



103
20J.

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

**Comparación de Dos Métodos Analíticos para
la Cuantificación de Dipirona Sódica en
una Solución Inyectable**

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P r e s e n t a :
Dolores Gabriela Olivera del Rio

México, D. F.

1993

**TESIS CON
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

I.-INTRODUCCION.

II.-GENERALIDADES.

- 1.-MONOGRAFIA DE LA DAPIRONA.
- 2.-SOLUCIONES INYECTABLES.
- 3.-ESPECTROFOTOMETRIA.
- 4.-CROMATOGRAFIA.
- 5.-TRAMITES PARA EL REGISTRO DEL PRODUCTO EN LA SECTRETARIA DE SALUD.
- 6.-VALIDACION DE METODOS ANALITICOS.

III.-PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS.

IV.-CONCLUSIONES.

V.-BIBLIOGRAFIA.

1. INTRODUCCION

La industria farmacéutica está en constante movimiento en lo que se refiere al desarrollo de nuevos productos .

Esto es originado por la necesidad de :

- a) Encontrar nuevos principios activos para combatir las enfermedades o que produzcan menos efectos tóxicos que los ya existentes.
- b) Buscar nuevas formas farmacéuticas que faciliten la administración de los fármacos y que mejoren su absorción en el organismo.
- c) Disminuir los tiempos y costos de fabricación.
- d) Optimizar las formulaciones ya existentes
- e) O simplemente desarrollar medicamentos ya existentes en el mercado que presentan un interesante volumen de venta.

Para asegurar que el producto que se lanzará al mercado cumple con la calidad, eficacia clínica y seguridad requerida se deben hacer una serie de estudios de investigación que van desde estudios preclínicos, estudios clínicos, hasta el desarrollo farmacéutico este último incluye pruebas de preformulación, desarrollo analítico, validación de métodos analíticos y pruebas de estabilidad entre otros .

Durante este trabajo se mostrará solo un eslabón de la cadena de pruebas que se deben realizar antes de comercializar un nuevo medicamento.

Se trata de validar y comparar dos métodos analíticos para cuantificar la dipirona sódica en una solución inyectable.

Para validar un método analítico se deben llevar a cabo una serie de pruebas con el objeto de comprobar que el método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

Uno de los métodos en estudio es por espectrofotometría con luz U.V. (método de la F.E.U.M.) que será utilizado para los análisis rutinarios de control de calidad y el otro por cromatografía en capa delgada con la posterior cuantificación por espectrofotometría U.V., para el estudio de la estabilidad del medicamento.

II. GENERALIDADES

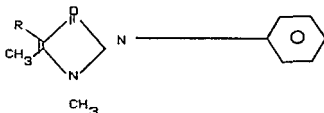
MONOGRAFIA DE LA DIPIRONA SODICA (4, 5, 7, 9, 10)

1.- HISTORIA Y QUIMICA:

Al igual que sucede con otros analgésicos principales, la historia de la dipirona data de hace buen tiempo. El primer derivado de la pirazolona fue la fenazona (antipirina), que se introdujo como antipirético en 1884. La investigación posterior de este grupo de compuestos desembocó en la propifenazona y en la aminopirina.

En 1922 se alcanzó un gran éxito con la síntesis de un derivado hidrosoluble, la DIPIRONA.

La relación química entre estos fármacos puede apreciarse en el siguiente cuadro.



R	NOMBRE GENERICO
H	Fenazona (antipirina)
	Propifenazona
	Aminofenazona Aminopirina amidopirina
	DIPIRONA

1.1 Nombre Genérico:

Fenil-dimetil pirazolona - metil aminometano sulfonato de sodio, Dipirona sódica, Metampirona, Sulpirina, Metamixalsódico, Analgin, Metilmelubrina.

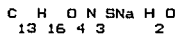
1.2 Nombres Químicos:

N-metil-N-(2,3 dimetil-5-oxo-1-fenil-3-pirazolin-4-il)-aminometansulfonato sódico.

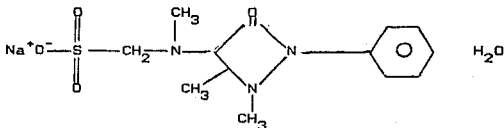
[(2,3-Dihidro-1,5-dimetil-3-oxo-2-fenil-1H-pirazol(-4-il)metil-amino) metansulfónico ácido, sal sódica, monohidrato.

2,3-dimetil-4-metil amino-1-fenil-5-pirazolón-N-metansulfonato sódico.

1.3 Fórmula Condensada:



1.4 Fórmula Desarrollada:



1.5 Peso Molecular: 351.35

2.-TECNICA DE ANALISIS:

2.1 Descripción:

Polvo cristalino blanco o casi blanco, con un sabor ligeramente amargo, inodoro. Contiene no menos del 98% y no más del 101% de dipirona sódica, calculado con referencia a la sustancia anhidra.

2.2 Solubilidad:

Fácilmente soluble en agua (1 g se disuelve en 1.5 ml de agua), soluble en alcohol metílico, ligeramente soluble en alcohol, prácticamente insoluble en eter, acetona, benceno y cloroformo.

2.3 Ensayos de Identidad:

A: Disolver 0.2 g en 5 ml de agua llevar a ebullición y añadir 5 ml de solución al 10% de HCl; aparece un olor característico de anhídrido sulfuroso.

Prolongando la ebullición, aparece un olor a formaldehído.

Añadir algunas gotas de la solución calentada a 0.5 ml de una solución recién preparada de 20 mg de guayacol sulfonato de potasio en 10 ml de ácido sulfúrico; aparece una coloración violeta en el curso de algunos minutos.

B: En un tubo de ensayo que contenga 3 ml de agua acidulada con dos gotas de solución al 10% v/v de ácido clorhídrico, disolver 200 mg de la muestra y agregar 1 ml de solución al 30% de peróxido de hidrógeno alcalinizado. Se produce una coloración azul la cual cambia a rojo carmín y al calentar vira al amarillo.

C: Una porción de la muestra humedecida con ácido clorhídrico produce a la flama una coloración amarilla intensa y duradera.

2.4. Ensayos de pureza:

A: pH. 6.5±0.3. Determinar en una solución acuosa de la muestra al 10% m/v.

B: Pérdida al secado. No más del 5.5% de su peso. En un pesafiltro tarado, pesar aproximadamente 5.0 g de la muestra y secar a 100 grados centígrados hasta peso constante.

C: Sustancias carbonizables. Disolver 0.5 g en 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. El color no debe ser mayor que ligeramente ambarino o rojizo.

D: Solubilidad en metanol. Disolver una muestra de 0.5 g en 10 ml de metanol absoluto. Se obtiene una solución incolora y no más de una ligera turbidez.

E: Impurezas solubles en cloroformo. Pesar en un tubo de ensaye con exactitud aproximadamente 1.0 g de la muestra, agregar 10 ml de cloroformo, colocar en un agitador para tubos, agitar durante 30 minutos, filtrar enseguida y lavar el residuo del filtro con dos porciones de 5 ml de cloroformo cada uno. Evaporar los filtrados reunidos a 100 -105 grados centígrados hasta peso constante. No debe ser mayor del 0.5 por ciento.

F: Metales pesados. Disolver 1.0 g de la muestra en 10 ml de agua. Añadir 1.0 ml de S.R. de amoniaco y 1.0 ml de S. R. de ácido sulfídrico.

Comparar con una solución estándar de plomo tratada de la misma manera. El límite de metales pesados no debe ser mayor de 20 ppm como plomo.

2.5 Valoración:

A: Método espectrofotométrico: Pesar con exactitud 0.15 g de la muestra y pasar a un matraz volumétrico de 200 ml ajustar a volumen con solución 0.1N de ácido clorhídrico, mezclar y filtrar por papel filtro Wathman No 40 descartando los primeros 20 ml del filtrado.

A otro matraz volumétrico de 100 ml pasar 2 ml del filtrado, llevar a volumen con solución 0.1N de ácido clorhídrico y mezclar. En un espectrofotómetro determinar concomitantemente las absorbancias a 258 nm de esta solución y de otra preparada de la misma manera con la Sref de dipirona sódica, utilizando la solución 0.1 N de ácido clorhídrico como blanco.

B: Valoración yodométrica en medio acuoso: A un matraz Erlen Meyer de 250 ml transferir cerca de 200 mg de la muestra, disolver en 50 ml de agua y agregar 3 ml de solución al 6.0 % de ácido acético. Enseguida valorar lentamente, (una titulación de 200 mg deberá tomar aproximadamente 10 min), con solución 0.1 N de yodo, utilizando un agitador magnético y agregando casi al punto final la solución indicadora de almidón. Cada ml de solución 0.1 N de yodo equivale a 16.67 mg de dipirona sódica .

C: Valoración yodométrica en medio metanólico: En un matraz Erlen Meyer disolver alrededor de 200 mg de la muestra en 25 ml de metanol, agregar 5 ml de ácido clorhídrico al 10 % y valorar rápidamente con solución 0.1 N de yodo. Hacia el final de la valoración, agregar la solución de yodo gota a gota hasta producir una coloración amarilla débil que permanezca durante 1 min. Cada ml de solución 0.1N de iodo equivale a 17.57 mg de dipirona sódica monohidratada.

2.6 Conservación:

En recipientes bien cerrados al abrigo de la luz para evitar que tome coloración amarilla.

3.-USOS:

Es un analgésico, antipirético y antirreumático efectivo. En la fiebre reumática disminuye la fiebre y calma los dolores de las articulaciones.

Además se ha demostrado que la dipirona es eficaz para aliviar gran cantidad de estados dolorosos: Dolor dental, dolor posoperatorio, dismenorrea, cefalea, dolor reumático y artrítico, dolores de parto, dolores por cáncer.

4.-ACCION FARMACOLOGICA:

Administrada por vía oral, es eliminada por la orina en el curso de 2 horas después de la aplicación. El efecto antipirético resulta de su acción directa sobre el hipotálamo a través de un efecto sobre los centros termorreguladores del cerebro. El alivio del dolor como el de cabeza, neuralgia y mialgia se obtiene sin afectar el estado consciente.

5.-MECANISMO DE ACCION:

Al igual que otros analgésicos no narcóticos y que otros analgésico antiinflamatorios, antipiréticos no esteroides, la dipirona inhibe el sistema enzimático ciclooxigenasa que es el responsable

de la biosíntesis de las prostaglandinas. Las prostaglandinas en los tejidos, actúan como mediadores de la inflamación, sensibilizan los receptores del dolor frente a las sustancias endógenas que producen dolor, (ej. quinina) y participan en la aparición de estados febriles, ejerciendo influencia sobre los centros termorreguladores hipotalámicos.

6.-REACCIONES SECUNDARIAS:

Siempre que se administra un medicamento se corre un riesgo, debido a que no hay fármacos carentes de efectos indeseables. Esta ley universal de la terapéutica se aplica tanto a los analgésicos como a cualquier otro grupo farmacológico.

Se ha reportado que la dipirona produce: Anuria, anemia hemolítica, trombocitopenia, anemia aplásica, erupciones cutáneas, edemas, temblores, náusea y vómitos, hemorragia gastrointestinal, reacciones alérgicas incluyendo asma y edema angioneurótico y agravación de la deficiencia de protrombina.

7.-TOXICOLOGIA:

La dosis letal por vía intravenosa para la rata albina adulta de 90 a 140 g es de 3.5 g por Kg. Para la rata albina adulta ordinaria es de 7 g/Kg. La dosis crítica fatal es de 5 a 30 g, pero intentos de envenenamiento han sido raros. La dipirona tiene un amplio margen de dosis eficaz y un buen índice de seguridad. El efecto tóxico más peligroso que se deriva del uso de la dipirona en algunos pacientes es la agranulocitosis. Esta se caracteriza por una baja

cantidad de leucocitos en la sangre y casi una total desaparición de granulocitos, fiebre, malestar, ulceraciones en la garganta y otras mucosas, depresión y muerte en el 70% de los casos.

La agranulocitosis puede desarrollarse en pacientes que han tomado el fármaco regularmente ya sea por pocos días, meses y ocasionalmente hasta años. Esto se desarrolla de repente después de una dosis en particular.

La agranulocitosis alérgica provocada por medicamentos, es un padecimiento raro pero potencialmente grave. Se define como un episodio agudo imprevisible de granulocitopenia grave y selectiva a causa de la exposición a medicamentos.

La agranulocitopenia grave se presenta cuando el número de granulocitos es menor de 0.5 por 10 lt. Este valor representa el límite a partir del cual los síntomas clínicos suelen manifestarse.

8.-PRECAUCIONES:

El fármaco debe usarse únicamente en condiciones en las que está específicamente indicado o en las que fármacos menos tóxicos no han producido el efecto deseado o no han sido tolerados. El beneficio potencial que puede producir este fármaco tiene que compararse con la posibilidad de producir agranulocitosis.

9.-PRESENTACIONES:

La dipirona es soluble en agua y por lo tanto se presenta en forma de solución inyectable, gotas y jarabe así como tabletas y supositorios.

La forma inyectable es particularmente útil para tratar a pacientes que presentan vómito diarrea o convulsiones. La solución ingerible produce un efecto de inicio muy rápido y por lo tanto, también es útil en el dolor espasmódico, otra ventaja es que la dosis puede adaptarse individualmente según la edad, peso corporal e intensidad del dolor.

10.-DOSIS:

Adultos: La dosis usual antipirética no debe exceder 0.5-1.0 g por dosis o no más de 3.0 g diarios. Si el efecto deseado no se observa en pocos días el uso del medicamento debe suspenderse.

Niños: 250 a 500 mg por dosis, repetir de 3 a 4 hrs si es necesario.

SOLUCIONES INYECTABLES

1.-PRODUCTOS INYECTABLES:

Los productos estériles son formas farmacéuticas libres de microorganismos viables. Estas formas farmacéuticas son principalmente parenterales, oftálmicos y preparaciones para irrigación. Se pueden presentar como soluciones suspensiones o emulsiones estériles.

Todos los componentes y procesos involucrados en la preparación de estos productos deben ser seleccionados y diseñados de tal manera de eliminar la contaminación ya sea de origen químico, físico o microbiológico. Es por esto que la preparación de productos estériles se ha convertido dentro del proceso farmacéutico en un área de alta especialidad. Los estándares establecidos, la actitud del personal y los controles durante el proceso deben ser de alto nivel.

2.-PREPARACIONES PARENTERALES:

Los preparados parenterales se pueden administrar por varias rutas :

Intravenosa, intraespinal, intramuscular, subcutánea, intradérmica, intraarterial e intracardiaca.

La elección de la vía de administración varía con el medicamento y las necesidades terapéuticas.

Como estos productos se introducen al organismo superando todas sus barreras, es preciso un control muy severo sobre su esterilidad, inocuidad y tolerancia por parte de los tejidos. Es la forma farmacéutica que requiere más cuidados en su preparación porque el organismo es muy sensible a la introducción de elementos extraños pudiendo reaccionar con serias consecuencias.

3.-AREAS ESTERILES:

Una área estéril o área aséptica es aquella en la que se lleva a cabo la preparación y envasado de productos farmacéuticos, que van a administrarse al paciente por vía parenteral.

Los requerimientos de el área estéril se clasifican en 2 principales grupos:

- A: Construcción: Dimensiones, localización, terminados, tuberías, servicios, temperatura, humedad relativa, iluminación, etc.
- B: Operación: Personal, flujo de personal, flujo de materiales, sanitización, evaluación rutinaria del área, controles, etc.

4.-FORMULACION DE UNA SOLUCION INYECTABLE:

La formulación para un producto parenteral involucra la combinación de uno o más ingredientes junto al ingrediente activo para elaborar un producto efectivo, estable y aceptable para el paciente.

Primero se debe evaluar cuidadosamente la combinación de dos o más ingredientes para establecer si ocurre o no alguna interacción, en caso de que esto suceda, buscar el camino para modificar la formulación para que estas reacciones se eliminen.

Antes de iniciar el desarrollo de una formulación es necesario tener información sobre las propiedades básicas de la sustancia, como: peso molecular, solubilidad, pureza, propiedades coligativas estabilidad y reactividad química.

Se deben determinar las propiedades físicas y químicas de la sustancia activa y estudiar su interacción con los excipientes utilizados y el efecto de cada paso del proceso de fabricación en su estabilidad. Una formulación puede estar formada por una variedad de aditivos para que cumpla con los requisitos de estabilidad, y eficacia terapéutica. Algunos de los aditivos que se emplean son: antioxidantes, anestésicos, agentes antibacterianos, amortiguadores y contribuidores de isotonicidad.

4.1.-Vehículos Acuosos:

El vehículo más utilizado en la preparación de una solución inyectable es el agua, ya que es el vehículo de todos los fluidos naturales del cuerpo. Gracias a su elevada constante dieléctrica, hace posible la disolución de electrolitos. Cuando un compuesto se disuelve en agua está en ocasiones sujeto a reacciones de degradación como hidrólisis, oxidación, descarboxilación y racemización. Una formulación debe estar diseñada de tal manera que se reduzcan al mínimo los efectos de degradación.

El agua destinada a la preparación de inyectables debe reunir algunas condiciones muy particulares. El agua estéril para inyectables no debe contener gérmenes, ni pirógenos y debe ser de un bajo contenido de sólidos totales. El agua para la elaboración de inyectables debe obtenerse por destilación, por ósmosis inversa por tratamiento a través de resinas de intercambio iónico

4.1.1.-Pirógenos:

El agua utilizada para soluciones parenterales debe estar libre de pirógenos, para lograr esto es necesario mantener controles estrictos en la preparación y almacenaje del agua.

Los pirógenos son productos del metabolismo de los microorganismos. Se tienen reportes de que algunas bacterias, mohos y virus son productores de pirógenos. La sustancia pirogénica más potente es la endotoxina producida por las bacterias gram-negativas.

Después de una hora de haberse inyectado a una persona los pirógenos producen aumento en la temperatura corporal, escalofríos, dolores del cuerpo, vasoconstricción cutánea y aumento en la presión arterial.

Las causas más comunes de contaminación de pirógenos son, el agua, solutos contaminados y contenedores. Se ha demostrado con estudios que un calentamiento a 650° C por 60 segundos destruye los pirógenos; sin embargo la temperatura de autoclave no los destruye durante un ciclo normal.

Es mejor prevenir la contaminación con pirógenos que intentar eliminarlos, ya que ésta es una tarea difícil de cumplir sin afectar negativamente el producto.

4.2-Vehículos no Acuoso:

No son pocas las veces en que por razones de solubilidad o por riesgo de hidrólisis del agente terapéutico no puede utilizarse al agua como vehículo de soluciones y debe acudir a otros solventes en donde el fármaco es soluble.

Para elegir un solvente no acuoso se debe tener mucho cuidado, ya que este no debe ser irritante o tóxico y no debe producir efectos adversos en los ingredientes de la formulación.

Los solventes no acuosos más usados son polietilenglicol, propilenglicol y aceites vegetales.

4.3.-Anestésicos:

Para disminuir el dolor que producen ciertos preparados al ser inyectados, se agrega a los mismos una pequeña cantidad de un anestésico local. Se denomina así a sustancias que privan de sensibilidad una zona limitada, localizada, sin producir pérdida de conocimiento. Algunos de estos pueden ser: Alcohol bencílico, clorhidrato de piperocaína, clorhidrato de procaína, clorhidrato de lidocaína etc.

4.4.-Agentes Antimicrobianos:

En una formulación multidosis siempre debe incluirse un agente antibacteriano a concentraciones bacteriostáticas. Algunos de estos pueden ser: Alcohol bencílico, timerosal, butilparabeno, metilparabeno y propilparabeno.

4.5.-Antioxidantes.

En muchas formulaciones se incluye un antioxidante para proteger el agente terapéutico susceptible a la oxidación.

Las reacciones de oxidación se pueden reducir desplazando el oxígeno atmosférico por un gas inerte (nitrógeno o dióxido de carbono).

4.6.-Soluciones Amortiguadoras:

Las soluciones amortiguadoras se adicionan para mantener el pH requerido por el producto; un cambio en el pH puede afectar de manera importante la velocidad de degradación. Para seleccionar el sistema amortiguador se debe de considerar, su intervalo efectivo, concentración y el efecto químico que tiene sobre el producto.

ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION

(6, 5, 12)

Los métodos espectroscópicos de análisis se basan en la medida de la radiación electromagnética emitida o absorbida por la materia.

METODOS DE EMISION: Estos utilizan la radiación emitida cuando un analito es excitado por energía térmica, eléctrica o energía radiante

METODOS DE ABSORCION: Estos están basados en la disminución de la tencia (o atenuación de la radiación electromagnética), como consecuencia de la absorción que se produce en su interacción con el analito.

Los métodos espectroscópicos se clasifican según la región del espectro electromagnético que esté implicada; siendo las más importantes las regiones de rayos X, ultravioleta, visible, infrarroja, microonda y radio frecuencia.

La radiación electromagnética es una forma de energía que se transmite a través del espacio a grandes velocidades. Para los procesos asociados con la absorción y la emisión de energía radiante, es necesario considerar la radiación electromagnética como un flujo de partículas discretas o paquetes de energía llamados fotones o cuantos.

ABSORCION DE RADIACION ELECTROMAGNETICA: Se denomina absorción al proceso en el cuál una especie en un medio transparente, capta selectivamente ciertas frecuencias de la radiación electromagnética. El fotón absorbido hace pasar la especie M a un estado excitado M*, como se muestra en la ecuación:

$$M + hv = M^*$$

donde: h = constante de Plank.

ν = frecuencia de la radiación.

Tras un corto periodo se pierde la energía de excitación, generalmente en forma de calor y la especie vuelve a su estado fundamental es decir:

$$M^* = M + \text{calor}$$

1.-LEY DE BEER:

Los principios que rigen la absorción de la radiación se aplican a todas las regiones del espectro electromagnético, desde los rayos gama a la radio frecuencia. La absorción se mide determinando la disminución de potencia experimentada por un haz de radiación, como resultado de las interacciones con las especies absorbentes situadas en la trayectoria de dicho haz.

$$\log P_0/P = \epsilon bc = A$$

donde: P_0 = Potencia incidente.

P = Potencia radiante.

ϵ = absortividad molar.

b = longitud del camino óptico.

c = concentración en moles por litro.

A = absorbancia.

LIMITACION A LA APLICACION DE LA LEY DE BEER:

DESVIACIONES REALES: La relación lineal entre la absorbancia y la longitud del camino óptico a través de la solución, (donde c es constante) es una generalización para la cual existen pocas excepciones.

Por otra parte se observan frecuentemente desviaciones de la proporcionalidad directa entre absorbancia y concentración, (cuando b es constante), algunas de estas desviaciones son importantes y representan limitaciones reales de la ley.

DESVIACIONES INSTRUMENTALES: Son la que ocurren como consecuencia de la forma en que se realizan las medidas de absorbancia.

DESVIACIONES QUIMICAS: Ocurren como consecuencia de cambios químicos asociados con los cambios de concentración.

2.-PROCESO DE ABSORCION:

Los átomos, moléculas e iones tienen un número limitado de niveles discretos de energía cuantizada. Para que se produzca la absorción, la energía del fotón debe coincidir exactamente con la diferencia de energía existente entre el estado fundamental de la especie absorbente y uno de sus niveles energéticos excitados. Estas diferencias de energía son únicas para cada especie y originan espectros característicos que se utilizan frecuentemente para la identificación cualitativa y la determinación cuantitativa tanto de sustancias orgánicas como inorgánicas.

La energía total de una molécula viene dada por:

$$E = E \text{ electrónica} + E \text{ vibracional} + E \text{ rotacional}$$

donde:

E electrónica: es la energía asociada a los electrones de los orbitales externos de la molécula.

E vibracional: es la energía de la molécula considerada como un todo debido a las vibraciones interatómicas.

E rotacional: es la energía asociada a la rotación de la molécula alrededor de su centro de gravedad.

ABSORCION EN LAS REGIONES ULTRAVIOLETA Y VISIBLE : Las energías necesarias para producir transiciones de los electrones externos de una molécula corresponden a radiaciones en las regiones ultravioleta y visible.

Los electrones implicados en dobles y triples enlaces de moléculas orgánicas no están tan fuertemente retenidos como en los enlaces sencillos, y son, por tanto, más fácilmente excitados por la radiación; así pues, las especies con enlaces insaturados generalmente presentan unos máximos de absorción útiles.

Los grupos funcionales orgánicos insaturados que absorben en las regiones ultravioleta y visible se denominan cromóforos.

3.-EQUIPO INSTRUMENTAL PARA LA MEDIDA DE LA ABSORCION:

Independientemente de la región del espectro implicada, los instrumentos que miden la transmitancia o absorbancia de una solución se componen de cinco elementos básicos:

- 1.) Una fuente estable de energía radiante.
- 2.) Selector de longitudes de onda para aislar una determinada región de longitudes de onda de la fuente.
- 3.) Cubetas transparentes para la muestra y el blanco.
- 4.) Un detector de radiaciones, o transductor para convertir la energía radiante recibida en una señal medible.

5.) Un dispositivo de lectura que muestra la señal convertida del detector.

fuente de _____ selector de _____ disolvente _____ detector _____ medidor
radiación _____ longitud _____ muestra _____
de onda

(1)

(2)

(3)

(4)

(5)

Hay instrumentos utilizables en la región visible del espectro, por lo general entre 380nm y 700nm y en las regiones visibles y ultravioleta, generalmente entre 180nm y 700nm.

Se encuentran instrumentos de un solo haz y de doble haz y ambos son igualmente útiles. Las celdas que suelen emplearse en estas zonas, son celdas de absorción de 1 cm de vidrio o sílice con ventanas.

Un espectrofotómetro está equipado con un monocromador de prisma o red que permite la selección de cualquier longitud de onda dentro de la capacidad del instrumento. Los espectrofotómetros son adecuados para realizar medidas en las regiones ultravioleta, visible e infrarroja.

4. -ANÁLISIS ABSORCIOMÉTRICO CUANTITATIVO:

La espectroscopía de absorción en las regiones ultravioleta y visible es una de las herramientas más ampliamente utilizadas para el análisis cuantitativo.

Las siguientes características son las más importantes al usar este método.

- a) Este método tiene gran aplicación ya que existe un gran número de especies inorgánicas y orgánicas que absorben en la región ultravioleta y visible.
- b) Poseen sensibilidad entre moderada y alta si se logra encontrar una región de longitud de onda en la que el analito sea la única especie absorbente de la muestra.
- c) Buena exactitud, ya que el error que se puede presentar en una medida espectrofotométrica típica es del orden del 1 al 3 por ciento.
- d) Fácil y comodo de usar.

Variables que influyen en la absorbancia:

- a.- Naturaleza del disolvente.
- b.- pH de la solución.
- c. Temperatura.
- d.- Concentraciones elevadas de electrolitos.
- e.- Presencia de sustancias interferentes.

Los efectos de estas variables se deben conocer y se deben elegir las condiciones de análisis de forma que la absorbancia se vea lo menos afectada.

CROMATOGRAFIA

(2, 3,)

Las formulaciones farmacéuticas son mezclas complejas que incluyen además de uno o más ingredientes activos un número de materiales inertes tales como diluentes, desintegrantes, colores, sabores conservadores, etc. Para asegurar la estabilidad del producto final, se debe tener un método capaz de separar estas mezclas en componentes individuales. Entre las técnicas de mayor aplicación para la resolución de estas mezclas, destaca un grupo de métodos de alta eficiencia que son llamados colectivamente cromatografía.

La cromatografía es una técnica desarrollada a principios de siglo, que permite la separación de sustancias que se encuentran en una mezcla. El nombre cromatografía se debe a que las primeras separaciones se llevaron a cabo con pigmentos de plantas, los cuales se observan como bandas coloridas. En general, la cromatografía es un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil, gas o líquido y retenidos selectivamente por una fase estacionaria que puede ser un líquido o un sólido.

Basándose en el estado físico de la fase estacionaria y la fase móvil, en las propiedades fisicoquímicas, (solubilidad, grado de ionización, punto de ebullición, polaridad) y en las interacciones entre los tres componentes del sistema, la cromatografía puede dividirse en cuatro tipos:

- 1.-Cromatografía de absorción.
- 2.-Cromatografía de partición.

3.-Cromatografía de intercambio iónico.

4.-Cromatografía de exclusión.

Si la fase estacionaria es un sólido, el proceso es llamado cromatografía de adsorción; si la fase estacionaria es un líquido, se llama cromatografía de partición.

1.-CROMATOGRAFIA DE ADSORCION:

La fase móvil que contiene los solutos disueltos pasa por la superficie de la fase estacionaria. La retención de los componentes y su consecuente separación depende de la disponibilidad de los átomos de la superficie para remover los solutos de la fase móvil y adsorberlos temporalmente por medio de fuerzas electrostáticas. Si la fase móvil es un líquido, el proceso se llama cromatografía líquido-sólido, pero si la fase móvil es un gas, el método es llamado cromatografía gas-sólido.

2.-CROMATOGRAFIA DE PARTICION:

Un material sólido inerte, tal como la sílica gel o tierra de diatomeas, sirve como soporte a una capa delgada de líquido la cual es la fase estacionaria; la fase móvil que contiene los solutos pasa cerca de esta fase líquida y entonces se lleva a cabo la retención y la separación de los solutos entre los dos fluidos; esta separación depende de los coeficientes de partición de los solutos. Si la fase móvil es un líquido, este tipo de cromatografía de partición se denomina cromatografía líquido-líquido, y si la fase móvil es un gas el proceso se llama cromatografía gas-líquido.

3.-CROMATOGRAFIA DE INTERCAMBIO IONICO:

La fase móvil consiste en una matriz polimérica rígida cargada ya sea positiva o negativamente. Si tiene carga positiva da sitios de intercambio positivos (R+) que atraen y retienen a los aniones de la muestra (X-). Este proceso se denomina de intercambio aniónico y puede representarse por:



El proceso complementario de intercambio catiónico ocurre cuando la superficie de la resina tiene cargas negativas, (R-) que atraen y retienen a los cationes de la muestra (X+) y su intercambio puede representarse por:



La separación se basa en la fuerza de las interacciones entre los iones de la muestra y los sitios de intercambio. Los iones que interactúan débilmente con los sitios de intercambio se retienen poco, mientras que los iones que tienen interacciones fuertes se retienen más.

4.-CROMATOGRAFIA DE EXCLUSION:

La fase estacionaria es una sustancia polimérica que contiene numerosos poros de dimensiones moleculares. Los solutos cuyo tamaño molecular es suficientemente pequeño se separan de la fase móvil para difundirse en los poros. Las moléculas grandes, que no caben dentro de los poros, permanecen en la fase móvil y no son retenidas. Este método es el más adecuado cuando se trata de separar mezclas en las cuales los solutos varían considerablemente en tamaño molecular.

La fase móvil en la cromatografía de exclusión puede ser líquida o gaseosa.

CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

La cromatografía en capa delgada es una de las técnicas de separación más populares y ampliamente usadas en el análisis farmacéutico cualitativo y cuantitativo, ya que es sencilla versátil, sensible, reproducible y barata. Pero el área farmacéutica no es su único campo de aplicación sino también es útil en áreas como la de alimentos y toxicología.

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

permiten que la fase móvil pase entre las partículas del adsorbente.

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

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

Criterio para la separación cromatográfica

En todo procedimiento cromatográfico las condiciones óptimas para la separación se obtienen de una selección adecuada de las fases móvil y estacionaria .

La elección de las fases móvil y estacionaria se debe hacer de acuerdo al problema particular en estudio y considerando la estructura química y el comportamiento cromatográfico del soluto. De aquí la importancia de conocer conceptos como el de polaridad y coeficiente de distribución.

1.-POLARIDAD:

La definición de polaridad esta basada en la afinidad que presenta un compuesto por la fase estacionaria; así por ejemplo un solvente polar tiene la característica de arrastrar fácilmente a los solutos polares a través de un sistema cromatográfico, mientras que un solvente no polar arrastra a los solutos no polares.

La polaridad depende de la naturaleza de los grupos funcionales, la siguiente secuencia ilustra el concepto de polaridad en relación a la actividad de grupos funcionales sin considerar interacciones moleculares.

-NH+X- > RCOOH > -OH > -NH > -OCOCH > -HR > -NO > -OR > ARILO > ALQUILO

2.-COEFICIENTE DE DISTRIBUCION:

El factor principal en cualquier forma de cromatografía es el coeficiente de distribución (K) de una sustancia entre las dos fases del sistema cromatográfico.

$$K = \frac{\text{cantidad de soluto por unidad de fase estacionaria}}{\text{cantidad de soluto por unidad de fase móvil}}$$

En la cromatografía de adsorción, K depende de la temperatura y de la concentración del soluto. A una temperatura dada la relación entre la cantidad de soluto en cada fase puede expresarse gráficamente por la isoterma de adsorción.

La isoterma ideal es una línea recta con pendiente igual a uno, que se obtiene al graficar la concentración del soluto en la fase estacionaria contra su concentración en la fase móvil.

Si al desarrollar una placa se obtienen manchas poco definidas con tendencia al barrido y con forma de gota que cae o se levanta, es porque la isoterma de adsorción no es lineal sino concava o convexa.

Es por esta razón que en CCD se busca trabajar a concentraciones en las que la isoterma de adsorción se aproxima a la línea recta.

Cuando dos sustancias en una mezcla tienen diferentes isotermas de distribución pueden ser separadas con excelentes resultados.

3.-FASE MOVIL:

El éxito en la cromatografía en capa delgada depende en gran medida de la selección adecuada de la fase móvil por la que deben considerarse algunas recomendaciones:

a) Muchos disolventes son higroscópicos y pueden ser afectados por la humedad, por lo que es conveniente almacenarlos en lugares secos y en recipientes bien cerrados.

b) Las condiciones y tiempo de almacenamiento pueden causar deterioro en los disolventes, por lo que debe procurarse no utilizar disolventes viejos.

c) La mezcla de disolventes no debe prepararse con mucha anticipación, ya que puede haber interacciones que modifiquen la naturaleza de la mezcla.

d) La mezcla de disolventes no debe usarse varias veces, ya que puede variar la composición al evaporarse alguno de los componentes al abrir la cámara cromatográfica.

4.-ADSORBENTES:

Los adsorbentes que se usan más comunmente en cromatografía en capa fina son: sílica gel, albúmina, tierra de diatomeas y celulosa en polvo, entre otros.

Cualquiera de los adsorbentes que se mencionaron se pueden usar puros, pero es mas conveniente incorporarles un agente aglutinante, por ejemplo sulfato de cálcio y almidón para que tenga una mayor cohesión. Ya que la adsorción es esencialmente un fenómeno de superficie, el grado de separación depende del área de superficie de un adsorbente, de aquí el interés por los adsorbentes con tamaño de partícula pequeño.

REQUISITOS PARA EL TRAMITE DE REGISTRO
DE MEDICAMENTOS EN MEXICO

Para que un medicamento pueda comercializarse en México es necesario que este registrado ante la Secretaría de Salud.

Este registro indica que el medicamento ha sido analizado y dictaminado como eficaz y seguro. Para esto es necesario cumplir con una serie de requisitos que se encuentran fundamentados en la legislación vigente constituida por:

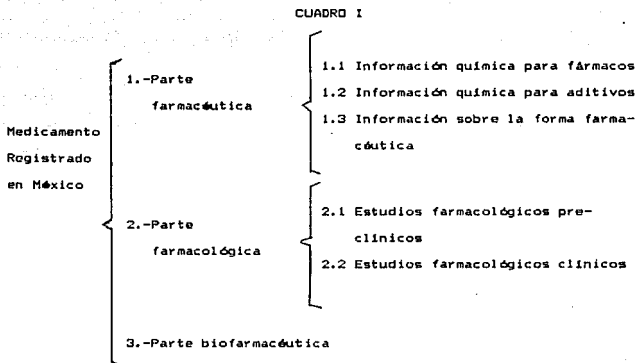
- LEY GENERAL DE SALUD.
- REGLAMENTO EN MATERIA DE INVESTIGACION PARA LA SALUD.
- REGLAMENTO DE LA LEY DE SALUD EN MATERIA DE CONTROL SANITARIO DE ACTIVIDADES, ESTABLECIMIENTOS, PRODUCTOS Y SERVICIOS.
- FARMACOEPA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS QUINTA EDICION, SECRETARIA DE SALUD, MEXICO 1988.

El trámite de registro de medicamentos se divide en dos grupos:

A)MEDICAMENTOS YA REGISTRADOS EN MEXICO.

B)MEDICAMENTOS DE NUEVO REGISTRO EN MEXICO.

Primeramente se mencionarán en forma resumida los requisitos que se deben cumplir en el caso de un medicamento ya registrado en México (Cuadro I).



1.1 Como información química para fármacos se debe preparar una monografía que contenga cada uno de los siguientes puntos:

- a) Nombre genérico internacional (INN/DMS).
- b) Nombre químico (IUPAC).
- c) Fórmula desarrollada.
- d) Fórmula condensada.
- e) Masa molecular.
- f) Descripción.

- g) Propiedades fisicoquímicas y biológicas (según el caso) Metodología analítica (lineal reproducible y exacta)
- h) Condiciones de manejo, conservación y almacenaje

Además se debe incluir en papel membretado y firmado por el -
Responsable Sanitario de la empresa lo siguiente:

- a) Resumen del procedimiento de obtención.
- b) Prueba de estabilidad de tres lotes; ya sea a temperatura ambiente para los importados, y estabilidad acelerada para los nacionales.
- c) Certificado de análisis de acuerdo a lo que marque la monografía.

1.2 La información química que se debe presentar depende del tipo de aditivos.

- a) Colorantes de acuerdo al último CFR publicado y a las restricciones de uso del Comité de Aditivos de la Comisión Permanente de la Farmacopea de los E.U.M.
- b) Saborizantes: Certificado analítico del proveedor.
Certificado analítico del laboratorio.

- c) Otros componentes: Nombre químico.
 - Referencia bibliográfica completa de la monografía.
 - Certificado analítico de acuerdo a la monografía
- d) En caso de tratarse de compuestos de procedencia extranjera no es necesario legalizar el certificado.

1.3 Sobre la forma farmacéutica se debe presentar la siguiente documentación.

- a) Forma Farmacéutica.
- b) Fórmula cuali-cuantitativa.
- c) Resumen del diagrama de flujo del procedimiento de fabricación.
- d) Monografía del producto terminado incluyendo características fisicoquímicas, especificaciones, métodos analíticos.
- e) Certificado analítico completo incluyendo nombre comercial, forma farmacéutica, tamaño de lote, número de lote fecha de fabricación, tipo de envase primario pruebas de hermeticidad, condiciones de conservación y almacenaje y fecha de análisis.
- f) Pruebas de estabilidad acelerada (tres lotes) y en base a ellas, proponer una fecha de caducidad.
- g) Certificado de libre venta emitido por la Autoridad Sanitaria del país de origen debidamente legalizado.

- h) Proyectos de marbete para la presentación venta al público y/o sector salud.

2.1 Parte Farmacológica:

- a) Un resumen de la actividad farmacológica preclínica que sugiera efectividad terapéutica, que deberá acompañarse con la información completa.
- b) Estudios de Seguridad.

I-TOXICOLOGIA (debe documentarse)

- Aguda (DL 50) Se debe realizar en tres especies de animales.
- Subcrónica Realizar en dos especies animales durante 3 a 6 semanas.
- Crónica Realizar en dos especies animales con tres niveles de dosis.

II-Efectos sobre la reproducción:

(Realizar las pruebas en una especie in vivo)

III-Mutogénesis:

(Realizar las pruebas in-vitro)

IV-Carcinogénesis:

(Realizar in-vitro y/o in-vivo)

2.2 ESTUDIOS FARMACOLOGICOS CLINICOS:

FASE I: Desarrollo Del Perfil Farmacológico:

- a) Dosis Máxima Tolerada.
- b) Dosis-Efecto.

- c) Duración-efecto.
- d) Efectos sobre constantes biológicas.
- e) Efectos colaterales iniciales.
- f) Farmacocinética : Absorción, Distribución, Biotransformación Concentraciones plasmática Vida media, Excreción.

FASE II: Estudios piloto de eficacia y tolerancia.

- a) Eficacia a dosis variables.
- b) Dosis máxima tolerada y mínima efectiva .
- c) Dosis terapéutica media o dosis eficaz media.
- d) Seguridad: Tolerancia a dosis variables.
Efectos sobre constantes biológicas.
Efectos adversos.

FASE III: Perfil Terapéutico y de Seguridad con la Forma Farmacéutica Definitiva.

- a) Estudios comparativos.
- b) Indicaciones primarias.
- c) Contraindicaciones.
- d) Efectos adversos.
- e) Interacciones.
- f) Incompatibilidades.
- g) Antídotos.
- h) Precauciones.

3.-Parte Biofarmacéutica:

Se debe presentar documentos de Biodisponibilidad y Bioequivalencia.

B: MEDICAMENTOS DE NUEVO REGISTRO EN MEXICO

Cuando se quiere registrar un medicamento nuevo en México es necesario enviar la misma documentación que cuando se trata de un medicamento ya registrado, la diferencia esta en que los estudios de farmacología Preclínica, Farmacología Clínica y Estudios de Bioequivalencia deben de realizarse además de documentarse.

Para cualquiera de los dos casos de trámite de registro es necesario, acompañar la documentación con la solicitud que aparece en el Anexo I.

MODIFICACIONES A LAS CONDICIONES DE REGISTRO

Cuando se desea modificar alguna de las condiciones del registro se debe llenar una solicitud como la que aparece en el Anexo II y acompañarla de la siguiente información:

- a) Si se trata de un cambio de vehículo hay que incluir la información química para aditivos y la información sobre la forma farmacéutica



SECRETARIA DE SALUD
SUBSECRETARIA DE REGULACION SANITARIA
DIRECCION GENERAL DE CONTROL DE INSUMOS PARA LA SALUD

718-4-85



(LLENARSE A MAQUINA EN ORIGINAL Y DOS COPIAS)

ANEXO I

SOLICITUD DE REGISTRO DE MEDICAMENTOS		No DE ENTRADA	
C. DIRECTOR GENERAL P R E S E N T E		USO EXCLUSIVO SPA	
NOMBRE DEL TITULAR DEL REGISTRO		FECHA	
DOMICILIO CON CODIGO POSTAL		DIA MES AÑO	
TELEFONOS	TELEX	No DE EXPEDIENTE	
SOLICITA A USTED ATENTAMENTE REGISTRO DEL PRODUCTO		REG. FED. DE CAUSANTES	
MARCA REGISTRADA O NOMBRE COMERCIAL		LICENCIA SANITARIA	
NOMBRE GENERICO		No	
FORMA FARMACEUTICA		VIGENTE HASTA	
		FECHA MES AÑO	
		REGISTRO (FA) No	
		VIGENTE HASTA DIA MES AÑO	
		REG. CANIFARMA	
DATOS GENERALES DEL MEDICAMENTO			
ALOPATICO	<input type="checkbox"/>	MONOFARMACO	<input type="checkbox"/>
HOMEOPATICO	<input type="checkbox"/>	POLIFARMACO	<input type="checkbox"/>
		PLANTAS MEDICINALES	<input type="checkbox"/>
		IMPORTADO: MATERIA PRIM	<input type="checkbox"/>
		PRODUCTO TERM	<input type="checkbox"/>

BAJO PROTESTA DE DECIR VERDAD

NOMBRE Y FIRMA DEL TITULAR DEL REGISTRO
O DE SU REPRESENTANTE LEGAL

NOMBRE Y FIRMA DEL QUIMICO RESPONSABLE
DEL ESTABLECIMIENTO

I COMPOSICION CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DEL MEDICAMENTO

**A- FORMULA INVARIABLE
(FARMACOS ACTIVOS)**

	DESCRIPCION +	CANTIDAD(SI) O POTENCIA++ DE LA(S) PRESENTACION(ES)		
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				

+ UTILICE LA DENOMINACION COMUN INTERNACIONAL (DCI) EN ESPAÑOL APROBADA POR LA OMS, PUBLICADA EN LAS LISTAS OFICIALES: EN EL CASO DE NO EXISTIR ESTA DENOMINACION SIRVASE ANOTAR EL NOMBRE QUIMICO CONDENSADO: EN ESTE CASO LA SSA DETERMINARA POSTERIORMENTE LA DENOMINACION DEFINITIVA

++ EN LAS COLUMNAS DE CANTIDAD, UTILICE EL SISTEMA INTERNACIONAL DE UNIDADES (SI). SI SE TRATA DE UNIDADES BIOLÓGICAS, ESPECIFIQUE ESTAS

B- FORMULA VARIABLE
(EXCIPIENTES, VEHICULOS Y ADITIVOS)

	DESCRIPCION	CANTIDAD (SI)
11	_____	_____
12	_____	_____
13	_____	_____
14	_____	_____
15	_____	_____
16	_____	_____
17	_____	_____
18	_____	_____
19	_____	_____
20	_____	_____

EN FORMULA VARIABLE UTILICE NOMBRES QUIMICOS CONDENSADOS SEGUN LA NOMENCLATURA DE LA UNION INTERNACIONAL DE QUIMICA PURA Y APLICADA (U I Q P A)

II MATERIAS PRIMAS USADAS EN LA ELABORACION DEL PRODUCTO Y SU REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

III ENVASE PRIMARIO

MATERIAL Y ESPECIFICACIONES

TIPO

CAPACIDAD

IV- ENVASE SECUNDARIO

MATERIAL

TIPO

CAPACIDAD

**V- IDENTIFICACION E INSTRUCCIONES ESPECIFICAS DE LA(S) PRESENTACION(ES)
DEL MEDICAMENTO**

PRODUCTO PARA USO

1.- EN EL PAIS

2.- EXPORTACION

3.- SECTOR SALUD

**CLAVE DEL CUADRO BASICO DE MEDICAMENTOS DEL SECTOR SALUD
(EN SU CASO) _____**

USO EXCLUSIVO SSA

ART. 226 DE LA LEY GENERAL DE SALUD, FRACCION _____

VI.- INDICACIONES TERAPEUTICAS

- 1.-
- 2.-
- 3.-
- 4.-
- 5.-

ANOTELAS EN ORDEN DE IMPORTANCIA

VII.- CONTRAINDICACIONES

**VIII.- REACCIONES SECUNDARIAS Y ADVERSAS. MEDIDAS TERAPEUTICAS PARA
COMBATIRLAS EN SU CASO
USO EN EL EMBARAZO Y LACTANCIA**

IX.- TOXICIDAD AGUDA Y CRONICA (ANTIDOTOS EN SU CASO)

X.- INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS Y/O ALIMENTARIAS

XI.- LEYENDAS DE ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES

ESTE DATO PODRA FIGURAR POR SEPARADO EN UN INSTRUCTIVO QUE SE ANEXE A ESTA SOLICITUD

SI EL ESPACIO ES INSUFICIENTE, AGREGUE UN ANEXO HACIENDO REFERENCIA AL NUMERO ROMA — NO CORRESPONDIENTE

CONSULTE LAS "HOJAS DE REQUISITOS" EN DONDE APARECE LA RELACION DE DOCUMENTOS QUE DEBEN ANEXARSE A ESTA SOLICITUD

VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

(11)

Para que un medicamento sea lanzado al mercado es muy importante que cumpla con los requisitos de calidad, seguridad y eficacia clínica, ya que el objetivo principal es que cure alivie o prevenga una enfermedad.

Una de las maneras con que se cuenta para poder lograr este objetivo es asegurarse que el método analítico que se utiliza, para analizar el medicamento sea efectivo y capaz de detectar impurezas, sustancias relacionadas provenientes de la síntesis del fármaco y productos de degradación del principio activo, colocado bajo diferentes condiciones de almacenamiento.

VALIDACION DE METODOS ANALITICOS: Es un proceso de estudios de laboratorio, en el que se establece, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa en términos de parámetros analíticos. Los parámetros que deben de considerarse en la validación de un método analítico son los siguientes.

1. LINEARIDAD a) Linearidad del sistema.
b) Linearidad del método.
2. PRECISION a) Precisión del sistema.
b) Precisión del método.
-Repetibilidad.
-Reproducibilidad.
3. EXACTITUD

4. ESPECIFICIDAD:

- a) Especificidad para métodos de control de calidad.
- b) Especificidad para métodos indicadores de estabilidad.

5.-ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA

1. LINEARIDAD: La linealidad de un sistema o método analítico, indica que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado. Entendiéndose por intervalo las diferentes concentraciones que existen entre los niveles superior inferior de la sustancia, en el cual, el método ha demostrado ser preciso, exacto y lineal.

a) LINEARIDAD DEL SISTEMA: Se utiliza una solución patrón a partir de la cual se preparan 5 diluciones y se hacen análisis para cada dilución por duplicado. Con los resultados obtenidos se construye una curva de calibración.

b) LINEARIDAD DEL METODO: Se determina a partir de placebos adicionados, de cuando menos 3 diferentes cantidades de la sustancia de interés (placebos cargados), cada uno de manera independiente, ha haciendo los análisis por triplicado.

2. PRECISION: La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico, bajo las condiciones normales de operación.

a) PRECISION DEL SISTEMA: Se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución estandar correspondiente al 100% establecido en la linealidad del sistema.

b) REPETIBILIDAD: Es la precisión de un método analítico, expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones, (analista, tiempo, laboratorio).

c) REPRODUCIBILIDAD: Es la precisión de un método analítico, expresado como la concordancia, entre determinaciones independientes realizadas bajo diferentes condiciones, (diferente analista, en diferentes días, en el mismo y/o diferentes laboratorio, utilizando el mismo y/o diferente equipo).

3. EXACTITUD: La exactitud de un método analítico, es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

4. ESPECIFICIDAD: Es la propiedad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

5. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA: Se determina mediante la comparación de los resultados de los análisis iniciales de 3 muestras con los obtenidos de las mismas muestras después de permanecer por un tiempo determinado en diferentes condiciones.

III PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

El fármaco en estudio es la dipirona sódica en una solución inyectable, conteniendo 1g en dos mililitros de solución.

El trabajo experimental consistió en la validación y comparación estadística de dos métodos analíticos para la cuantificación de la dipirona sódica, uno por espectrofotometría ultravioleta y el otro por cromatografía en capa delgada. En este último se realiza una separación del producto de los demás componentes de la formulación y de los productos de degradación y su posterior cuantificación por espectrofotometría.

El método por C.C.D. es útil para el estudio de estabilidad del producto.

1. METODO ESPECTROFOTOMETRICO PARA LA DETERMINACION DE DIPIRONA

1.1. Materiales y equipo utilizados.

Espectrofotómetro U.V. Lamda 2 Perkin Elmer.

Matraces volumétricos.

Pipetas volumétricas.

1.2. Reactivos.

Agua destilada.

Solución 0.01 N de ácido clorhídrico.

1.3. Preparación de las soluciones.

Solución de referencia:

Pesar con exactitud alrededor de 40 mg de dipirona sódica estándar de referencia, transferir a un matraz volumétrico de 100 ml, llevar a volumen con agua destilada y mezclar.

Transferir una alícuota de 5 ml a un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a volumen con solución 0.01N de ácido clorhídrico y mezclar.

Solución problema:

Transferir una alícuota de 2 ml de la solución de dipirona sódica obtenida de 10 ampollitas a un matraz volumétrico de 100 ml llevar a volumen con agua destilada y mezclar. Transferir una alícuota de 10 ml a un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a volumen con agua destilada, mezclar.

Tomar una alícuota de 2ml de la solución anterior y transferirla a un matraz volumétrico de 100 ml llevar a volumen con solución 0.01N de ácido clorhídrico (conc.: 0.02 mg/ml).

Leer las absorbancias de las soluciones estándar y problema en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 257 nm, usando como blanco de ajuste una solución conteniendo 5 partes de agua destilada con 95 de solución 0.01N de ácido clorhídrico

1.4.Cálculos.

$$\text{mg dipirona sódica/ampollita} = \frac{A_m \times C_s \times \text{Pot.est} \times F_d}{A_{\text{est}} \times 1000}$$

Donde:

A_m = Absorbancia de la muestra.

A_{std} = Absorbancia del estándar.

C_s = Concentración del estándar.

F_d = Factor de dilución = 50000.

1000 = Contenido de principio activo (mg) x ampollita.

Pot.est = Potencia del estándar.

2.-METODO POR CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA PARA LA
DETERMINACION DE DIPIRONA SODICA.

2.1.- Materiales y Aparatos.

Equipo para cromatografía en capa delgada.
Cromatoplaaca de vidrio de 20x20 cm recubierta con una
capa de gel de sílica (Merck) con indicador fluorescente.
Microjeringa Hamilton de 50 mcl de capacidad.
Papel filtro Whatman No. 40.
Espectrofotómetro U. V. Lambda 2 Perkin Elmer.
Matraces y pipetas de vidrio.

2.2.-Reactivos.

Hidróxido de amonio R. A.
Butanol R. A.
Acetona R. A.
Butil acetato R. A.
Acido clorhídrico A. R.
Agua destilada R. A.

2.3. Preparación de las soluciones.

2.3.1. Fase Móvil:

1 parte de solución de amoniaco al 10%.
9 partes de agua.
30 partes de 1-butanol.
40 partes de acetona.
50 partes de butil acetato.

2.3.2. Solución de Referencia.

Pesar 500 mg de sustancia de referencia de dipirona sódica colocar en un matraz volumétrico de 25 ml, disolver con metanol, mezclar y llevar a volumen con metanol.

2.3.3. Preparación de la Muestra.

Transferir una alícuota de 2 ml de la solución de dipirona sódica obtenida de 10 ampollitas dentro de un matraz volumétrico de 50 ml, llevar a volumen con metanol, mezclar.

2.3.4. Procedimiento.

Dividir la cromatoplaca en cinco carriles de aproximadamente 4 cm de ancho cada uno. Aplicar con una microjeringa, por duplicado, 50 µl de la solución de la muestra, y por duplicado, 50 µl de la solución de referencia. En el carril sobrante aplicar 50 µl de metanol como blanco.

Colocar la cromatoplaca en una cámara cromatográfica forrada interiormente con papel filtro y saturada previamente durante 30 minutos con 100 ml de la fase móvil.

Dejar correr el solvente hasta 14 cm arriba del punto de aplicación. Retirar la cromatoplaca y dejar evaporar el solvente.

Observar la cromatoplaca bajo luz ultravioleta y marcar las zonas correspondientes a la dipirona (mancha inferior), de acuerdo a la solución de referencia y una zona del mismo tamaño del carril correspondiente al blanco. Transferir cuantitativamente las porciones de sílica marcadas a un tubo de ensayo de 50 ml. Adicionar a cada tubo volumétricamente 20 ml de solución 0.01N de ácido clorhídrico, agitar durante 5 min.

Filtrar a travez de papel filtro Whatman No 40. Determinar las absorbancias de las soluciones en celdas de 1 cm en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 257.2 nm.

2.3.5.- Cálculos.

Calcular la cantidad de dipirona sódica por ampollita de la siguiente manera:

$$\text{mg de dipirona/ampollita} = \frac{\text{Am} \times \text{Cstd} \times \text{Potstd} \times \text{V.P.} \times 50000}{\text{Astd} \times 2 \text{ ml}}$$

Donde:

Am = Absorbancia de la muestra.

Astd = Absorbancia del estandar.

Cstd = Concentración del estandar.

Potstd = Potencia del estandar.

2 ml = Alicuota de muestra.

V.P. = Volumen promedio.

50000 = Factor de dilución.

3.-VALIDACION DE LOS METODOS ANALITICOS.

3.1. Linearidad del sistema.

Se determina construyendo una curva de calibración graficando la concentración de dipirona sódica contra la respuesta analítica.

Se prepara una solución patrón y a partir de esta se hacen las diluciones adecuadas para obtener las siguientes concentraciones.

Concentración	Corresponde a
0.008 mg/ml	40%
0.016 mg/ml	80%
0.020 mg/ml	100%
0.024 mg/ml	120%
0.028 mg/ml	140%

Los análisis se realizan por duplicado siguiendo los dos métodos anteriormente descritos.

Los parámetros que califican la linealidad del sistema son:

Coefficiente de variación (C.V.) y coeficiente de determinación (r^2).

3.2. Precisión del sistema.

La precisión del sistema se probó preparando seis diluciones con una concentración correspondiente al 100% de dipirona sódica, concentración final de 20 mcg/ml. El parámetro que califica la precisión del sistema es el coeficiente de variación (C.V.).

3.3. Linealidad del método.

Se determinó con placebos adicionados del principio activo, cada uno de manera independiente, a cinco diferentes concentraciones de dipirona sódica

Porcentaje	Conc. Final (mg/ml)	Peso de dipirona sódica
40%	0.008	400 mg
80%	0.016	800 mg
100%	0.020	1000 mg
120%	0.024	1200 mg
140%	0.028	1400 mg

El análisis se realiza por triplicado y se grafican la cantidad recuperada contra la cantidad adicionada. Los parámetros que califican la linealidad del método son: Coeficiente de variación de los porcentajes recuperados (C.V.), coeficiente de determinación (r^2) pendiente de la recta (m), intercepto de la recta con el eje de las ordenadas (b).

3.4. Exactitud del método.

Se determinó con seis placebos adicionados de dipirona sódica equivalente al 100%, concentración de 20 mcg por ml y siguiendo los métodos mencionados.

El parámetro de calificación es la media de los valores recuperados con referencia a los teóricos o adicionados y el coeficiente de variación (C.V.).

3.8. Precisión (Reproducibilidad)

Se determina de una muestra homogénea del producto cercana al 100% de la concentración teórica.

El análisis de esta muestra se hace por dos analistas en dos días diferentes y por triplicado. El parámetro que califica a la reproducibilidad es el coeficiente de variación (C.V.).

3.8. Especificidad.

3.8.1. Para Control De Calidad.

Se analiza el placebo del producto de acuerdo al método descrito para comprobar que la respuesta obtenida se debe únicamente a la dipirona sódica.

3.8.2. Para Estudios De Estabilidad.

La materia prima y el producto terminado se colocan bajo las siguientes condiciones para lograr su degradación.

- a) A 70 C - 120 C durante 2 semanas.
- b) Luz ultravioleta durante 2 semanas.
- c) En soluciones de pH 1 - 2 y 10 -12 durante dos semanas a 60°C - 80°C.
- d) En solución de peróxido de hidrógeno durante 2 semanas a temperatura ambiente.

El criterio es verificar que los productos de degradación y/o sustancias relacionadas no interfieren con la cuantificación de la sustancia de interés, utilizando el método desarrollado.

3.7. Estabilidad de la muestra analítica.

Con este parámetro se establece la estabilidad de dipirona sódica en el disolvente utilizado para la preparación de la muestra. Para determinarla se dejan muestras ya analizadas a temperatura ambiente y en refrigeración, (protegidas de la luz) y se vuelven a analizar después de un determinado tiempo bajo las condiciones de operación.

El criterio que califica este parámetro es el siguiente: la muestra es estable si el I.C. para la diferencia de la media del análisis de la muestra con respecto a la media del análisis inicial incluye el valor de cero y/o la magnitud del efecto no exceda los siguientes porcentajes de acuerdo al método:

Cromatográfico	± 2%
Titrimétricos	± 2%
Químicos y Espectrofotométricos	± 3%
Microbiológicos	± 5%

4. FORMULAS ESTADISTICAS.

Para la validación de un método analítico se emplean las siguientes fórmulas:

$$4.1 \text{ Media } (\bar{X}) = \frac{\sum(x)}{n}$$

$$4.2 \text{ Pendiente de la curva } (m) = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$4.3 \text{ Intercepto con el eje de las ordenadas } (b) = \bar{y} - m\bar{x}$$

4.4 Coeficiente de determinación.

$$r^2 = \frac{[nt(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)]^2}{[nt(\sum x^2) - (\sum x)^2][nt(\sum y^2) - (\sum y)^2]}$$

4.5 Desviación estándar (D.E.) =
$$\frac{\sqrt{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}}{n(n-1)}$$

4.6 Coeficiente de variación (C.V.) =
$$\frac{\text{D.E.}}{\bar{x}} \times 100$$

4.7 Error estándar (E.S.) =
$$\frac{\text{D.E.}}{n}$$

4.8 Intervalo de confianza (I.C.) = E.S. * t 95%

4.9 Límites de confianza para el 95% de probabilidad.

$$\text{I.C.} = \bar{x} \pm \text{I.C.}$$

B. RESULTADOS DE LA VALIDACION DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO.

5.1 Linearidad del sistema.

PORCENTAJE	CONCENTRACION	ABSORBANCIA	FACTOR
	mg/ml (x)	(y)	
40%	0.008	0.215	26.87
	0.008	0.211	26.37
80%	0.016	0.425	26.56
	0.016	0.424	26.50
100%	0.020	0.526	26.30
	0.020	0.527	26.35
120%	0.024	0.628	26.16
	0.024	0.630	26.25
140%	0.028	0.732	26.14
	0.028	0.734	26.21

Resultados:

$b = 0.0088$

$r = 0.9995$ coeficiente de correlación

$r^2 = 0.9990$ coeficiente de determinación

Criterio de aceptación:

C.V. - 1.5%

$r = 0.99$

$r^2 = 0.98$

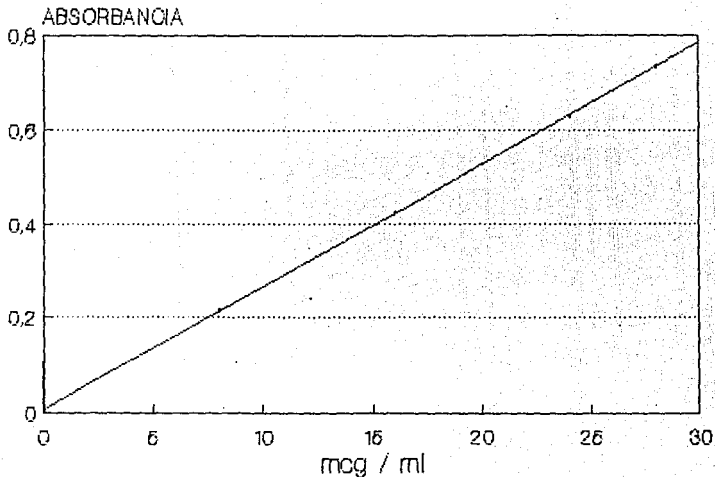
Resultados:

0.7489% cumple

0.9995 cumple

0.9990 cumple

LINEARIDAD DEL SISTEMA DIPIRONA SOLUCION



VALIDACION DEL METODO

5.2 Precisión del sistema.

Solución preparada al 100% , concentración de 0.02 mg/ml

concentración mg/ml	absorbancia
0.02	0.526
0.02	0.527
0.02	0.528
0.02	0.526
0.02	0.525
0.02	0.527

Resultados:

$$\bar{x} = 0.526$$

$$D.E. = 0.001643$$

$$C.V. = 0.31\%$$

Criterio de aceptación:

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

Resultados:

0.31% cumple

5.3 Linearidad del método.

mg adicionados	mg recuperados	%recuperado	Conc. Final mg/ml
801.0	818.34	102.88	0.0120
800.5	803.50	100.60	0.0120
599.8	615.12	102.60	0.0119
800.0	795.40	99.55	0.0160
800.5	802.40	100.30	0.0160
799.3	798.40	99.55	0.0159
1000.0	1010.40	101.09	0.0200
1000.8	1019.90	101.99	0.0200
1000.4	1010.90	101.09	0.0200
1200.3	1214.70	101.19	0.0240
1200.8	1228.40	102.36	0.0240
1200.9	1195.20	99.65	0.0240
1400.1	1414.10	101.40	0.0280
1400.3	1429.02	102.09	0.0280
1399.8	1410.10	100.72	0.0279

Criterio de aceptación:

$$m = 1$$

$$b = 0$$

$$r^2 \geq 0.99$$

promedio de recobro 87-103%

$$C.V. \leq 3\%$$

Resultados:

$$m = 1.0181 \quad \text{cumple}$$

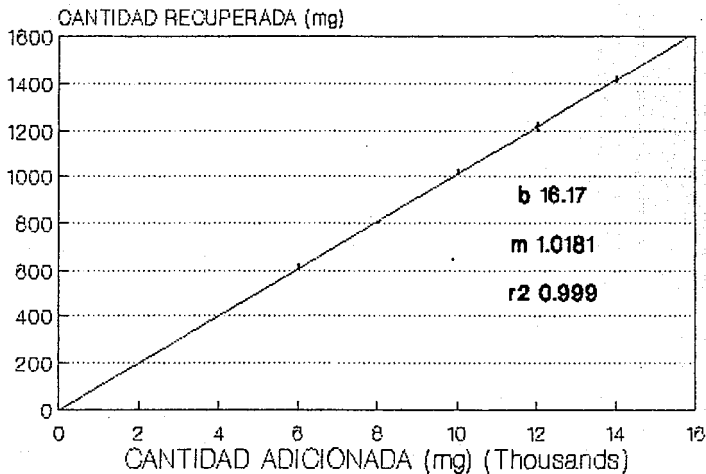
$$b = 15.17 \quad \text{cumple}$$

$$r^2 = 0.999 \quad \text{cumple}$$

$$101.41\% \quad \text{cumple}$$

$$1.131\% \quad \text{cumple}$$

LINEARIDAD DEL METODO DIPIRONA SOLUCION



VALIDACION DEL METODO

5.4 Exactitud del Método

mg adicionados	mg recuperados	% recuperado	conc. final mg/ml
1000.0	1010.4	101.09	0.02
1000.8	1019.4	101.99	0.02
1000.4	1010.9	101.09	0.02
1000.1	1020.4	102.04	0.02
1001.0	1028.7	102.87	0.02
999.8	1016.8	101.68	0.019

Resultados:

$$\bar{x} = 101.79\%$$

$$D.E. = 0.67$$

$$C.V. = 0.6595$$

Criterio de aceptación:

Promedio de recobro 97-103%

C.V. \leq 3%

resultados:

101.79% cumple

0.6595 cumple

5.5. Precisión del Método (reproducibilidad)

		ANALISTA	
		1	2
		102.00	102.60
	1	101.70	100.94
D		101.88	100.38
I			
A		100.72	101.84
	2	100.72	102.92
		100.95	100.10

Resultados:

$$\bar{x}=101.635$$

$$D.E.=0.8996$$

$$C.V.=0.885\%$$

Criterio de aceptación:

$$C.V. \leq 3\%$$

Resultados:

$$C.V.=0.885\% \quad \text{cumple}$$

5.5.1 Análisis de Varianza (ANAEVA).

Fórmulas utilizadas:

Modelo Hipotético.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \epsilon_j(i) + \epsilon_k(ij)$$

Donde:

Y_{ijk} = El ensayo de la sustancia de interés de la k ésima muestra analizada por el i ésimo analista en el j ésimo día.

μ = media poblacional del ensayo de la sustancia de interés en la muestra.

α_i = efecto del analista en el ensayo
(donde $i = 1, \dots, a$)

$\epsilon_j(i)$ = efecto del día anidado en el analista
(donde $j = 1, \dots, d$)

$\epsilon_k(ij)$ = error del método analítico
(donde $k = 1, \dots, r$)

a = número de analistas (donde $a = 2$)

d = número de días (donde $d = 2$)

r = número de replicaciones (donde $r = 3$)

5.5.2 Tabla de Análisis de Varianza:

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F cal	F 0.05*
Analista (a)	$gla=a-1$	SCa	$MCa = \frac{SCa}{gla}$	$Fa = \frac{MCa}{MCd}$	$Fgla/gld$
Día (d)	$gld=(d-1)a$	SCd	$MCd = \frac{SCd}{gld}$	$Fd = \frac{MCd}{MCE}$	$Fgld/gle$
Error (e)	$gle=(r-1)ad$	SCe	$MCE = \frac{SCe}{gle}$	-----	-----

Tabla de resultados:

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de Cuadrados	Fcal	F 0.05*
analista	$gla=1$	0.67833	0.67833	$Fa=0.3807$	38.51
Día	$gld=2$	3.5	1.75	$Fd=2.083$	6.06
Error	$gle=8$	6.78	0.84	-----	-----

Interpretación de los resultados:

Ya que $Fa < Fgla/gld0.05$ El método analítico es reproducible
 $0.38 < 38.51$ por los analistas

Ya que $Fd < Fgld/gle0.05$ El método analítico es reproducible
 $2.083 < 6.06$ en distintos días por un mismo analista

5.6.Especificidad.

Se realizó un barrido en la región ultravioleta del espectro con una solución preparada con el placebo, en este no se observó ninguna absorbancia

Con esto se confirma que el método es capaz de cuantificar la Dipirona sódica sin que exista interferencia de otras sustancias presentes en la formulación.

PERKIN-ELMER-
LAMBDA 2 UV/VIS SPECTROMETER

METH 2 SCAN/MAN

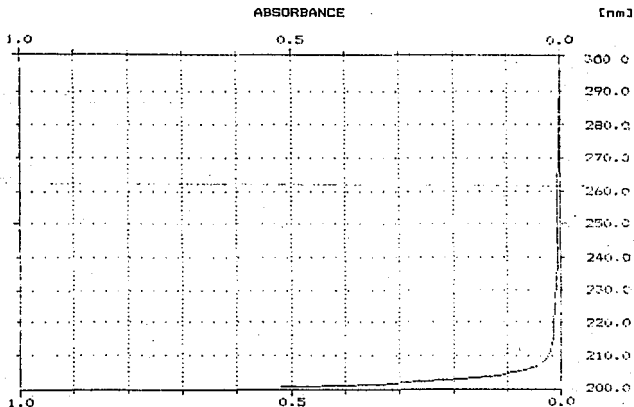
SAMPLE ID *Placebo... Dioxona Solución Inyectable*
OPERATOR ID *Gabriel Olivares*

ORDINATE MODE	ABS	:	GRAPHICS PLOT	YES
WAV. MAX	300NM	:	ORD. MAX	1 ABS
WAV. MIN	200NM	:	ORD. MIN	0.000 ABS
SPEED	560 NM/MIN	:	SCALE	10.0 NM/CM
SMOOTH	0 NM	:	GRID	YES
LAMP	UV+VIS	:	OVERLAY	YES
BACK CORR	YES	:	LINE TYPE	DASH1
SAMPLES/BATCH	1	:	PRINT DATA	YES
START SAMPLE	1	:	THRESHOLD	0.01ABS
CYCLES	1	:	AUTO METHOD	YES
CYCLE-TIME	0.1MIN	:	OPER. ID	0000
		:	SAMPLE ID	0000

PERKIN-ELMER LAMBDA 2 UV/VIS SPECTROMETER

DATE: 00/01/01 TIME: 00:19:18

METHOD NO.: 2 SCAN/MAN



PERKIN-ELMER
LAMBDA 2 UV/VIS SPECTROMETER

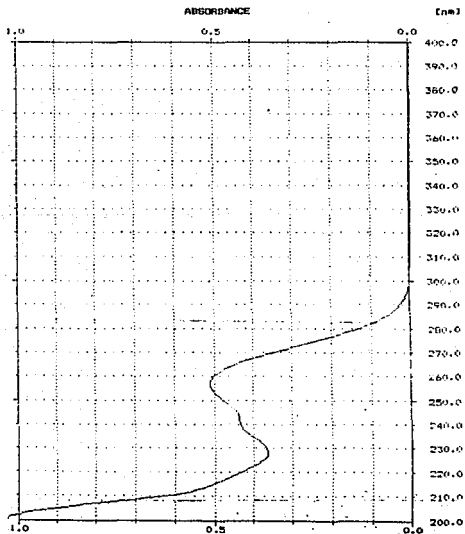
METH 2 SCAN/MAN

SAMPLE ID *Quinina Adida*
OPERATOR ID *Gabriela Oliveira da Rio*

ORDINATE MODE	ABS	GRAPHICS PLOT	YES
WAV. MAX	400NM	ORD. MAX	1.0 ABS
WAV. MIN	200NM	ORD. MIN	0.000 ABS
SPEED	960 NM/MIN	SCALE	10.0 NM/CM
SMOOTH	4 NM	GRID	YES
LAMP	UV-VIS	OVERLAY	YES
BACK CORR	YES	LINE TYPE	DASH1
SAMPLES/RATCH	1	PRINT DATA	YES
START SAMPLE	2	THRESHOLD	0.01ABS
CYCLES	1	AUTD METHOD	YES
CYCLE-TIME	0.1MIN	OPER. ID	0000
		SAMPLE ID	0000

PERKIN-ELMER LAMBDA 2 UV/VIS SPECTROMETER
DATE: 00/01/01 TIME: 00:00:54

METHOD NO.: 2 SCAN/MAN



5.7 Estabilidad de la muestra para el método por Espectrofotometría U.V.

Inicial	24 horas/T. A. obscuridad	48 horas/refrigeración obscuridad
99.8	99.9	98.2
100.4	100.3	101.2
98.9	99.8	97.1
Yo=99.7	Y1=99.8	Y2=98.8

Formula utilizada:

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

Resultados:

Condición:	Resultados	
24hrs/T. A.	I. C. = -1.72 a 1.52	La muestra es estable en estas condiciones ya que el I.C. incluye el valor de 0.
	-	
	I1=99.89	La muestra es estable en estas condiciones ya que el valor de la media para el factor I se encuentra entre 97-103%
48hrs/ref	I. C. = -3.24 a 1.5	La muestra es estable en estas condiciones ya que el I.C. incluye el valor de 0.
	-	
	I2=99.11	La muestra es estable en estas condiciones ya que el valor de la media para el factor I se encuentra entre 97-103%

B.-RESULTADO DE LA VALIDACION DEL METODO POR CROMATOGRAFIA
EN CAPA DELGADA.

B.1.-Linealidad del Sistema.

Porcentaje (%)	Concentración (x) mg/ml	Absorbancia (y)	Factor
40	0.008	0.201	25.125
40	0.008	0.203	25.375
40	0.008	0.203	25.625
60	0.012	0.308	25.668
60	0.012	0.311	25.750
60	0.012	0.309	25.810
100	0.020	0.508	25.400
100	0.020	0.512	25.500
100	0.020	0.510	25.600
120	0.024	0.612	25.500
120	0.024	0.618	25.620
120	0.024	0.615	25.750
140	0.028	0.710	25.350
140	0.028	0.711	25.390
140	0.028	0.711	25.390

Resultados:

Criterio de aceptación

C. V. = 0.8577

C. V. \leq 1.5

cumple

r = 0.9997

r \geq 0.99

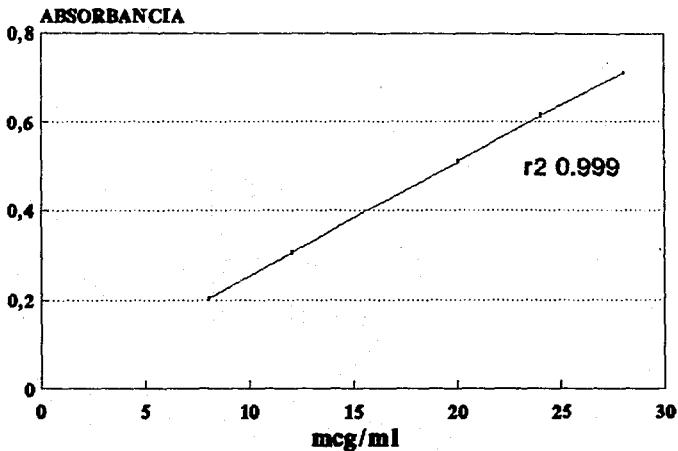
cumple

r² = 0.9994

r² \geq 0.98

cumple

LINEARIDAD DEL SISTEMA DIPIRONA SOLUCION



CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

6.2. Exactitud del Sistema.

Concentración (mg/ml)

Absorbancia

0.02

0.509

0.02

0.503

0.02

0.507

0.02

0.502

0.02

0.507

0.02

0.499

Criterio de aceptación

Resultados:

C.V. < 1.5 %

C.V. = 0.42%

6.3. Linearidad del Método.

Cant. adicionada (mg)	Cant. recuperada (mg)	% Recuperado	Conc. final mcg/ml
600.10	599.20	99.18	12.0
599.80	608.30	100.40	11.9
599.80	599.00	99.31	11.9
801.20	810.30	101.13	16.0
800.60	789.90	98.66	16.0
800.90	800.10	91.89	16.0
1000.80	1010.40	100.95	20.0
1001.30	999.30	99.80	20.0
1001.00	999.85	99.80	20.0
1202.10	1210.10	100.60	24.0
1200.40	1181.90	98.45	24.0
1201.20	1195.00	99.55	24.0
1400.30	1403.10	100.60	28.0
1399.80	1389.90	99.29	28.0
1400.00	1395.50	99.75	27.9

Criterio de aceptación:

$$m = 1$$

$$b = 0$$

$$r^2 \geq 0.98$$

Promedio de recobro 97-103 %

$$C.V. \leq 3\%$$

Resultados:

$$m = 0.9953$$

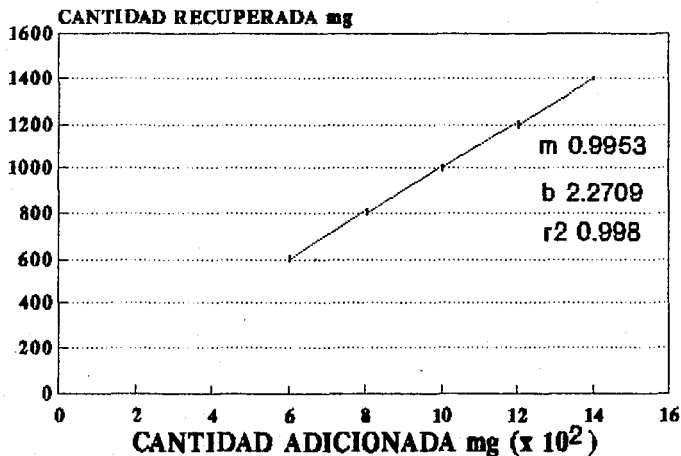
$$b = 2.2709$$

$$r^2 = 0.998$$

99.73%

$$C.V. = 1.7522\%$$

LINEARIDAD DEL METODO DIPIRONA SOLUCION



CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

6.4.- Exactitud del Método.

Mg adicionados	Cant recuperada	% Recuperado	Conc. final mcg/ml
1000.8	1012.8	101.20	20.00
999.3	986.7	98.70	19.98
999.1	992.1	99.30	19.98
1000.1	1028.1	102.80	20.00
1000.8	1012.8	101.20	20.00
1001.4	994.3	99.30	20.00

Criterio de aceptación:

Promedio de recobro 97 - 103 %

C.V. \leq 3%

Resultados:

100.416

1.57%

6.5. Precision del método (reproducibilidad).

A N A L I S T A

	1	2
	100.8	98.2
D 1	100.3	99.3
I	98.2	98.1
A		
	97.3	99.3
2	97.1	98.8
	99.3	99.4

$$\bar{x} = 98.84$$

$$D.E. = 1.1155$$

Criterio de aceptación:

$$C.V. \leq 3\%$$

Resultados:

$$C.V. = 1.128$$

6.5.1. Análisis de Varianza (ANADEV).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F cal	F 0.05
analista			Mca =	Fa =	Fgla/gld
a	gla=1	0.00166	0.00166	0.0056	38.5
dia			Mcd =	Fd =	Fgld/gle
a	gld=2	5.8283	2.914	2.96	6.06
error			Mce=		
e	gle=8	7.86	0.9825		

Interpretación de Resultados:

Ya que $F_a < F_{gla} / gld$ 0.05
 $0.005 < 38.5$ El método analítico es reproducible por los analistas.

Ya que $F_d < F_{gld} / gle$ 0.05
 $2.96 < 6.06$ El método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista.

6.5.2. Repetibilidad del Método Analítico.

$$\text{Repetibilidad} = \pm (MCE)^{1/2}$$

$$\text{Repetibilidad} = 0.9912$$

$$\text{Coeficiente de variación total.} = 1.128$$

$$\text{Media aritmética total.} = 98.84$$

5.6. Especificidad del método por cromatografía en capa delgada.

CONDICION		TIEMPO	RESULTADOS
M	1-Temperatura	2 semanas	Rf ₁ =0.088
A P	70 C		Rf ₂ =0.470
T R	2-Luz	2 semanas	Rf ₁ =0.088
E I	ultravioleta		Rf ₂ =0.470
R M	3-Solución	2 semanas	Rf ₁ =0.088
I A	pH 1-2		Rf ₂ =0.470
A	4-Solución	2 semanas	Rf ₁ =0.088
	pH 10-12		Rf ₂ =0.470
T			
P E	1- Temperatura	2 semanas	Rf ₁ =0.088
R R	70 C		Rf ₂ =0.470
O M	2- Luz ultravioleta	2 semanas	Rf ₁ =0.088
D I			Rf ₂ =0.470
U N	3- Solución	2 semanas	Rf ₁ =0.088
C A	pH 1-2		Rf ₂ =0.470
T D	4- Solución	2 semanas	Rf ₁ =0.088
D O	pH 10-12		Rf ₂ =0.470
	5.- Peróxido de	2 semanas	Rf ₁ =0.088
	Hidrógeno		Rf ₂ =0.470

Rf₁ = Mancha correspondiente a la dipirona sódica.

Rf₂ = Mancha correspondiente al producto de degradación.

7. COMPARACION DE LOS DOS METODOS ANALITICOS.

7.1. Repetibilidad.

7.1.1. Información requerida.

Método 1

$$D.E._1 = 1.31$$

$$N_1 = 15$$

Método 2

$$D.E._2 = 1.7474$$

$$N_2 = 10$$

7.1.2. Fórmulas estadísticas empleadas:

$$L.S.I.C. = \frac{D.E._1^2}{D.E._2^2} \times F$$

$$L.I.I.C. = \frac{D.E._1^2}{D.E._2^2} \times \frac{1}{F}$$

F = Valor de la F de la distribución de Fischer ($N_1 - 1$) grados de libertad en el numerador y ($N_2 - 1$) grados de libertad en el denominador y una probabilidad acumulada de 0.975.

L.S.I.C. = 1.803 (Límite superior del intervalo de confianza)

L.I.I.C. = 0.1750 (Límite inferior del intervalo de confianza)

7.1.3. Resultados.

El intervalo de confianza para la razón de varianzas, calculada a partir del porcentaje recuperado de exactitud al 100%, se localiza el valor de uno.

7.2. Linearidad del método.

7.2.1. Información requerida.

Método 1

$$Ex = 15004.3$$

$$Ex^2 = 16208765$$

$$Ey = 15174.12$$

$$Ey^2 = 16572913$$

$$Exy = 16389895$$

$$m = 1.0181$$

$$t = 5$$

$$n_1 = 3$$

$$b = 16.17$$

Método 2

$$Ex = 10006.2$$

$$Ex^2 = 10813009$$

$$Ey = 998204$$

$$Ey^2 = 10759078$$

$$Exy = 10785473$$

$$m = 0.9953$$

$$t = 5$$

$$n_2 = 2$$

$$b = 2.2709$$

7.2.2. Fórmulas estadísticas empleadas.

$$S_e^2 = \frac{[EY_1^2 - m_1 Exy - b_1 Ey_1] + [EY_2^2 - m_2 Exy - b_2 Ey_2]}{t_1 n_1 + t_2 n_2 - 4}$$

$$S_{dm}^2 = S_e^2 \times \frac{1}{Ex_1^2 - (Ex_1)^2 / n_1 t_1} + \frac{1}{Ex_2^2 - (Ex_2)^2 / n_2 t_2}$$

$$L.S.I.C. = (n_1 - n_2) + t \quad S^2_{dm}$$

$$L.I.I.C. = (n_1 - n_2) - t \quad S^2_{dm}$$

$$S^2_{do} = S^2_o \left[\frac{1}{n_1 t_1} + \frac{1}{n_2 t_2} + \frac{(Ex_1)^2}{n_1^2 t_1^2 [Ex_1^2 - (Ex_1)^2 / n_1 t_1]} + \frac{(Ex_2)^2}{n_2^2 t_2^2 [Ex_2^2 - (Ex_2)^2 / n_2 t_2]} \right]$$

$$L.S.I.C = (b_1 - b_2) + t \quad S^2_{do}$$

$$L.I.I.C. = (b_1 - b_2) - t \quad S^2_{do}$$

7.3.2. Pendientes de la cantidad adicionada - cantidad recuperada.

$$L.S.I.C. = 0.4112$$

$$L.I.I.C. = -0.3656$$

7.3.3. Ordenadas al origen de la cantidad adicionada - cantidad recuperada.

$$L.S.I.C. = 420.99$$

$$L.I.I.C. = -393.2$$

7.3.4. Resultados.

En el intervalo de confianza para la diferencia de pendiente y de las ordenadas al origen de cantidad adicionada - cantidad recuperada se localiza el valor de cero.

IV CONCLUSIONES

Se validaron dos métodos analíticos para la cuantificación de la dipirona sódica en una solución inyectable.

El primero es un método espectrofotométrico que se puede emplear en Control de Calidad, el segundo es un método que utiliza una cromatografía en capa delgada para separar los productos de degradación y las sustancias relacionadas al principio activo, y una cuantificación del principio activo por espectrofotometría al u.v. por lo que se puede utilizar como método indicador de estabilidad.

Ambos métodos demostraron ser :

Lineales, exactos, precisos, (reproducibles y repetibles).

La muestra lista para análisis se mantiene estable hasta por 24 hrs a T.A. en la obscuridad.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la comparación estadística de dichos métodos podemos concluir lo siguiente:

- Los métodos tienen la misma repetibilidad.
- Los métodos tienen una linealidad equivalente, en términos de pendiente e intercepto.
- Los parámetros analíticos de los métodos son equivalentes, con la única diferencia de que al llevar a cabo la separación cromatográfica, el segundo método es específico y puede utilizarse en estudios de estabilidad.

V BIBLIOGRAFIA

- 1.-Gennaro A. R. ,
Remington's Pharmaceutical Sciences 18 th,
Publishing Company, U. S. A. 1985.
- 2.-Stahl E. ,
Thin Layer Chromatography ,
A Laboratory Handbook,
Springel - Verlag, New York 1969
- 3.-Touchstone C. J. and Murrel F Dobbins ,
Practice of Thin Layer Chromatography,
Wiley Interscience, New York 1970
- 4.-The Merck Index,
An encyclopedia of Chemicals and Drugs, 9a. Edición.
Merck & Co. Inc., USA 1976.
- 5.-Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 5a. Edición.
- 6.-Horcasitas Rocio y Noguez José Antonio.
Curso Básico sobre la Espectroscopia en la Industria Química
Farmacéutica, IPN Julio - Agosto 1979.

- 7.-Clarke, E. G. ,
Isolation and Identification of Drugs,
The Pharmaceutical Press, Londres, Inglaterra, 1969.

- 8.-Lachman L, Lieberman, H. A. ; Kaning, J.L. ,
The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 2a. Edicion.
Lea & Febirger, Filadelfia, USA, 1976.

- 9.-Litter, Manuel,
Compendio de Faramacologia 2a. Edición,
Editorial " el Ateneo ", España, 1980.

- 10.-The Pharmaceutical Codex, 11a. Edición
The Pharmaceutical Press, Londres, Inglaterra, 1979.

- 11.-Validación de Métodos analíticos.
Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos. México A.C.
Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación de la
Dirección General de Control de Insumos para la Salud, S.S.A.

- 12.-The Unites States Pharmacopeia - National Formulary USP XXI.