07	101.54	100.22
	98.37	99.22	98.76
	102.59	100.09	99.04
3	99.78	102.13	100.51
	99.78	101.84	100.22
	102.03	101.54	99.34
6	100.07	102.99	99.63
	98.10	102.43	99.04
	98.78	102.26	100.22
24	92.47	100.39	96.41
	93.88	100.39	96.11
	94.16	98.93	97.29

Tabla No. 8.1  
Promedio de datos de la Tabla No. 8

Tiempo (h)	Condición		
	% Encontrado		
	Luz blanca	Oscuridad	Refrigeración
3	100.20	101.56	100.69
6	98.99	101.94	100.29
24	93.20	99.63	97.25

Como se observa en la Tabla No. 8.1, la muestra es inestable sólo en presencia de luz blanca a las 24 horas, porque el valor de la media para el factor I no se encuentra entre 97-103 %.

Segunda etapa de extracción : Solución de Hidróxido de Sodio 0.05 N aprox. que contiene la sal sódica del colorante (solución morada) :

Tabla No. 9

Tiempo (h)	Condición		
	% Encontrado		
	Luz blanca	Oscuridad	Refrigeración
0	100.07	101.54	100.22
	98.37	99.22	98.76
	102.59	100.09	99.04
3	95.29	98.35	99.04
	93.88	95.57	97.30
	97.53	97.18	96.99
6	93.31	96.02	91.72
	91.63	93.99	89.67
	95.85	95.73	90.55
24	79.54	85.26	80.60
	78.14	83.22	78.54
	83.76	85.83	80.60

Tabla No. 9.1  
Promedio de datos de la Tabla No. 9

Tiempo (h)	Condición		
	% Encontrado		
	Luz blanca	Oscuridad	Refrigeración
3	95.24	96.76	98.42
6	94.25	94.98	91.25
24	80.18	84.53	80.44

Como se observa en la Tabla No. 9.1, la muestra solo es estable en condiciones de refrigeración durante las tres primeras horas, ya que, el valor de la media para el factor I se encuentra entre 97-103 % .

## V. - CONCLUSIONES

Basándose en los resultados obtenidos al efectuar el procedimiento del método propuesto, para valorar Metilbromuro de Mepenzolato en la suspensión oral estudiada, se plantean las conclusiones siguientes :

- 5.1.- El método propuesto para la valoración de Metilbromuro de Mepenzolato en la suspensión oral estudiada, es específico, ya que, los espectros de absorción de las soluciones obtenidas después de efectuar el procedimiento analítico en la Sustancia de Referencia y en la suspensión oral, son semejantes. Asimismo, se encontró que en las condiciones de análisis, el blanco de reactivos y el placebo presentaron absorbancias muy bajas a 587 nm, que es la longitud de onda en que se presenta el máximo de absorción, para la sal sódica colorida del Púrpura de Bromocresol.
- 5.2.- El sistema y el método de medición son lineales, basándose en lo siguiente :
  - a) El análisis de la Gráfica No. 1 (pág. 45) permite observar la tendencia lineal del método propuesto, cuando se valoró Metilbromuro de Mepenzolato, Sustancia de Referencia, en un intervalo de concentraciones de 80 %, 90 %, 100 %, 110 % y 120 %.
  - b) La Gráfica No. 2 (pág. 49) refleja la linealidad del método propuesto, cuando se valoró Metilbromuro de Mepenzolato en la suspensión oral. El intervalo de concentraciones estudiado fue semejante al de la Sustancia de Referencia .
  - c) En el sistema y en el método de medición, las pruebas de t aplicadas, demuestran que los valores obtenidos de la ordenada al origen y de la pendiente no son significativamente diferentes de 0 y 1, respectivamente. El coeficiente de correlación en ambos casos es mayor que 0.99.

5.3.- En el intervalo de concentraciones que corresponden al 80 %, 90 %, 100 %, 110 % y 120 %, de la cantidad de Metilbromuro de Mepenzolato expresada en el marbete del producto estudiado, el método es exacto, ya que, el C.V. obtenido es menor que 3 % y la prueba de t aplicada, demuestra que el valor de la media experimental no es significativamente diferente del 100 % .

5.4.- El método propuesto es repetible, ya que, en las pruebas efectuadas en la Sustancia de Referencia, el C.V. obtenido fue menor a 1.5 % (pág. 47) y en las determinaciones realizadas en la suspensión oral, el C.V. fue menor del 3 % (pág. 52).

5.5.- Al realizar las pruebas de valoración de Metilbromuro de Mepenzolato en la suspensión oral, se obtuvieron valores que cumplen satisfactoriamente con los criterios de aceptación especificados para el C.V. y para el análisis de varianza efectuado (pág. 53), por lo que el método es reproducible.

5.6.- Basándose en los resultados obtenidos al efectuar las pruebas de estabilidad del fármaco en las soluciones de valoración, se concluye lo siguiente :

- a) El par iónico formado en la fase clorofórmica es inestable a la acción de la luz blanca a las 24 horas; sin embargo, es estable si la solución clorofórmica se mantiene en la oscuridad y/o refrigeración durante el mismo tiempo. Así pues, la solución clorofórmica deberá ser guardada en la oscuridad y/o refrigeración si se desea cuantificarla en un lapso de tiempo cercano a las 24 horas.
- b) En el caso de la Solución de Hidróxido de Sodio 0.05 N aprox. que contiene la sal sódica del colorante, se encontró que la sal sódica sólo es estable en condiciones de refrigeración durante las tres primeras horas, por lo tanto es necesario efectuar la determinación de las absorbancias. inmediatamente

tamente después de finalizar el procedimiento de la segunda etapa de extracción.

**Conclusión final :**

Los resultados obtenidos muestran que los parámetros evaluados en el método propuesto, cumplen satisfactoriamente con los criterios de aceptación establecidos en la validación métodos analíticos. Así pues, se demostró la confiabilidad del método desarrollado para la cuantificación de Metilbromuro de Mepenzolato en la suspensión oral estudiada.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

VI.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alcántara, P. A., Sánchez, R. J. F. Material del Curso "Validación de Métodos Analíticos". (1987).
- 2.- Chatten, L. G. and Okamura, K. O. "Assay of Quaternary Ammonium Compounds in Various Dosage Forms by Acid-Dye Method". J. Pharm. Sci., 62, 1328 (1973).
- 3.- Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación. Requisitos Mínimos para la Validación de un Método Analítico. Colegio Nacional de Q.F.B. México, A.C. (1989).
- 4.- Connors, K. A. A Textbook of Pharmaceutical Analysis. Second Edition. A Wiley-Interscience Publication. New York. Pág. 514. (1975).
- 5.- Deming, S.N. Data handling in science and technology : Chemometrics : a textbook. Vol. 2. First Edition. Elsevier Publishing Company Inc. New York. Págs. 33-55, 101-134. (1988).
- 6.- Deming, S.N. Data handling in science and technology : Experimental design : a chemometrics approach. Vol. 3. First Edition. Elsevier Publishing Company Inc. New York. Págs. 89-92. (1987).
- 7.- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 32a. Edición. México. Págs. 150,435. (1986).
- 8.- Drill, V.A. Pharmacology in Medicine. 4th Edition. McGraw-Hill Book Company. New York. Págs. 967-969. (1971).
- 9.- Drugs of Choice. 1974-1975 Edition. The C.V. Mosby Company. Saint Louis. Págs. 302-304. (1974).

- 10.- Fernández Alva, M. S. Valoración de Metil Bromuro de Pipenzolato y Fenobarbital en un medicamento acuoso. Tesis Profesional. D.F.B. U.N.A.M. México. Págs. 13-18. (1974).
- 11.- Foye, William D. Principles of Medicinal Chemistry. Third Edition. Lea & Febiger. Philadelphia. 1989. Págs. 323-339. (1989).
- 12.- Friedman, H. L. and Wang, R. H. "Oral Absorption of <sup>14</sup>C-Labeled Mepenzolate Bromide in Humans". J. Pharm. Sci., 61, 1663 (1972).
- 13.- García de Valle Blanco, G. Desarrollo y validación de un método para la determinación de vitaminas del Complejo B en un polifármaco por cromatografía de alta resolución. Tesis Profesional. D.F.B. México. Págs. 21,88. (1988).
- 14.- Garret, E. R. and Hirtz, J. L. Drug Fate and Metabolism. Methods and Techniques. Vol. 1. Marcel Dekker, Inc. New York. Págs. 135-185. (1977).
- 15.- Goodman Gilman, A. The Pharmacological Basis of Therapeutics Eighth Edition. Pergamon Press, Inc. New York. Págs. 158-164. (1990).
- 16.- Hauerbach, M.E. "Germicidal Quaternary Ammonium Salts in Dilute Solution". Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 15, 492 (1943).
- 17.- Helgren, P. E., Theivagt, J. G. and Campbell, D. J. "Methods for the Determination of Tral, a New Anticholinergic Drug". J. Amer. Pharm. Ass., Sci. Ed., 46, 639. (1957).
- 18.- Higuchi, T. and J. I. Bodin. Pharmaceutical Analysis. T. Higuchi and E. Brochmann-Hanssen (Eds.). Interscience Publisher. New York. Págs. 413-418. (1961).

- 19.- Korolkovas, A. Essentials of Molecular Pharmacology. Background for Drug Design. Wiley-Interscience. New York. Págs. 197-231. (1970).
- 20.- La Du, B.N. Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. Págs. 31-32. (1972).
- 21.- Litter, M. Farmacología Experimental y Clínica. 6a. Edición. "El Ateneo". Argentina. Págs. 579-600. (1980).
- 22.- Martindale. The Extra Pharmacopoeia. Twenty-eighth Edition. The Pharmaceutical Press. London. Pág. 306. (1982).
- 23.- Martínez García, R. Reformulación de tabletas de Metoprolol, desarrollo y validación del método de control de calidad y estabilidad. Tesis Profesional. U.N.A.M. México. Págs. 23-29. (1990).
- 24.- The Merck Index. Eleventh Edition. Merck & Co., Inc. Rahway, N.J., U.S.A. Pág. 918. (1989).
- 25.- Mukerjee, P. "Use of Ionic Dyes in the Analysis of Ionic Surfactants and Other Ionic Organic Compounds". Anal. Chem., 28, 870 (1956).
- 26.- The National Formulary. 13th Edition. American Pharmaceutical Association. Págs. 408,724. (1970).
- 27.- Orizaga, S. J., et al. Guía Profesional de Medicamentos. Segunda Edición. Editorial El Manual Moderno, S. A. de C.V. México. Págs. 406-407. (1984).
- 28.- Ostle, B. Statistic in Research. Third Edition. Press/Ames. Iowa. Págs. 302-306. (1975).

- 29.- Pharma News. Actualización en Tecnología Farmacéutica. "Procedimiento de validación, parámetros y criterios de aceptación". Vol. 1/No. 6. México. Págs. 15-20. (1990).
- 30.- The Pharmacopoeia of the United States of America XX. 15th Edition. United States Pharmacopoeial Convention. Inc. U.S.A. Págs. 476,477. (1980).
- 31.- Remington's. Pharmaceutical Sciences. 16th Edition. Mack Publishing Company. Easton, Pennsylvania. Págs. 856-857. (1980).
- 32.- Rowland, M. Clinical Pharmacokinetics : Concepts and Applications. Lea & Febiger. Philadelphia. Pág. 21. (1980).
- 33.- Shirmer, R. E. Modern Methods of Pharmaceutical Analysis. Vol. 1. CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida. Págs. 19-24. (1982).
- 34.- Siggia, S. Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups. 2nd Ed. John Wiley & Sons. New York. Pág. 688. (1954).
- 35.- Torres Campos, J. J. Validación del método analítico para cuantificar Furosemida en solución inyectable por CLAR. Trabajo Escrito-Vía de Educación Continua. I.O. U.N.A.M. México. Págs. 11-24. (1990).
- 36.- The United States Dispensatory. 27th Edition. J.B. Lippincot Company. Philadelphia. Pág. 698. (1973).