

870127

3
29

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



TESIS CON
FALSA DE ORIGEN

VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA UN
PRODUCTO VITAMINICO

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
ROSA MARIA MENDEZ RUELAS

ASESOR: Q.F.B. BEATRIZ GARCIA V.

GUADALAJARA, JALISCO 1992



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	Página:
CAPITULO 1. INTRODUCCION	1
CAPITULO 2. GENERALIDADES.....	4
2.1 Definiciones	5
2.2 Vitaminas Hidrosolubles	6
2.3 Cianocobalamina (Vitamina B12)	7
2.4 Absorción	9
2.5 Excreción en la bils	10
2.6 Excreción en la orina	10
2.7 Monografía de Cianocobalamina	11
2.8 Piridoxina Vitamina B6	14
2.9 Acciones Farmacológicas	14
2.10 Función Fisiológica	15
2.11 Absorción, Destino y Eliminación	15
2.12 Monografía del Clorhidrato de Piridoxina	16
2.13 Tiamina Vitamina B1	19
2.14 Acciones Farmacológicas	20
2.15 Función Fisiológica	20
2.16 Absorción, Destino y Eliminación	21
2.17 Monografía del Clorhidrato de Tiamina	22
2.18 Espectrofotometría	24
2.19 Partes Básicas de un Espectrofotómetro	25
2.20 Espectrofotómetro de Un Solo Haz	27
2.21 Espectrofotómetro de Doble Haz	27
2.22 Coeficiente de Reparto	28
2.23 Extracción Líquido-Líquido	29
2.24 Extracción Simple	30
2.25 Monografía de Agua para Inyectables	32
2.26 Inyectables	34
CAPITULO 3. ESTUDIO ESTADISTICO	43
3.1 Validación de Métodos Analíticos	44

3.2	Linealidad del Sistema	44
3.3	Precisión del Sistema	47
3.4	Linealidad del Método	48
3.5	Exactitud al 100%	51
3.6	Precisión (reproducibilidad)	52
3.7	Trabajo Experimental	54
3.8	Formulación de la Muestra de Estudio	55
3.9	Métodos	55
	- Cianocobalamina	55
	- Clorhidrato de Piridoxina	56
	- Clorhidrato de Tiamina	56
CAPITULO 4.	RESULTADOS	61
4.1	Tabla de Resultados del Sistema	62
4.2	Linealidad del Sistema	63
	- Clorhidrato de Tiamina	63
	- Clorhidrato de Piridoxina	66
	- Cianocobalamina	69
4.3	Precisión del Sistema	72
	- Clorhidrato de Tiamina	72
	- Clorhidrato de Piridoxina	73
	- Cianocobalamina	74
4.4	Tabla de Resultados del Método	75
4.5	Linealidad del Método	76
	- Clorhidrato de Tiamina	76
	- Clorhidrato de Piridoxina	78
	- Cianocobalamina	80
4.6	Precisión (reproducibilidad)	82
	- Clorhidrato de Tiamina	82
	- Clorhidrato de Piridoxina	84
	- Cianocobalamina	86
CAPITULO 5.	CONCLUSIONES	88
CAPITULO 6.	BIBLIOGRAFIA	90

CAPITULO I

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

Actualmente en la industria farmacéutica un factor determinante para el éxito, crecimiento y búsqueda de nuevos mercados, es sin duda la calidad, la cual se logra mediante un compromiso general, una estrategia, medición de la calidad, eliminación de problemas, mejora continua y una difusión, que integran la llamada filosofía de la calidad.

Los retos fundamentales que enfrenta una empresa farmacéutica nacional para ser competitiva, ahora que se ha abierto el mercado son: - productividad, capacitación y control de calidad, ya que no se va a competir con productos de segunda, sino de primera.

Es necesario capacitar a todo el personal y no solamente transferirles métodos y tecnologías nuevas, sino concientizarlos de que tenemos un reto y un objetivo que debe existir la calidad total.

El papel del Químico Farmacéutico Biólogo, dentro de la industria farmacéutica, es de vital importancia, ya que tiene como objetivo la producción de formas farmacéuticas seguras, estables y efectivas - del más bajo costo posible para que estén al alcance de los consumidores pero principalmente que cumplan con los objetivos terapéuticos para los cuales fueron creados.

La calidad de cada unidad de dosificación elaborada debe tener - o cumplir con las características de la calidad diseñada, además de -- ser reproducibles. Esto se ha logrado teniendo un alto control de la - calidad y teniendo presente que esta calidad se construye desde la materia prima, durante y después del proceso.

La calidad de un producto incluye parámetros tales como apariencia agradable, estabilidad física, química y microbiológica, seguridad, efectividad, etc., los cuales pueden ser óptimos con una conciente planificación del producto y un posterior cuidado durante el proce-

so de fabricación, de tal forma construir un producto con un alto nivel de calidad.

El aseguramiento de este control de calidad sirve para perfeccionar cada uno de los productos. Para el desarrollo de un método analítico, actualmente la validación es una herramienta indispensable para asegurar que los datos proporcionados por el análisis son confiables.

Validar un determinado proceso significa comprobar, a través de un procedimiento formal y documentado que, en condiciones preestablecidas y con todos los parámetros significativos bajo control, se obtiene un producto con la calidad diseñada.

Validar un método analítico es el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método analítico satisface los requisitos para las aplicaciones deseadas.

CAPITULO 2
GENERALIDADES

2.1 DEFINICIONES.

Linealidad

La linealidad de un sistema o método analítico es su habilidad - para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado.

Intervalo

El intervalo de un método analítico está definido por las concentraciones comprendidas entre los niveles de concentración superior e inferior de la sustancia, en el cual se ha demostrado que el método es preciso, exacto y lineal.

Exactitud

La exactitud 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). Repetibilidad.- Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, -- aparato, laboratorio, etc.).
- b). Reproducibilidad.- Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes - realizadas bajo condiciones diferentes (diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/o en diferentes laboratorios, uti

lizando el mismo y/o diferentes equipos, etc.).

Límite de Detección

Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra, la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

Límite de Cuantificación

Es la menor concentración de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas.

Especificidad

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

Tolerancia

La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación, tales como diferentes temperaturas, lotes de reactivos, columnas, sistemas de elución, tipos de empaque (soporte, fases estacionarias, etc.), condiciones ambientales, etc.

2.2 VITAMINAS HIDROSOLUBLES.

El complejo vitamínico B comprende un gran número de vitaminas que difieren mucho en su estructura química y su acción biológica.

Se han formado con ellas un grupo, porque todas son hidrosolubles y se obtienen de las mismas fuentes, especialmente de hígado y la levadura.

La vitamina B fue de las primeras que se reconoció como factor dietético indispensable. La denominación vitamínica B hidrosoluble fue introducida por Mc Collum y Kennedy, en 1916, para describir la sustancia nutritiva necesaria para el crecimiento de la rata, que parecía esencial para prevenir el beriberi.

La vitamina B era un complejo y no una entidad química única; las vitaminas que forman el complejo vitamínico B son: Tiamina, Riboflavina, ácido nicotínico, piridoxina, ácido pantoténico, biotina, colina, inositol, ácido paraaminobenzóico y cianocobalamina, de las cuales algunas vitaminas aún quedan por determinar factores en la nutrición humana.

2.3 CIANOCOBALAMINA VITAMINA B12.

Las dos partes principales de la molécula son el grupo planar núcleo de corrina y un nucleótido que se encuentra en un plano casi en ángulo recto con el núcleo corrinico y enlazado con él mediante el D-1-amino-2-propanol, que está esterificado con el nucleótido y unido por enlace amínico con el núcleo de corrina.

El nucleótido está constituido por el 5,6-dimetil-bencimidazol básico unido a la ribosa por un enlace alfa-glucosídico. Un segundo puente entre las dos partes principales de la molécula es el enlace coordinado del átomo de cobalto con uno de los átomos de nitrógeno del bencimidazol. El grupo aniónico en el enlace coordinado con el átomo de cobalto es el cianuro.

La cianocobalamina cristaliza en nódulos o prismas de color rojo oscuro; el color se debe al complejo cobalto porfirínico, el cobalto-enlazado es más covalente que iónico. La coenzima B12 difiere de la cianocobalamina en que, en lugar del grupo aniónico CN unido al cobalto, el ligando es la 5-desoxiadenosina sin el OH del carbono de la ribosa.

Las coenzimas de la vitamina B12 son muy inestables a la luz, en contacto con el oxígeno y expuestas a la luz experimenta fotólisis con formación de acuocobalamina. El cianuro de potasio convierte la coenzima B12 en cianocobalamina.

La actividad de la vitamina B12 puede investigarse en diversas formas, según la pureza del material, por colorimetría, por espectrofotometría, por fluorometría, químicamente, por dilución del isótopo con vitamina B12 marcada, por el cobalto radioactivo, por microbiología.

Hay una familia entera de cobalaminas naturales y semisintéticas según el grupo que reemplaza al CN. La vitamina B12b es una acuocobalamina, la molécula CN ha sido substituída por H2O; la vitamina B12a hidroxocobalamina es la forma anhidra de la B12b, ambas se convierten en vitamina B12 por tratamiento con cianuro.

A igualdad de peso, la vitamina B12 es la más conocida y la más potente que las otras vitaminas, la fuente original y única en la naturaleza es la síntesis por microorganismos. Su existencia en los tejidos animales procede de los alimentos o se debe a la síntesis microbiana en el tubo digestivo. En el hombre, la síntesis de esta vitamina tiene lugar en el intestino grueso, sitio en el que no se absorbe.

Los excrementos de los animales y del hombre suelen contener grandes cantidades de cianocobalamina. Tanto las personas normales como los enfermos con anemia perniciosa excretan diariamente unos 5 ug de vitamina B12.

Las fuentes ricas en cobalaminas son el hígado, los riñones y el corazón de cordero y de buey, también son ricas en esta vitamina las ostras y las almejas, que toman del agua del mar grandes cantidades de microorganismos que sintetizan la vitamina B12, la leche descremada en polvo, algunos alimentos marinos y la yema de huevo.

Las cobalaminas intervienen en muchos sistemas metabólicos en el

hombre, son esenciales para el crecimiento y la nutrición normal, para la hematopoyesis, para la producción normal de todas las células epiteliales y para conservar la mielina del sistema nervioso.

En un adulto, la necesidad diaria mínima de vitamina B12 es de 0.1 ug, para los lactantes 0.3 ug, para la mujer embarazada o en lactancia es de 2.5 a 3.0 ug. La cianocobalamina es absorbida de manera cuantitativa y con rapidez en los sitios de inyección intramuscular y subcutánea, la concentración plasmática del compuesto alcanza su máximo dentro de la hora siguiente a la inyección intramuscular.

La hidroxocobalamina y la coenzima B12 se absorbe con menos rapidez después de la administración parenteral, posible por su afinidad para enlazarse con diversas proteínas.

2.4 ABSORCIÓN.

Hay dos mecanismos de absorción en el tubo digestivo, el más importante es mediado por el factor gástrico intrínseco de Castle y es saturado por 1.5 a 3 ug de B12, el otro mecanismo de absorción de la vitamina B12 es independiente del factor intrínseco y opera sólo en presencia de cantidades de vitamina B12 mucho mayor que la existente en la dieta común.

El mecanismo fisiológico de la absorción de la vitamina B12 es la única sustancia nutritiva del hombre que necesita una secreción de la mucosa gástrica para facilitar su absorción.

La vitamina B12 absorbida es transportada por la sangre hacia el hígado y otros órganos y se une principalmente a una beta-globulina específica y forma la transcobalamina II y en menor cantidad a una alfa-globulina específica con la que forma transcobalamina I y una interfal-globulina transcobalamina III; ambas transcobalaminas I y II guardan relación con los granulocitos y, en conjunto, constituyen aproxima

damente el 10% de la capacidad de fijación de vitaminas B12 circulantes no saturada.

2.5 EXCRECION EN LA BILIS.

Se secretan más o menos de 3 a 8 ug de vitamina B12 cada día, -- principalmente con la bilis, pero también con el jugo gástrico, secreción pancreática y otras fuentes.

2.6 EXCRECION EN LA ORINA.

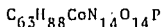
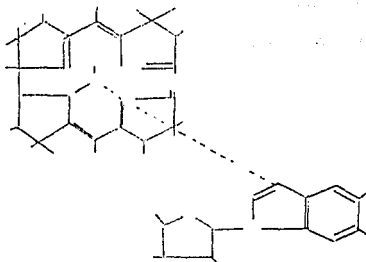
La excreción urinaria diaria normal de vitamina B12 oscila entre 0 y .25 ug. En las personas normales sólo se excreta la escasa cantidad de vitamina B12 que no está unida con proteínas plasmáticas.

La vitamina B12 administrada por las vías intravenosa o intramuscular que sobrepasa la capacidad de enlace del plasma, del hígado y de otros tejidos se elimina por filtración glomerular.

La vitamina B12 atraviesa la placenta de la madre hacia el feto, al nacer, la concentración sanguínea de la vitamina en el recién nacido, es de tres a cinco veces de la de la madre.

Existen diversos preparados inyectables y orales, la inyección de cianocobalamina es un preparado que se obtiene del hígado y especialmente de cultivos de microorganismos específicos, bacterias y actinomicetos, cada mililitro contiene 30, 50, 60, 100 ó 1000 ug de cianocobalamina, vitamina B12 con factor intrínseco concentrado, este preparado no es oficial, se expende para uso oral en cápsulas o tabletas -- que contienen media unidad oral que equivale a no más de 15 ug y no más de 300 mg en seco.

2.7 MONOGRAFIA - CIANOCOBALAMINA



PM 1355.38

Contiene no menos del 96.0 por ciento y no más del 100.5 por ---
ciento de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, calculado con referencia a la sustancia se-
ca.

Descripción

Cristales rojo oscuro o amorfos, o polvo cristalino rojo. La for-
ma anhidra es muy higroscópica y cuando se expone al aire puede absor-
ber alrededor del 12 por ciento de agua.

Solubilidad

Soluble en alcohol, poco soluble en agua, insoluble en acetona,-
cloroformo y en éter.

Sustancia de Referencia

Cianocobalamina. Antes de su uso secarla sobre sílice durante 4 horas.

Ensayos de Identidad

El espectro de absorción en la región ultravioleta, de la solución empleada para medir la absorbancia en la valoración, exhibe máximas dentro de más o menos 1 nm a 278 nm y 361 nm y dentro de más o menos 2 a 550 nm. La relación A361/A278 es entre 1.70 y 1.90 y la relación -- A361/A550 es entre 3.15 y 3.40.

En cápsula de porcelana fundir aproximadamente 1 mg de la muestra de cianocobalamina, con cerca de 50 mg de piro-sulfato de potasio, enfriar, desmenuzar la masa con un agitador de vidrio, agregar 3 ml de agua y disolver por ebullición. Agregar 1 gota de Si de fenolftaleína y gota a gota de solución de hidróxido de sodio 1 en 10 hasta color ro sa. Enseguida agregar 500 mg de acetato de sodio, 0.5 ml de solución 1N de ácido acético y 0.5 ml de solución 1 en 500 preparada en el -- reactivo sal nitroso R (1-Nitroso-2-naftol-3,6-disulfonato disódico); enseguida aparece una coloración anaranjada-rojiza. Agregar 0.5 ml de ácido clorhídrico y hervir durante 1 minuto, persiste la coloración ro jiza.

En 5 ml de agua disolver alrededor de 5 mg de la muestra de cianocobalamina, utilizando un matraz de destilación de 50 ml, conectado con un condensador corto enfriado con agua. Al matraz agregar 2.5 ml de ácido hipofosforoso, taparlo y calentar suavemente durante 10 minutos, enseguida destilar 1 ml de solución recibiendo en un tubo de ensayo-- conteniendo 1 ml de solución 1 en 50 de hidróxido de sodio, agregar 4-gotas de solución saturada fría de sulfato ferroso amónico, agitar su vemente, enseguida agregar cerca de 30 mg de fluoruro de sodio y llevar el contenido a ebullición. Inmediatamente agregar, gota a gota, solu- ción 5 N de ácido sulfúrico hasta que la solución quede clara, enton-- ces agregar 3 a 5 gotas más de ácido; se produce después de pocos minu- tos una coloración azul ó azul-verdosa.

Pérdida por Secado

En un aparato para secado al vacío y a una presión no mayor de 5 mm de mercurio, secar aproximadamente 25 mg de la muestra de cianocobalamina a 105°C durante 2 horas, enfriar y pesar. Pierde no más del 12.0 por ciento de su peso.

Falsas Cobalaminas

En un embudo de separación conteniendo 20 ml de agua, disolver - 1.0 mg de la muestra de cianocobalamina, agregar 5 ml de una mezcla de volúmenes iguales de tetracloruro de carbono y cresol y agitar bien durante 1 minuto. Dejar reposar, pasar la capa baja a un segundo embudo de separación, agregar 5 ml de solución 5 N de ácido sulfúrico, agitar bien y dejar separar completamente. La capa superior separada es incolora o tiene no más color, que el de una mezcla de .15 ml de solución 0.1 N de permanganato de potasio y 250 ml de agua.

Valoración

Con la ayuda de agua transferir cerca de 30 mg de la muestra de cianocobalamina a un matraz volumétrico aforado de 1 litro, diluir con agua hasta el aforo y mezclar. Disolver en agua una porción calculada de la solución de referencia de cianocobalamina y diluir cuantitativamente y, poco a poco, con agua hasta obtener una solución de referencia de cerca de 30 ug/ml.

En un espectrofotómetro, determinar concomitante las absorbancias de ambas soluciones, en celdillas de 1 cm a la longitud de onda - máxima absorbancia a cerca de 361 nm, utilizando agua como blanco.

Calcular la cantidad en mg de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ en la muestra de cianocobalamina utilizada por la fórmula $C(Am/Aref)$; en la cual C es - la concentración en ug por ml de la solución de referencia de cianocobalamina, en la solución de referencia y Am y Aref son las absorbancias de la solución de la muestra y de la solución de referencia, respectivamente.

Conservación

En recipientes cerrados, resistentes a la luz.

2.8 PIRIDOXINA VITAMINA B6

Varios grupos de investigadores describieron un factor vitamínico B esencial para la nutrición, que ahora se cree fue la piridoxina, Birch y sus colaboradores pudieron inferir que un tipo particular de dermatitis de las ratas, llamada para ellos acrodinia o dermatitis florida, en 1936 Birch y György denominaron vitamina B6 a esta estructura.

Después, varios grupos de investigadores identificaron químicamente el compuesto y lograron su síntesis. La piridoxina es una de las tres formas en las cuales la vitamina B6 se presenta en fuentes naturales, las otras dos formas de la vitamina B6 son piridoxal y piridoxamina.

Los tres compuestos difieren por la naturaleza del sustitutivo en el átomo de carbono en posición 4 de la molécula de piridoxina; el piridoxal es el aldehído, mientras que la piridoxamina contiene en esta posición un grupo aminometílico.

Las formas fisiológicamente activas de la vitamina son fosfato de piridoxal y fosfato de piridoxamina, donde el fosfato está esterificado con el alcohol en posición 5 del anillo piridínico.

En el organismo, las tres formas de la vitamina B6 se convierten en fosfato de piridoxal; una enzima, la cinasa, transforma el piridoxal en fosfato. Se han logrado sintetizar los antimetabolitos de la piridoxina, éstos poseen la facultad de bloquear la acción de la vitamina y de producir los signos y síntomas de carencia.

2.9 ACCIONES FARMACOLOGICAS.

La piridoxina, administrada por vía oral o intravenosa, no ejerce ninguna acción farmacodinámica importante. La dosis elevada de 3 a 4 g/kg, produce convulsiones y muerte en los animales, pero dosis menores pueden darse a diario sin provocar efectos evidentes.

2.10 FUNCION FISIOLOGICA

El fosfato de piridoxal tiene una función vital en el metabolismo como coenzima en muchas transformaciones metabólicas de los aminoácidos y en procesos enzimáticos del metabolismo del triptófano, de los aminoácidos sulfurados y de los hidroxiaminoácidos.

Los síntomas atribuibles a la carencia de piridoxina han sido producidos en todos los mamíferos, incluyendo el hombre, los síntomas observados son los cutáneos, los del SNC y los de la eritropoyesis.

En el hombre, la alimentación durante unas cuantas semanas con una dieta pobre de complejos vitamínicos B, a la que se le añaden dosis diarias de 4-desoxipiridoxina, antagonista de la vitamina, provoca la aparición de lesiones seborréicas alrededor de los ojos, nariz y boca, acompañadas por glositis y estomatitis.

La deficiencia dietética de piridoxina en el hombre raramente puede causar anemia. La necesidad de piridoxina aumenta con la cantidad de proteínas de la alimentación. La demanda mínima en el adulto medio es de 1,25 mg diarios, si la ingestión de proteínas es de 100 gr por día.

2.11 ABSORCION, DESTINO Y ELIMINACION.

La piridoxina, el piridoxal y la piridoxamina se absorben en el conducto digestivo. La mayor parte de estas vitaminas se excreta como ácido 4-piridóxico, que se forma por la acción de la oxidasa hepática de los aldehídos sobre la piridoxal libre.

La administración de piridoxina y piridoxamina provoca un aumento de eliminación de piridoxal en el hombre, lo cual indica que ambos compuestos son transformados primero, directa o indirectamente, en piridoxal; este último por oxidación de el ácido 4-piridóxico.

Aunque es casi indudable que la piridoxina es esencial en la nutrición del hombre, no se ha logrado precisar el síndrome clínico de su deficiencia.

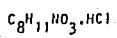
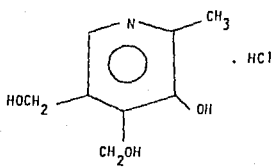
Sin embargo, puede suponerse que los individuos con deficiencia de los otros miembros del complejo B padecen también carencia relativa de piridoxina, por lo tanto, la terapéutica puede ser útil en las personas que sufren deficiencia de otros elementos del complejo B.

La piridoxina se da a enfermos con isoniacida para prevenir la aparición de neuritis periférica; se han obtenido datos bioquímicos sobre deficiencia de piridoxina en una fracción de mujeres que tomaban anticonceptivos por vía oral.

El clorhidrato de piridoxina, se presenta como cristales blancos o incoloros, o como polvo cristalino blanco. Las tabletas contienen 10, 25, 50 y 100 mg.

La inyección de piridoxina, U.S.P., es una solución acuosa esterilizada que contiene 50 ó 100 mg/ml.

2.12 MONOGRAFIA DEL CLORHIDRATO DE PIRIDOXINA



PM 205.64

Clorhidrato de 3-hidroxi-4,5-di (hidroximetil)-2-metil piridina.

Contiene no menos de 98 por ciento y no más de 100.5 por ciento de $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$, calculado con referencia a la base seca.

Sustancias de Referencia

Clorhidrato de piridoxina. Sacar 4 horas al vacío sobre gel de sílice.

Descripción

Polvo cristalino blanco o casi blanco, deliquescente.

Solubilidad

Fácilmente soluble en agua y poco soluble en alcohol, casi insoluble en cloroformo y en éter.

Ensayo de Identidad

El espectro de absorción en la región infrarroja de una dispersión de la muestra en parafina líquida presenta máximas solamente a las mismas longitudes de onda, que una preparación similar de solución de referencia de clorhidrato de piridoxina.

Colocar 1 ml de una solución que contenga 100 ug de la muestra - por ml, en cada uno de dos tubos A y B respectivamente, agregar a cada tubo 2 ml de solución 0.1 N de ácido clorhídrico, exhibe máximas y mínimas a las mismas longitudes de onda que una solución similar de la - solución de referencia de clorhidrato de piridoxina, la máxima absor- bancia es alrededor de 278 nm y las respectivas absortividades calcul- lar en la sustancia anhidra a la longitud de onda de máxima absorción - a aproximadamente 278 nm, no difieren en más de 3 por ciento.

A 5 ml de una solución 1:200 de la muestra agregar 5 gotas de so- lución 2 N de ácido nítrico y 2 ml de SR de nitrato de plata. Se forma un precipitado blanco amarillento.

Temperatura de Fusión

Alrededor de 125°C con descomposición.

Rotación Óptica

Entre más 28° y más 30°. Determinar en una solución al 2 por ciento m/v de la muestra en solución 0.1 N de ácido clorhídrico.

pH

Entre 2.0 y 3.5. Determinar en una solución al 2 por ciento m/v de la muestra.

Agua

No menos de 3.5 por ciento y más de 5.5 por ciento.

Residuo de la Ignición

No más de 0.1 por ciento.

Compuestos Fenólicos

En un tubo de ensaye depositar 5 mg de la muestra, agregar 1 gota de solución 3 N de ácido clorhídrico, 1 ml de agua y dos gotas de SR de cloruro férrico. Mezclar y agregar dos gotas de SR de ferricianuro de potasio, después de dos minutos no se produce coloración verde-azul.

N-N Dimetilanilina

Transferir aproximadamente 500 mg de la muestra en un matraz volumétrico de 25 ml, agregar 20 ml de agua y disolver por calentamiento en BV; enfriar, agregar 2 ml de solución 1 N de ácido acético y 1 ml de solución (1:100) de nitrito de sodio, diluir con agua al aforo y mezclar. La solución no presenta más color que el que corresponde a una solución preparada en forma similar, que contenga 5 ug de N-N dimetilanilina en 25 ml (10 ppm).

Valoración

Disolver 700 mg de la muestra, en una mezcla de 50 ml de ácido -

acético glacial y 10 ml de SR de acetato mercurico, calentar ligeramente para efectuar la disolución, agregar una gota de solución indicadora de cristal violeta y titular con solución 0.1 N de ácido perclórico. Cada ml de ácido perclórico equivalen a 20.56 mg de $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$.

Conservación

En recipientes herméticos protegidos de la luz.

2.13 TIAMINA VITAMINA B1.

La tiamina fue la primera sustancia del complejo vitamínico B - identificada químicamente. Los hechos que condujeron a su aislamiento datan a fines del siglo XIX, cuando Takaki disminuyó de manera muy notable la frecuencia del beriberi en la marina japonesa estableciendo - ciertas modificaciones en el régimen alimenticio.

Eijkman, médico holandés, demostró que los individuos que presentaban beriberi por alimentación principalmente con arroz pulido se curaban añadiendo salvado de arroz a su dieta.

Además, reprodujo estos hallazgos clínicos en experimentos con - pollo; más tarde, Funk aisló del salvado de arroz y de la levadura de cerveza una sustancia cristalina, eficaz para prevenir y curar el beriberi, el compuesto contenía nitrógeno básico y se creyó que era una - amina. Se demostró la naturaleza múltiple de la vitamina B, el factor-antiberiberi y recibió el nombre de vitamina B1.

En 1926, la vitamina B1 fue aislada en forma cristalizada, por - Jansen y Donath; y en 1936, Willisnns determinó su estructura, que él comprobó al realizar síntesis. El Consejo de Farmacia y Química adoptó el nombre de tiamina.

La tiamina es una molécula compleja orgánica que contiene un núcleo pirimidínico y uno de tiazol. La estructura pirimidínica es fre-

cuenta en la naturaleza, pero el núcleo tiazólico, hasta ahora sólo se ha encontrado en la tiamina, la cual realiza su función en el organismo en forma de coenzima, el pirofosfato de tiamina. Se han logrado sintetizar antimetabolitos de la tiamina, de los cuales los más importantes son la neopiriditiamina y la oxitiamina.

2.14 ACCIONES FARMACOLOGICAS

La tiamina carece de acciones farmacológicas cuando se administra en dosis de orden terapéutico. Después de la inyección intravenosa rápida puede haber ligera vasodilatación y descenso de la presión sanguínea, pero este efecto es pasajero; el papel fisiológico de la vitamina concierne al metabolismo de los hidratos de carbono.

2.15 FUNCION FISIOLOGICA

La forma fisiológicamente activa de la tiamina, es el pirofosfato de tiamina; funciona en el metabolismo de los carbohidratos como coenzima para la descarboxilación de los ácidos pirúvico y alfa-cetoglutarico y para la utilización de las pentosas en el ciclo corto del monofosfato de hexosa.

En la carencia tiamínica se trastorna la oxidación de los alfa-cetoácidos, el aumento de la concentración de ácido pirúvico en la sangre es uno de los signos que permiten hacer el diagnóstico de deficiencia tiamínica. Una prueba diagnóstica más específica de tal deficiencia se basa en medir la actividad transcetolasa de los eritrocitos.

La deficiencia tiamínica grave produce el estado patológico conocido como beriberi. Los síntomas principales son de origen nervioso y cardiovascular. Muchos de los signos y síntomas neurológicos son característicos de neuritis periférica.

En los niños la deficiencia tiamínica muy grave puede tener un curso fulminante; se caracteriza por síntomas gastrointestinales, ataque paroxístico de rigidez muscular, el pulso es tenue y rápido, la cara está cianótica y hay congestión de las venas del cuello. Si no se instituye un tratamiento enérgico la muerte puede sobrevenir en 12 a 24 horas después de la aparición de los primeros síntomas.

La demanda de tiamina es función de índice metabólico, la cantidad mínima que necesita el hombre es aproximadamente de 0.33 mg/1000 - Kcal.

2.16 ABSORCIÓN, DESTINO Y ELIMINACIÓN

La absorción de la tiamina, tras la administración intramuscular, es rápida y completa, en tanto la absorción intestinal es limitada, con un máximo diario de 8 a 15 mg, que se logra mediante la administración oral de 40 mg en dosis fraccionarias con la comida.

La tiamina es absorbida en el intestino delgado por dos procesos, uno activo y otro pasivo. Los tejidos realizan la degradación total de aproximadamente 1 mg de tiamina al día. Cuando la ingestión es inferior a esta cantidad, la tiamina no aparece en la orina o sólo en cantidades muy pequeñas.

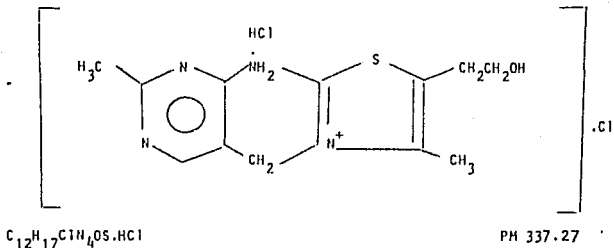
Cuando el ingreso excede la necesidad mínima, primero se saturan los depósitos tisulares y después aparece todo el excedente en la orina como pirimidina o tiamina.

La tiamina se prescribe como vitamina pura, mezcla de vitaminas puras o concentrados ricos en vitaminas. Se presenta en forma de pequeños cristales blancos o como polvo cristalino.

Las tabletas se preparan en dosis de 5 a 250 mg por tableta. La inyección de clorhidrato de tiamina U.S.P., es una solución estéril -

del medicamento en agua, los preparados comerciales contienen 50, 100-6 200 mg/ml. La tiamina se encuentra también en el elixir de 2.5 mg - por 5 ml.

2.17 MONOGRAFIA CLORHIDRATO DE TIAMINA



Monoclorhidrato del cloruro de 3- (4-amino-2-metilpirimidinil-5) metil-5-(2-hidroxiethyl)-4-metiltiazolio.

Contiene no menos del 98.0 por ciento y no más del 102.0 por -- ciento de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, calculado con referencia a la sustancia an hidra.

Sustancia de Referencia

Clorhidrato de tiamina sin secar. Determinar por volumetría el - contenido de agua, en el momento de su uso.

Descripción

Polvo cristalino o cristales blancos; generalmente con ligero - olor característico. Cuando se expone al aire el producto anhidro, rá- pidamente absorbe cerca de 4 por ciento de agua.

Solubilidad

Fácilmente soluble en agua; soluble en glicerol; ligeramente so-

luble en alcohol; insoluble en éter y en benceno.

Ensayos de Identidad

El espectro de absorción en la región infrarroja, de una dispersión en bromuro de potasio, de la muestra secada previamente a 105°C - durante 2 horas, exhibe máximas únicamente a las mismas longitudes de onda, que las de una preparación similar con la solución de referencia de clorhidrato de tiamina.

Si se encuentra una diferencia, disolver en agua porciones de la muestra y de la solución de referencia, evaporar las soluciones hasta sequedad y repetir la prueba utilizando los residuos.

Una solución 1 en 50 con la muestra, da positivas las reacciones de identidad para cloruros.

Temperatura de Fusión

Funde aproximadamente a 248°C con descomposición parcial.

pH

Entre 2.7 y 3.4. Determinar en una solución 1 en 100 de la muestra.

Agua

No más del 5.0 por ciento.

Residuo de la Ignición

No más del 0.2 por ciento.

Nitratos

A 2 ml de una solución 1 en 50 con la muestra, agregar 2 ml de ácido sulfúrico, dejar enfriar y agregar 2 ml de SR de sulfato ferroso, no se forma anillo de color café en la zona de contacto de las dos capas.

Absorbancia de la Solución

Disolver 1 g de la muestra en agua para tener 10 ml, la absorbancia de ésta solución, después de filtrarla a través de un filtro de vidrio de porosidad fina y determinada en celdillas de 1 cm, a la longitud de onda de 400 nm, es un espectrofotómetro y utilizando agua como blanco, no excede de 0.025.

Valoración

Disolver 300 mg de la muestra, en una mezcla de 50 ml de ácido acético glacial y 10 de SR de acetato mercuríco, calentar ligeramente para efectuar la disolución, agregar 3 gotas de alfa-naftol bencina. Titular con perclórico 0.1 N. Cada ml de ácido perclórico equivale a 16.80 mg de $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$.

Conservación

En recipientes cerrados, protegidos de la luz.

2.18 ESPECTROFOTOMETRIA

La espectrofotometría de absorción consiste en la medida de la absorción, por las diferentes sustancias, de una radiación electromagnética de longitud de onda situada en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática.

La banda espectral empleada en las mediciones se extiende desde las cortas longitudes de onda de la zona ultravioleta hasta la zona visible del espectro. El intervalo espectral puede considerarse como si estuviera constituido por dos zonas: la ultravioleta de 190-380 nm y la visible 380-780 nm.

La espectrofotometría en la zona visible, es la medida de la absorción de la luz visible, que generalmente no es monocromática pero que se selecciona mediante el empleo de filtros pigmentados o de interferencia.

Los espectros ultravioleta y visible de una sustancia no tienen en general, un alto grado de especificidad; sin embargo, son muy adecuados para las valoraciones cuantitativas y en el caso de muchas sustancias, constituye un útil medio adicional de identificación.

2.19 PARTES BÁSICAS DE UN ESPECTROFOTOMETRO

Fuente de Luz

Una lámpara de tungsteno corriente es una buena fuente de radiación para la región visible. En la región ultravioleta, la fuente de energía usual es una lámpara de descarga de hidrógeno, que emite radiación de intensidad casi constante en todo el intervalo del ultravioleta. Las fuentes de luz infrarroja son muy distintas, consisten en una varilla de carburo de silicio calentada eléctricamente a 1200°C.

Selector de Frecuencia

La determinación de un espectro de absorción requiere la medida de la absorbancia o de la transmitancia como función de la longitud de onda o la frecuencia de la radiación.

Por lo general, el elemento dispersante, la unidad que separa la luz en sus longitudes de onda componentes en un espectrofotómetro, es un prisma.

Para la luz visible, el vidrio es un buen material para el prisma, pero este material no resulta apropiado para la luz ultravioleta, ya que la absorbe y por ello se dispersa en un prisma de sílice. La materia usual del prisma de los espectrofotómetros de infrarrojo es el cloruro de sodio.

Control de la Intensidad

La cantidad de luz requerida dependerá de su longitud de onda y de la naturaleza de la muestra. Puesto que estas son variables, en la mayoría de los espectrofotómetros hay uno o más mecanismos de rendi---

jas, accionados manual o automáticamente, cuya anchura se varía, controlando así la intensidad de luz que alcanza la muestra.

Portamuestras

Todos los estudios espectrales en las regiones ultravioleta y visible se efectúan en soluciones diluidas. Las cubetas que contienen las muestras han de ser transparentes a la luz, por lo que se emplean cubetas de vidrio en la región visible y cubetas de sílice en la región ultravioleta.

Las cubetas de vidrio son aptas para medidas por encima de los 325 nm aproximadamente; por debajo de esta longitud de onda, el vidrio tiene demasiada absorbancia. Se dispone de cubetas de paso de luz internas de 0.1, 1.2, 5 y 10 cm.

Los espectros infrarrojos se determinan para muestras en solución con cubetas de cloruro de sodio u otros haluros. Se obtienen espectros satisfactorios a partir de muestras cristalinas, que se dispersan finalmente en aceites minerales o se comprimen en tabletas con bromuro de potasio como diluyente, la dispersión líquida se coloca entre placas de cloruro de sodio, como soporte en el paso de luz.

Detector

En los espectrofotómetros de ultravioleta y visible se emplean dispositivos electrónicos sensibilizadores, que se conocen como fototubos y tubos fotomultiplicadores, para detectar la intensidad de luz transmitida por la muestra.

Los fototubos contienen una superficie que emite electrones al chocar contra ella los fotones. Estos electrones se recogen entre una placa positiva y producen una corriente de placa que es proporcional a la intensidad de la radiación incidente.

Medidor o Registrador

La señal del detector se alimenta con un circuito potenciométri-

co, que se gradúa para obtener un dato de lectura de absorbancia o -- transmitancia, por lo que se calibra adecuadamente el instrumento, los espectrofotómetros registradores trazan un registro de la absorbancia o transmitancia sobre el papel cuadrículado, con estos instrumentos se registra automáticamente el espectro de absorción completo y el propio instrumento explora el intervalo de longitud de onda y dibuja la curva absorbancia-longitud de onda.

2.20 ESPECTROFOTOMETRO DE UN SOLO HAZ

La radiación que proviene de la fuente de luz se dirige, por los espejos, a través de la rendija hasta el espejo colimador. El rayo de luz va desde el espejo colimador hacia el prisma, donde se dispersa.

La cara posterior reflejante del prisma envía de nuevo la luz a través del prisma, dispersándola aún más.

La luz pasa por medio del espejo colimador y a través de la rendija a la cubeta de la muestra. Después de atravesarla, la luz alcanza el fototubo. Se lleva manualmente la señal hasta un equilibrio nulo en un circuito potenciométrico y se lee la absorbancia o la transmitancia en una escala graduada, seleccionar la longitud de onda haciendo girar otra escala graduada que cambia la orientación del prisma, se coloca la cubeta con el disolvente y ajustar el medidor para leer el 100% de transmitancia, enseguida se sitúa la cubeta que contiene la muestra en dirección del rayo y el medidor da directamente la absorbancia o transmitancia.

2.21 ESPECTROFOTOMETRO DE DOBLE HAZ.

Se ha eliminado la necesidad de realizar dos medidas por separado, con estos instrumentos se desdobla en dos haces idénticos, el rayo monocromático; un haz pasa a través de la cubeta de referencia y el -

otro atraviesa simultáneamente la muestra.

El instrumento mide la relación de las intensidades de radiación transmitida por las cubetas. La mayoría de los espectrofotómetros registradores son instrumentos de doble haz.

Preparación de la Muestra

Se consideran los márgenes de concentración adecuados para estudios en las zonas visibles y ultravioleta, puesto que el paso de luz se puede variar de 0.1 hasta 10 cm, se dispone de cierto grado de libertad para variar la concentración.

La absorbancia estaría en el intervalo 0.2-1.0 para la mayor parte de los espectrofotómetros, aunque algunos instrumentos permiten realizar medidas precisas en margen 1-3.

Disolventes

El disolvente debe ser transparente en todo el intervalo de frecuencia, los más utilizados para las regiones UV y V son: agua, metanol, etanol, cloroformo, hidrocarburos ligeros, éteres, etc.

2.22 COEFICIENTE DE REPARTO

Casi todas las muestras farmacéuticas que se presentan son mezclas, algunas veces muy complejas. La determinación de la cantidad de cada componente aislado suele ser sencilla por algunas técnicas.

El análisis de estos mismos componentes en presencia de los restantes, pueden, sin embargo, ser difíciles o incluso imposible a causa de la interferencia de una sustancia en la determinación de otra.

Las interferencias adoptan varias formas, la sustancia interferente puede responder cuantitativamente al método analítico para el componente deseado. Algunas veces la interferencia es una respuesta

parcial, no cuantitativa a la determinación.

Cuando no se puede aplicar directamente un método analítico a una mezcla, debido a posibles interferencias, es necesario una separación de la mezcla en sus componentes.

2.23 EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO

La extracción es un proceso de separación de un constituyente de una fase; se consigue poniendo ésta en contacto con una segunda fase líquida inmiscible.

El coeficiente de partición es una especie simple de soluto distribuido entre dos líquidos inmiscibles. Según la termodinámica en el equilibrio, la razón de las actividades de la especie soluto en las dos fases es una constante; a este principio se le llama ley de distribución de Hernst.

El coeficiente de partición depende de la temperatura, pero no es función de las concentraciones absolutas o de los volúmenes de las fases, una de ellas acostumbra ser agua, sin embargo algunos definen el coeficiente de partición como la razón orgánica-acuosa, o aceite--aceite-agua.

Determinar un coeficiente de partición puede realizarse de manera muy sencilla; se distribuye el soluto presente en una cantidad lo suficientemente pequeña para que no se exceda su solubilidad en los solventes entre las dos fases inmiscibles; esta operación se efectúa en un embudo de decantación, alcanzando el equilibrio, se separan las fases y analizan para calcular el soluto.

Es buena práctica determinar el coeficiente de partición a varias concentraciones absolutas de soluto; debe obtenerse un valor constante si el soluto no sufre disociación o asociación en ninguno de los

solventes. Otra forma de examinar tales datos es representar la concentración en la fase superior en función de la concentración de la fase inferior, este gráfico se llama isoterma de distribución o partición.

Una isoterma de partición no lineal suele indicar que el soluto no está presente o sólo como monómero no disociado en ambos solventes.

2.24 EXTRACCION SIMPLE

Si se conoce el coeficiente de partición para un soluto entre dos disolventes, es posible calcular la fracción de aquél presente en cada una de las fases en el equilibrio.

Cuando mayor sea el coeficiente de partición, mayor será el porcentaje de soluto encontrado en la fase superior después de alcanzado el equilibrio.

Se logra una extracción más eficaz con varias extracciones que con sólo una extracción, utilizando el mismo volumen total de extrante. Las extracciones múltiples dan una separación prácticamente cuantitativa del soluto, mientras que la extracción distaba de ser completa.

Una separación completa de los dos solutos con una sencilla extracción líquido-líquido, requiere que uno de los coeficientes de partición sea tan pequeño o tan grande que en la práctica, esta sustancia no se extraiga del soluto refinado.

Cuando hay más de un solvente extrante, la elección se basa en sus densidades, según sean más pesados o ligeros que el agua. El equilibrio de solubilidad es función entre las interacciones soluto-soluto y soluto-disolvente, mientras que el coeficiente de reparto depende de dos tipos de interacciones soluto-disolvente.

Control de pH

Muchos de los compuestos o en su mayoría son ácidos o bases débiles, las características de solubilidad de estas sustancias dependen de su forma iónica; la especie neutra es soluble en disolventes orgánicos no polares, mientras que la especie iónica lo es en disolventes polares, especialmente el agua.

Estas formas pueden interconvertirse por la sola alteración del pH del medio y por tanto, el control del pH es el recurso más poderoso para influir sobre el valor del coeficiente de reparto.

Es necesario, aunque sea de manera aproximada, conocer el pK_a del soluto en tal separación. Su forma neutra es soluble en el solvente extractante. Es indispensable que el pH sea como mínimo tres unidades más básico que el pK_a para asegurar la conversión completa a la forma aniónica.

Para convertir una base neutra a su forma protonada ácida, en ese caso, el pH ha de ser, al menos, tres unidades más ácido que el pK_a ; también se ha de tener en consideración el efecto simultáneo del pH sobre el coeficiente de partición del soluto que se extrae.

Control de la Fuerza Iónica

Si se eleva mucho la concentración de sal de una solución acuosa, por lo general disminuirá la solubilidad de un no electrólito.

Esta reducción de la solubilidad por incremento de la fuerza iónica es el efecto salting-out. Esto puede asociarse con la reducida disponibilidad de moléculas de agua para actuar como solvente para el no electrólito; los iones de la sal ligan más agua a través de fuerzas-fuerzas, ion dipolo, como esfera de hidratación alrededor de los iones. Cabe utilizar ventajosamente este fenómeno en extracción con disolventes, añadiendo gran cantidad de cloruro de sodio en la fase acuosa, el soluto es salted-out a la fase orgánica extractante; la sal también ayuda a romper emulsiones susceptibles de formarse cuando se agitan juntas las dos fases.

2.25 MONOGRAFIA DE AGUA PARA INYECTABLES

Descripción

Líquido transparente, incoloro e inodoro.

pH

Entre 5.0 y 7.0 medido potenciométricamente empleando una solución preparada por adición de .30 ml de solución saturada de cloruro de potasio a 100 ml de muestra.

Cloruros

A 100 ml de muestra, añadir 5 gotas de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata S.R. No debe aparecer opalescencia en la solución luego de transcurridos 15 minutos.

Sulfatos

A 100 ml de muestra añadir 1 ml de S.R. de cloruro de bario. No debe producirse turbidez.

Amoníaco: .3 ppm

Añadir 2 ml de S.R. de yoduro de potasio mercúrico alcalino a -- 100 ml de muestra. El color amarillo que se produce de inmediato no es mayor que el producido en una solución control que contenga 30 ug de NH_3 añadidos al mismo volumen de agua de alta pureza que el volumen de agua empleado para la muestra.

Calcio

A 100 ml de muestra, añadir 2 ml de S.R. de oxalato de amonio. No debe aparecer opalescencia en la solución luego de transcurridos 15 minutos.

Bióxido de Carbono

A 25 ml de muestra, añadir 25 de S.R. de hidróxido de calcio. La mezcla debe permanecer transparente.

Metales Pesados

Ajustar 40 ml de agua purificada a un pH de 3.0 a 4.0 empleando solución 1 N de ácido acético. Añadir 10 ml de S.R. de ácido sulfhídrico recién preparado y dejar reposar la muestra.

Al mismo tiempo que se prepare la muestra, se deberá correr un control empleando 50 ml de la misma agua que está siendo analizada y la misma cantidad de ácido acético añadido a la muestra. Transcurridos 10 minutos inspeccionar la muestra y comparar con el control, ambos en tubos de Nessler apareados y observados desde la parte superior empleando un fondo blanco. El color de la muestra no deberá ser más oscuro que el del control.

Sustancias Oxidables

A 100 ml de muestra añadir 10 ml de solución 2N de ácido sulfúrico y calentar hasta ebullición. Luego añadir 0.1 ml de solución 0.1N de permanganato de potasio y hervir durante 10 minutos. El color rosa no deberá desaparecer por completo.

Sólidos Totales

Evaporar a sequedad 100 ml de muestra en un BM y secar a 105°C durante 1 hora. El total de residuo no deberá ser mayor a 1 mg (.001%).

Pirógenos

Emplear una muestra representativa del lote haciéndola isotónica por la adición de cloruro de sodio estéril y apirogénico. Inyectar al animal 10 ml por Kg de peso.

Pureza Bacteriológica

No más de 50 UFC por 100 ml mesófilos aerobios y ausencia de patógenos.

Empaque y Almacenamiento

Emplear de preferencia inmediatamente después de su preparación, o bien almacenar en condiciones tales que garanticen la conservación -

de sus características.

2.26 INYECTABLES

Los preparados inyectables están constituidos por soluciones, -- suspensiones o emulsiones estériles, envasados en recipientes que conservan la esterilidad del contenido, destinados a la administración parenteral, esto es, debajo o a través de una o más capas de piel o mucosa.

Algunos de ellos se preparan en el momento por disolución o por suspensión de un polvo en un líquido, o por mezcla de soluciones. Aunque con menos frecuencia, se administran pequeños comprimidos o gránulos estériles colocándolos bajo la piel mediante una pequeña intervención quirúrgica, en este caso se habla de una implantación en lugar de inyección.

La elección de la vía de inyección varía con la droga y las necesidades terapéuticas del caso. Existen drogas que únicamente pueden administrarse por vía inyectable si se desea de ellas una determinada acción, pues las hay que tienen una actividad por vía oral y otras por vía inyectable; otras no pueden atravesar la pared intestinal para llegar a la circulación.

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

Las modalidades de aplicación son intradérmicas, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intracardíaca, intraarterial, intrarraquídea, intraarticular.

Vehículos

Vehículos Acuosos

Por su universalidad, el solvente de elección es el agua, una de sus características principales es su constante dieléctrica elevada, - que hace posible la disolución de electrólitos. Entre las diferentes - calidades de agua se encuentra la destinada a la preparación de inyectables, que debe reunir algunas condiciones muy particulares.

El agua estéril para inyectables no debe contener gérmenes y éstos pueden eliminarse por cualquiera de los regímenes de esterilización, así como por el de filtración bacteriológica; tampoco debe contener pirógenos, pues éstos pueden eliminarse de las soluciones que se elaboren con ella, es mejor evitar su presencia desde que se inicie la elaboración.

El agua para la elaboración de inyectables debe obtenerse por - destilación y mejor aún, por tratamiento a través de resinas de intercambio iónico y sucesiva destilación.

Es aconsejable el empleo del agua destilada para inyectables antes de las tres horas de producida para evitar su contaminación microbológica y formación de pirógenos. De lo contrario, debe mantenerse en envases adecuados en los que se ha esterilizado o dársele las condiciones para su almacenaje.

La práctica de ubicarla en recipientes provistos de lámparas de irradiación ultravioleta no es recomendable, por la formación de ozono. En cambio, puede filtrarse por medio de filtros de membrana de adecuada porosidad si ha de usarse luego de las tres horas de producida. - Si se opta por conservarla a temperatura alta, el recipiente deberá poseer en su tapa un dispositivo provisto de filtro esterilizante que - permitirá la salida del oxígeno y del anhídrido carbónico, mientras - que se opera el calentamiento.

Las cañerías de distribución pueden ser de cloruro de polivinilo, polietileno, polipropileno, acero inoxidable, vidrio Pyrex. Los tres últimos son ventajosos en cuanto pueden lavarse y esterilizarse por vapor filtrado. El vidrio permite ver el flujo y la superficie interna aunque presenta el inconveniente de requerir conexiones que constituyen causa de contaminación.

Si el agua resultara contaminada, se interrumpirá la distribución y se deberá lavar la cañería con solución detergente caliente; luego se pasará solución de un antiséptico y finalmente vapor filtrado.

Vehículos No Acuosos

Por razones de solubilidad o por riesgo de hidrólisis del agente terapéutico, no se puede utilizar el agua como vehículo de soluciones y debe acudir a otro, en los que él mismo es soluble o más soluble y que tiene una constante dieléctrica más baja que el agua, con lo que se evita la hidrólisis. Para seleccionar el solvente adecuado deben tenerse en cuenta una serie de variables, el solvente no debe ser tóxico, ni irritante o sensibilizante, no debe tener acción farmacológica, no debe potenciar o disminuir la actividad terapéutica de la droga, en condiciones normales el solvente no debe reaccionar ni afectarse por ácidos o álcali y debe ser estable, su viscosidad no debe dificultar su manejo y aplicación, el punto de ebullición debe ser suficientemente alto para resistir las temperaturas de la esterilización.

No todos los solventes potencialmente utilizables participan en su integridad de las propiedades señaladas y por ello, debe seleccionarse el que mejor se acomode en cada caso.

Resulta difícil clasificarlos, pero a los efectos del estudio de los más usados suelen considerarse dos tipos: aceitosos y misibles con agua.

Vehículos Aceitosos

En primer lugar se hallan los aceites, es decir, mezclas de glicéridos de ácidos grasos de distinta longitud de cadena predominando - entidades con dobles ligaduras. Precisamente la fluidez de los aceites se debe a las dobles ligaduras de sus ácidos grasos. Quizá el más común y a veces el más abundante sea el ácido oléico con dos dobles ligaduras.

Mono y glicéridos, son ésteres del glicerol con una y dos moléculas de ácidos grasos, por lo general ácido oléico.

Aceites interesterificados se obtienen de la acción de polioxietilenglicoles sobre triglicéridos con presencia de un catalizador en recipientes cerrados.

Adyuvantes en las Formulaciones de Inyectables

Anestésicos

Se denominan así a sustancias que privan de sensibilidad una zona limitada, localiza, sin producir pérdida del conocimiento. El mecanismo real por el cual actúan los anestésicos es desconocido, pero las estructuras sensoriales próximas al lugar de la inyección acusan el efecto por absorción y fijación a terminaciones nerviosas periféricas, por lo que producen la anestesia local en área limitada.

Anestésicos de mayor utilización: alcohol bencílico, clorhidrato de piperocaína, clorhidrato de procaína, clorhidrato de dibucaína, milticaína, clorhidrato de lidocaína, clorhidrato de mepivacaína, clorhidrato de prilocaína. Algunos de estos anestésicos se dan con vasoconstrictores para retener por tiempo suficiente su efecto.

Antisépticos

No todos pueden utilizarse para los preparados inyectables, pues deben reunir ciertas condiciones no comunes. Se exige de ellos que no-

produzcan irritación, que sean termoeestables para que resistan la temperatura de esterilización.

En ocasiones, la concentración útil y tolerada para preparados - que se aplican por otras vías resulta tóxico por vía inyectable.

Los conservadores más utilizados en preparados parenterales son - los compuestos órgano-mercuriales; timerosal; nitromersol, en concen- tración del 0.01%; los compuestos de amonio cuaternario: cloruro de - bencetonio, belzalconio y cetrimida, en concentración del 0.01%, el al - cohol bencílico al 0.5%, el cloro butanol al 0.5%, el fenol al 0.5%, - cresol al 0.3%, p-cloro-mcresol al 0.25%, parabenos en concentración - variable, según la longitud de la cadena alquímica y si se usan en mez - cla o no, hasta un máximo del 2 por 1000 para el metilparabeno.

Las inyecciones destinadas a administración intraespinal, intra- cisternal o peridural no deben contener conservadores y sus envases de - ben ser sólo de una dosis.

Antioxidantes

Algunos inyectables requieren de estos agentes de protección, - las consideraciones sobre administración de un preparado conteniendo - antioxidantes por una vez o en forma repetida por lapsos cortos o pro- longados, efectuadas en relación a los antisépticos, valen para aqué- llos, es decir, que en su elección se tendrá en cuenta la frecuencia - de las aplicaciones.

El ácido ascórbico, el isoascórbico, el palmitato, estearato y - aleato de ascorbilo dentro de límites razonables, no ofrecen problemas de toxicidad en su utilización, el ácido ascórbico no es estable y re- quieren un pH entre 5 y 6, al igual que los tocoferoles suelen emplear - se en proporción del 0.05%. Los galatos se usan con mucha frecuencia, - el butilhidroxianisol y el butilhidroxitolueno, el bisulfito de sulfi- to de sodio.

Tensioactivos

Los tensioactivos no iónicos son los menos tóxicos, siguiendo -- los aniónicos y finalmente los catiónicos. Los tensioactivos, en mayor o menor grado, son hemolíticos. Se ha demostrado que el lauril sulfato de sodio al 0.04% lisa totalmente los eritrocitos, el monolaurato de sorbitán polioxi-etilénico al 0.1%.

Envases

Ampollas de vidrio

El envase para inyectables es la ampolla de vidrio con capacidad por lo general, hasta de 25 ml. Se ha tratado del vidrio para su fabricación, cortado, características mecánicas, medidas óptimas, transmisión de la luz, limpieza. El cierre se efectúa por difusión del mismo vidrio. Las ampollas contienen una sola dosis, ya que no se podría mantener estéril su contenido.

Frasco de vidrio

Se utilizan envases de vidrio de borosilicato y de vidrio tratado, otros vidrios no son recomendables pues no resisten la esterilización. Para dosis fraccionadas y solventes en medicina humana se emplean frascos de hasta 100 ml. En estos casos, el tapón es de goma que se sujeta con dos sobretapas de aluminio. La primera toma el tapón dejando un círculo en el centro cuyo diámetro suele ser 2/5 del diámetro total. La segunda cubre totalmente el conjunto.

Para usar el contenido se aplica un antiséptico a la goma y se perfora con aguja previamente esterilizada. A veces y con objeto de aprovechar toda la solución, sin dejar gotas adherentes a las paredes, estos frascos están siliconados por dentro tornando sus paredes repelentes del agua.

Envases de Plástico

En general se utilizan para soluciones que se darán por infusión y se confeccionaron con materiales termoplásticos. En relación al vidrio ofrecen ventajas e inconvenientes, éste es transparente, inerte - químicamente, de composición definida, resistentes a la temperatura de esterilización, rígido e impermeable.

El envase de plástico es mucho menos transparente y también permeable a los gases y vapores de agua. Contiene cargas antioxidantes es tabilizantes, plastificantes, todos ellos posibles contaminantes de las soluciones.

Ensayos Biológicos

Algunos ensayos se realizan con testigos para obtener la certeza de que el agente esterilizante se ha llegado a los lugares en que se ubicaron los objetos a esterilizar; en algunos casos se realizan con reactivos biológicos, como el *B. stearothermophilus*. Se toman muestras al azar que se pasan a través de filtros de membranas, éstas se recortan y se siembran en medio de tioglicolato y sabouraud, el ensayo se considera positivo o negativo si al cabo de unos días hay o no desarrollo de gérmenes.

Pirógenos Bacterianos

Lípolisacáridos de alto peso molecular que provocan aumento de la temperatura corporal son producidos por diversas bacterias, hongos, levaduras y virus.

Los pirógenos más activos son los producidos por bacterias gram-negativas y los originados en *Escherichia coli* producen fiebre en el conejo o en el hombre en dosis de aproximadamente 1 ng/Kg.

Las pruebas se efectúan utilizando al conejo como reactivo, pues responde del mismo modo que el hombre a estos ensayos.

La prueba consiste en la medida de la respuesta febril a la inyección que se aplica en la vena marginal de la oreja del animal, se utilizan termocuplas que registran la temperatura en dispositivos de fácil y rápida lectura y que no se requiere movilizarlos.

Se administra una dosis de prueba a tres conejos (dosis s/P.A.). Si la suma de aumento máximo de temperatura es menos de 1.4°C en los tres conejos, las muestras pasan la prueba. Si la suma de los aumentos es mayor, la muestra se rechaza, repitiéndose la prueba según indica FEUH VEd.

Los conejos que se han utilizado y han dado resultado negativo pueden volverse a emplear después de un reposo de tres semanas, por lo menos. Los que han dado respuesta positiva ya no vuelven a utilizarse.

pH

Por la propia estabilidad del medicamento el pH puede variarse, no es necesario que sea neutro, aunque ciertas ocasiones las soluciones deben mantenerse en un pH que se encuentre próximo al de los fluidos del organismo.

La mayor tolerancia se logra en las proximidades de un pH de 7.35 que es el de la sangre; es preferible que los volúmenes que lleguen tengan un pH cercano al del medio 7.2-7.4, por lo que evita muchas reacciones, además resulta menos dolorosa, sobre todo por vías subcutánea e intramuscular.

Presión Osmótica

En el primer caso, la lisis parcial o total de los eritrocitos se produce un cambio de concentración de la solución; en el segundo caso, la citotoxicidad se manifiesta por la hemólisis, que se produce utilizando soluciones con el mismo descenso crioscópico que la sangre.

Cuando la solución tiene el mismo descenso crioscópico que la sangre, sin importar su conducta frente al eritrocito, se dice que es

isoosmótica. La membrana de los glóbulos rojos no es una membrana semi permeable, existen agentes que la atraviesan.

En tal caso, no habrá presión osmótica y la solución se comporta como agua, el soluto se reparte en la misma proporción dentro y fuera del eritrocito produciéndose el estallido del glóbulo rojo.

Si el soluto atraviesa la membrana, habrá una concentración iónica o molecular en cuyo medio el eritrocito no aumentará ni disminuirá su volumen; se dice entonces que la solución es isotónica.

CAPITULO 3
ESTUDIO ESTADISTICO

3.1 VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

Se podría definir la validación como la determinación del grado de validez de un proceso de medición. Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad.

Es necesario una validación del método, ya que existen variaciones en cuanto a equipo analítico, personal, material y reactivos en relación con la aplicación de los métodos analíticos en producto terminado.

La validación de un método analítico puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método analítico satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa, en este caso, en términos de parámetros analíticos.

La validación de un método analítico incluye una evaluación de los siguientes parámetros:

- a) Linealidad y precisión del sistema.
- b) Especificidad
- c) Precisión y exactitud del método.
- d) Reproducibilidad

3.2 LINEALIDAD DEL SISTEMA

Se determina, construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida), utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo análisis cuando menos por duplicado para cada dilución.

El intervalo entre las concentraciones a analizar dependerá del-

propósito del método; para control de calidad y de seguimiento de la estabilidad de un fármaco en una forma farmacéutica, deberá estar incluida la concentración seleccionada como 100%.

NOTA: Se considera el 100% como la concentración de la muestra en la solución final a analizar, que proporciona una respuesta adecuada dependiendo del método de cuantificación.

Criterio

CV menor o igual que 1.5%

r mayor o igual que 0.99

r² mayor o igual que 0.98

NOTA: Para métodos microbiológicos r mayor o igual que 0.98.

METODOLOGIA

Linealidad del sistema

1). Tabular los resultados con base al siguiente formato:

Concentración de la dilución de la solución patrón (x)	Propiedad medida (y)
x ₁	Y ₁₁ , Y ₁₂ , Y _{1n}
x ₂	Y ₂₁ , Y ₂₂ , Y _{2n}
.	.
.	.
x _t	Y _{t1} , Y _{t2} , Y _{tn}

t = número de diluciones

n = número de replicaciones (propiedad medida) de cada dilución de la solución patrón.

2). Cálculos preliminares para coeficiente de correlación y coeficiente de determinación.

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

$$SY = y_{11} + y_{12} \dots + y_{1n} + y_{21} + y_{22} \dots + y_{2n} \dots + y_{t1} \dots \\ \dots + y_{t2} \dots y_{tn}$$

$$SX^2 = n (x_1^2 + x_2^2 \dots + x_t^2)$$

$$SY^2 = y_{11}^2 + y_{12}^2 \dots y_{1n}^2 + \dots + y_{2n}^2 \dots + y_{t1}^2 \dots + y_{t2}^2 + \dots \\ \dots y_{tn}^2$$

$$SXY = x_1 (y_{11} + y_{12} + y_{1n}) + x_2 (y_{21} + y_{22} + \dots y_{2n}) + \dots x_t \\ (y_{t1} + y_{t2} + \dots + y_{tn})$$

- 3). Cálculos finales para coeficiente de correlación y coeficiente de determinación:

$$r = \left[\frac{[nt (S_{xy}) - (S_x)(S_y)]^2}{[nt (S_x^2) - (S_x)^2] [nt (S_y^2) - (S_y)^2]} \right]^{1/2}$$

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

- 4). Cálculos preliminares para el coeficiente de variación:

- 4.1 Calcular para cada punto de la linealidad del sistema el siguiente factor:

$$F = \frac{\text{propiedad medida (y)}}{\text{Concentración de la dilución de la solución patrón (x)}}$$

$$F_{11} = \frac{y_{11}}{x_1}$$

$$F_{12} = \frac{y_{12}}{x_1}$$

$$F_{1n} = \frac{y_{1n}}{x_1}$$

$$F_{t1} = \frac{y_{t1}}{x_t}$$

$$F_{t2} = \frac{y_{t2}}{x_t}$$

$$F_{tn} = \frac{y_{tn}}{x_t}$$

4.2 Calcular la suma de factores, la suma de cuadrados de factores y la media del factor:

$$F = F_{11} + F_{12} + F_{1n} \dots + F_{t1} + F_{t2} + F_{tn}$$

$$F^2 = F_{11}^2 + F_{12}^2 + F_{1n}^2 + \dots + F_{t1}^2 + F_{t2}^2 + F_{tn}^2$$

$$\bar{F} = \frac{\sum F}{N}$$

donde: N = número de puntos de la linealidad del sistema.

5). Cálculos finales para el coeficiente de variación:

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

$$CV = \frac{DE}{\bar{F}} \times 100$$

Criterio:

CV 1.5%

r 0.99, r^2 0.98

3.3 PRECISION DEL SISTEMA

Se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución-estándar correspondiente al 100% establecido en la linealidad del sis-

Tema.

Criterio:

CV menor o igual que 1.5%

NOTA: Para métodos microbiológicos CV menor o igual que 3%.

Precisión del Sistema

1). Tabular los resultados:

$y_1, y_2, y_3, \dots, y_n$

2). Cálculos preliminares:

$$y = y_1 + y_2 + y_3 + \dots + y_n$$

$$y^2 = y_1^2 + y_2^2 + y_3^2 + \dots + y_n^2$$

$$\bar{y} = \frac{Sy}{n}$$

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

3). Cálculos finales:

$$\text{Coeficiente de variación} = CV = \frac{DE}{\bar{y}} \times 100$$

3.4 LINEALIDAD 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 haciendo los análisis por triplicado.

Las concentraciones de los placebos cargados deben ser las adecuadas para que, utilizando el método propuesto, las concentraciones - de las soluciones finales a analizar estén dentro del intervalo de la-

linealidad del sistema, incluyendo siempre la correspondiente al 100%.

Criterio:

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada:

$m = 1, b = 0, r^2$ mayor o igual a 0.98.

Los porcentajes recuperados y los CV a cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad, deben estar de acuerdo a la siguiente tabla:

METODO:	PROMEDIO DE RECOBRO	CV
Cromatográficos	98 - 102%	Menor o igual 2%
Titriméticos	98 - 102%	Menor o igual 2%
Químicos y espectro fotométricos	97 - 102%	Menor o igual 3%
Microbiológicos	95 - 102%	Menor o igual 5%

NOTA: En métodos de cuantificación de fármacos en fluidos biológicos, la amplitud del estudio dependerá de las cantidades mínima y máxima esperada.

Linealidad del Método

Cantidad Adicionada - Cantidad Recuperada

Tabular los resultados con base al siguiente formato:

Cantidad Adicionada (X)	Cantidad Recuperada (Y)
X ₁	Y ₁₁ , Y ₁₂ , ..., Y _{1n}
X ₂	Y ₂₁ , Y ₂₂ , ..., Y _{2n}
X ₃	Y ₃₁ , Y ₃₂ , ..., Y _{3n}
*	* * *
X _t	X _{t1} , Y _{t2} , ..., Y _{tn}

t = número de cantidad adicionada.

n = número de replicaciones (cantidad recuperada) por cada cantidad adicionada, sean equivalentes.

Cálculos preliminares:

$$SX_2 = n(X_{1_2} + X_2 + \dots + X_{t_2})$$

$$SX^2 = n(X_1 + X_2 + \dots + X_t)$$

$$SY = Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_n + \dots + Y_t$$

$$SY^2 = Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_t^2 + \dots + Y_t^2$$

$$SXY = X_1(Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_n) + X_2(Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_t) + \dots + X_t(Y_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn})$$

Cálculos finales:

$$m = \frac{nt(SXY) - (SX)(SY)}{nt(SX^2) - (SX)^2}$$

$$b = \frac{SY - m(SX)}{nt}$$

$$r^2 = \frac{nt(SXY) - (SX)(SY)^2}{nt(SX^2) - (SX)^2 \quad nt(SY^2) - (SY)^2}$$

Porcentaje Recuperado

Calcular el porcentaje recuperado (R) por cada cantidad recuperada, con la siguiente ecuación:

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

Tabular los resultados:

$$R_1, R_2, R_3 \dots R_n$$

Cálculos preliminares:

$$SR_2 = R_{1_2} + R_{2_2} + R_{3_2} + \dots + R_n$$

$$SR^2 = R_1 + R_2 + R_3 \dots + R_n$$

$$\bar{R} = (SR)/N$$

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

Cálculos finales:

Coefficiente de variación

$$CV = (DE/\bar{R}) 100$$

3.5 EXACTITUD AL 100%

Se debe cuando menos analizar 6 placebos cargados con el 100% -- del principio activo, de manera independiente, por el mismo analista y en las mismas condiciones de trabajo.

Criterio

El intervalo de confianza para la media debe incluir el 100%.

El coeficiente de variación debe cumplir con los criterios establecidos en la linealidad del método.

NOTA: Si en el momento de hacer la linealidad del método se trabajan -- diferentes concentraciones cuando menos por quintuplicado, la -- exactitud del método se puede determinar de los valores de línea -- lidad.

Tabular los resultados del porciento recuperado (R), con base al

siguiente formato:

$$R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$$

Cálculos preliminares:

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

$$SR^2 = R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 \dots R_n^2$$

$$\bar{R} = (SR)/N$$

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

Cálculos finales:

Coefficiente de variación

$$CV = (DE/\bar{R}) 100$$

3.6 PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)

Se debe llevar a cabo cuando menos por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado cada muestra.

Trabajar de manera independiente partiendo de una muestra homogénea del producto cerca al 100% de la concentración teórica.

Criterio

El coeficiente de variación total debe cumplir con los fines para los cuales el método será utilizado.

METODO:	CV
Cromatográficos	2%
Químicos y Espectrofotométricos	3%
Microbiológicos	5%

Precisión (Reproducibilidad)

El siguiente procedimiento únicamente es aplicable cuando se utilicen 2 días, 2 analistas y 3 determinaciones.

Cuando se utilice un método distinto de días y/o analistas y/o recobros por analistas/día, se sugiere que se consulte a un estadístico.

Tabular los resultados con base al siguiente formato:

		ANALISTA	
		1	2
DIA	1	Y_{111}	Y_{211}
		Y_{112}	Y_{212}
		Y_{113}	Y_{213}
	2	Y_{121}	Y_{221}
		Y_{122}	Y_{222}
		Y_{123}	Y_{223}

Cálculos Preliminares:

$$SY = Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + \dots + Y_{223}$$

$$SY^2 = Y_{111}^2 + Y_{112}^2 + Y_{113}^2 + \dots + Y_{223}^2$$

$$\bar{Y} = SY \dots / N$$

$$DE = \frac{N(SY^2) - (SY \dots)^2}{N(N-1)} \quad 1/2$$

N = número total de determinaciones

Cálculos Finales:

• Coeficiente de variación

$$CV = (DE/\bar{Y}) 100$$

3.7 TRABAJO EXPERIMENTAL

Materiales:

Embudo de rama larga

Embudo de separación

• Matraz volumétrico

Papel filtro

Pipetas volumétricas

Pipetas graduadas

Tubos de ensaye

Vaso de precipitado

Reactivos:

Cloruro férrico

Ferricianuro de potasio

Hidróxido de sodio

Isobutanol

Sulfato de sodio anhidro

Agua destilada

Equipo:

Espectrofotómetro

Muestras de Estudio:

- 1.- Se preparó una solución estándar a partir de la cual se procederá a validar el sistema según normas establecidas.
- 2.- Se preparan placebos adicionales de principios activos según fórmula registrada y se procede a validar el método según las normas establecidas.

3.8 FORMULACION DE LA MUESTRA DE ESTUDIO

La formulación sobre la cual se realizó el estudio de validación de método analítico es la siguiente:

Producto Terminado: inyectable

Cada ml contiene:

Cianocobalamina	5.00 mg
Clorhidrato de Tiamina.	100.00 mg
Clorhidrato de Piridoxina	50.00 mg
Clorhidrato de Lidocaína.	0.01 mg
Polivinilpirrolidona	19.00 mg
Cloruro de Sodio	8.00 mg
Alcohol Bencílico.	0.015 ml
Agua Destilada c.b.p.	1.00 ml

3.9 METODOS

Análisis Espectrofotométrico de la Vitamina B12

La absorción a 361 nm de las soluciones de vitamina B12, diluidas se miden en el espectrofotómetro frente al disolvente en una cubeta de cuarzo de 1 cm.

Procedimiento

Tomar 4 ml de muestra (equivalente a 20 mg de B12), aforar a 100 ml con agua destilada, de esta dilución tomar 5 ml y aforar a 50 ml con agua destilada.

Preparar una solución de referencia a la misma concentración.

Leer a 361 nm. Usar agua como blanco.

Clorhidrato de Piridoxina

La molécula de Piridoxina posee un grupo hidroxilo de fenólico - que da una coloración característica al reaccionar con cloruro férrico.

Solución Reactivo de cloruro férrico: se disuelven 45.1538 gr de cloruro férrico GR en 50 ml, diluir 1 ml en 50 ml de agua destilada.

Procedimiento:

Tomar 1 ml de muestra (equivalente a 50 mg de B6), aforar a 50 ml con agua destilada, de esta dilución tomar 10 ml y aforar a 100 ml con agua destilada.

Preparar una solución de referencia a la misma concentración.

De la última dilución tomar 10 ml de muestra y 10 ml de solución de referencia y tratar con 2 ml de solución de cloruro férrico, dejar reaccionar por cinco minutos.

Preparar un blanco con 2 ml de solución de cloruro férrico más 10 ml de agua destilada.

Leer a 450 nm.

Clorhidrato de Tiamina

El método se basa en la oxidación de la tiamina a tiocromo, la reacción del tiocromo se aplica con ventaja en el análisis farmacéutico, particularmente en el examen de preparaciones multivitamínicas.

Procedimiento:

Tomar 1 ml de muestra (equivalente a 100 mg de B1), aforar a 100 ml con agua destilada, de esta dilución tomar 5 ml y aforar a 100 ml con agua destilada.

Preparar una solución de referencia a la misma concentración.

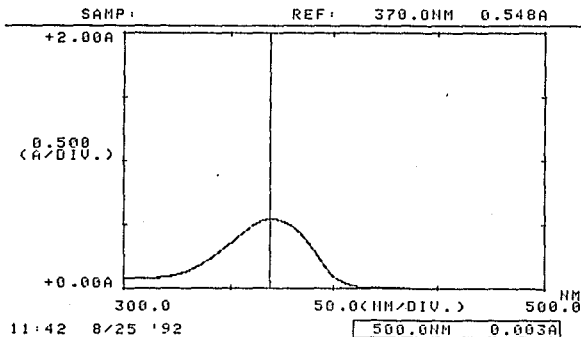
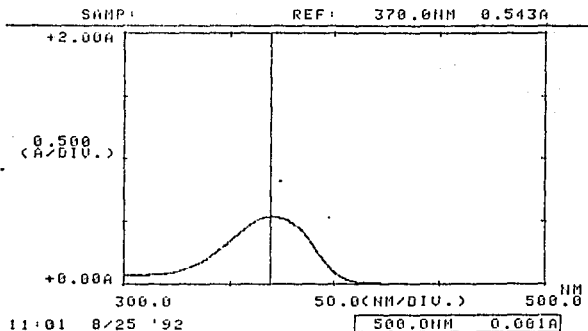
Solución oxidante: 1 ml de ferricianuro de potasio al 1%, más 9-ml de hidróxido de sodio al 20%.

Tomar 4 ml de la última dilución de la muestra y solución de referencia; en un embudo de separación, agregar 4 ml de solución oxidante, dejar reaccionar 1 minuto exacto, agregar 15 ml de isobutanol a cada embudo, agitar ambos embudos simultánea y vigorosamente por 2 minutos.

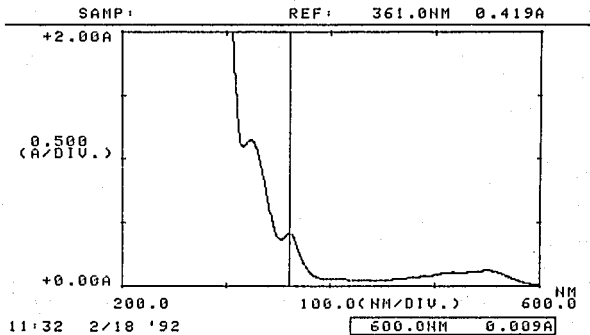
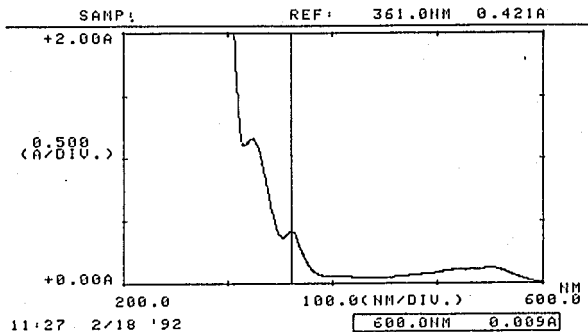
Dejar sedimentar ambas mezclas, se eliminan las fases acuosas y las capas isobutanólicas pásarlas a través de un papel filtro que contenga sulfato de sodio anhidro.

Leer a 370 nm. Usar isobutanol como blanco.

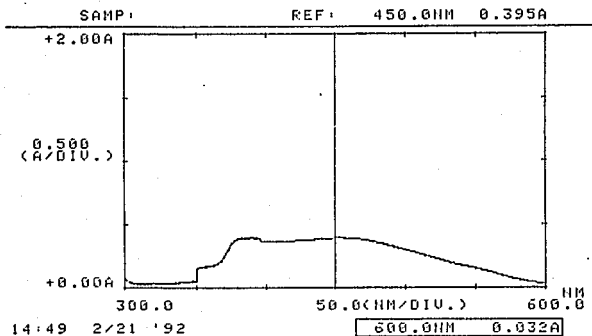
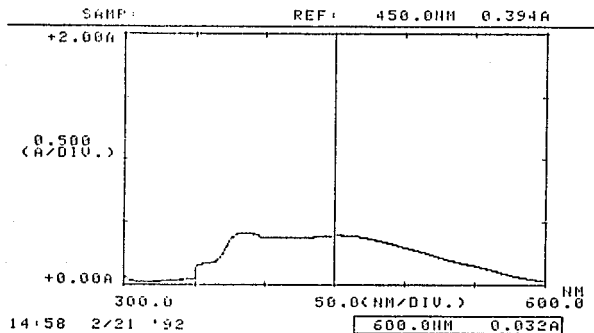
ESPECTROS OBTENIDOS DE LA TIAMINA VITAMINA B1



ESPECTROS OBTENIDOS DE LA CIANOCOBALAMINA VITAMINA B12



ESPECTROS OBTENIDOS DE LA PIRIDOXINA VITAMINA B6



CAPITULO 4

RESULTADOS

4.1 TABLA DE RESULTADOS DEL SISTEMA.

Criterios:

Linealidad.- r mayor que .99, r^2 mayor que .98, CV menor o igual que 1.5%.

Precisión.- CV menor o igual que 1.5%.

MUESTRA	LINEALIDAD	PRECISION
B1	$r = .99$ $r^2 = .98$ CV = .6572%	CV = .4493%
B6	$r = .9995$ $r^2 = .9991$ CV = 13.45%	CV = .296 %
B12	$r = .9946$ $r^2 = .9892$ CV = .526 %	CV = .2639%

4.2 LINEALIDAD DEL SISTEMA.

CLORHIDRATO DE TIAMINA

CONCENTRACION	ABSORBANCIA
$x_1 = .025$.234 - .235
$x_2 = .0375$.352 - .350
$x_3 = .05$.469 - .470
$x_4 = .0625$.580 - .587
$x_5 = .075$.704 - .705

El 100% de la dosis corresponde a x_3

$$t = 5$$

$$n = 2$$

Cálculos preliminares para el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación:

$$SX = 2(.025 + .0375 + .05 + .0625 + .075) = .5$$

$$SX^2 = 2(.025^2 + .0375^2 + .05^2 + .0625^2 + .075^2) = .028125$$

$$SY = .234 + .235 + .352 + .350 + .469 + .470 + .586 + .587 + .704 + .705 = 4.692$$

$$SY^2 = .234^2 + .235^2 + .352^2 + .350^2 + .469^2 + .470^2 + .586^2 + .587^2 + .704^2 + .705^2 = 2.477852$$

$$SXY = .025(.234 + .235) + .0375(.352 + .350) + .05(.469 + .470) + .0625(.586 + .587) + .075(.704 + .705) = .2639875$$

Cálculos finales para el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación:

$$r = \left[\frac{[(2)(5)(.2639875) - (.5)(4.692)]^2}{[(2)(5)(.028125) - (.5)^2] [(2)(5)(2.477852) - (4.692)^2]} \right]^{1/2}$$

$$r = .99$$

$$r^2 = .98$$

Cálculos preliminares para el coeficiente de variación:

$$F_1 = \frac{.234}{.025} = 9.36$$

$$F_2 = \frac{.235}{.025} = 9.4$$

$$F_3 = \frac{.352}{.0375} = 9.39$$

$$F_4 = \frac{.350}{.0375} = 9.33$$

$$F_5 = \frac{.469}{.05} = 9.38$$

$$F_6 = \frac{.470}{.05} = 9.4$$

$$F_7 = \frac{.586}{.0625} = 9.38$$

$$F_8 = \frac{.587}{.0625} = 9.4$$

$$F_9 = \frac{.704}{.075} = 9.39$$

$$F_{10} = \frac{.705}{.075} = 9.4$$

$$\begin{aligned} SF &= 9.36 + 9.4 + 9.39 + 9.33 + 9.38 + 9.4 + 9.38 + 9.4 + 9.39 + 9.4 \\ &= 93.83 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SF^2 &= 9.36^2 + 9.4^2 + 9.39^2 + 9.33^2 + 9.38^2 + 9.4^2 + 9.38^2 + 9.4^2 + \\ &9.39^2 + 9.4^2 = 880.4112 \end{aligned}$$

$$\bar{F} = \frac{93.83}{10} = 9.383$$

Cálculos finales para el coeficiente de variación:

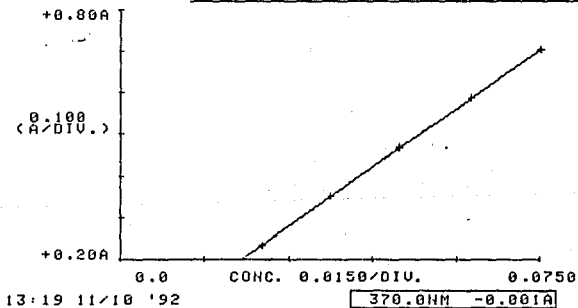
$$DE = \left[\frac{10(880.4112) - (93.83)^2}{10(10 - 1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = .0616712$$

$$CV = \frac{.0616712}{9.383} \times 100 = .6572\%$$

LINEALIDAD DEL SISTEMA:

TIAMINA VITAMINA B1

WORKING CURVE: $C = K \cdot ABS + B$ $K = 0.1063$ $B = 0.0001$ 

LINEALIDAD DEL SISTEMA

CLORHIDRATO DE PIRIDOXINA

CONCENTRACION	ABSORBANCIA
x = .050	.339 - .340
x = .075	.443 - .441
x = .1	.525 - .525
x = .125	.630 - .630
x = .15	.723 - .723

El 100% de la dosis corresponde a x_3

$$t = 5$$

$$n = 2$$

Cálculos preliminares para el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación:

$$SX = 2(.050 + .075 + .1 + .125 + .15) = 1$$

$$SX^2 = 2(.050^2 + .075^2 + .1^2 + .125^2 + .15^2) = .1125$$

$$SY = .339 + .340 + .443 + .441 + .525 + .525 + .630 + .630 + .723 + .723 = 5.32$$

$$SY^2 = .339^2 + .340^2 + .443^2 + .441^2 + .525^2 + .525^2 + .630^2 + .630^2 + .723^2 + .723^2 = 3.012809$$

$$SXY = .050(.339 + .340) + .075(.443 + .441) + .1(.525 + .525) + .125(.630 + .630) + .15(.723 + .723) = .57975$$

Cálculos finales para el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación:

$$r = \left[\frac{[(2)(5)(.57975) - (.1)(5.32)]^2}{[(2)(5)(.1125) - (1)^2] [(2)(5)(3.012809) - (5.32)^2]} \right]^{1/2}$$

$$r = .9995$$

$$r^2 = .9991$$

Cálculos preliminares para el coeficiente de variación:

$$F_1 = \frac{.339}{.050} = 6.78$$

$$F_2 = \frac{.340}{.050} = 6.8$$

$$F_3 = \frac{.443}{.075} = 5.90$$

$$F_4 = \frac{.441}{.075} = 5.88$$

$$F_5 = \frac{.525}{.1} = 5.25$$

$$F_6 = \frac{.525}{.1} = 5.25$$

$$F_7 = \frac{.630}{.125} = 5.04$$

$$F_8 = \frac{.630}{.125} = 5.04$$

$$F_9 = \frac{.723}{.15} = 4.82$$

$$F_{10} = \frac{.723}{.15} = 4.82$$

$$SF = 6.78 + 5.8 + 5.90 + 5.88 + 5.25 + 5.25 + 5.04 + 5.04 + 4.82 + 4.82 = 55.58$$

$$SF^2 = 6.78^2 + 6.8^2 + 5.90^2 + 5.88^2 + 5.25^2 + 5.25^2 + 5.04^2 + 5.04^2 + 4.82^2 + 4.82^2 + 313.9498$$

$$\bar{F} = \frac{55.58}{10} = 5.558$$

Cálculos finales para el coeficiente de variación:

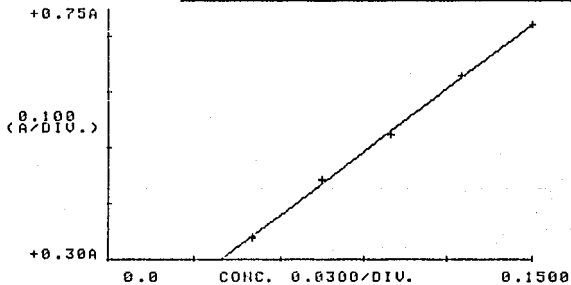
$$DE = \left[\frac{10(313.9498) - (55.58)^2}{10(10 - 1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = .75025$$

$$CV = \frac{.75025}{5.558} \times 100 = 13.45\%$$

LINEALIDAD DEL SISTEMA:

PIRIDOXINA VITAMINA B6

~~WORKING CURVE~~ $C = K \cdot ABS + B$ $K = 0.2616$ $B = -0.0391$ 

13:22 11/10 '92

450.0NM -0.000A

LINEALIDAD DEL SISTEMA

CIANOCOBALAMINA

CONCENTRACION	ABSORBANCIA
$x_1 = .01$.196 - .195
$x_2 = .015$.294 - .295
$x_3 = .02$.395 - .395
$x_4 = .025$.496 - .494
$x_5 = .03$.593 - .593

El 100% de la dosis corresponde a x_3

$t = 5$

$n = 2$

Cálculos preliminares para el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación:

$$SX = 2(.01 + .015 + .02 + .025 + .03) = .2$$

$$SX^2 = 2(.01^2 + .015^2 + .02^2 + .025^2 + .03^2) = .0045$$

$$SY = .196 + .195 + .294 + .295 + .395 + .395 + .496 + .494 + .593 + .593 = 3.946$$

$$SY^2 = .196^2 + .195^2 + .294^2 + .295^2 + .395^2 + .395^2 + .496^2 + .494^2 + .593^2 + .593^2 = 1.757302$$

$$SXY = .01(.196 + .195) + .015(.294 + .295) + .02(.395 + .395) + .025(.496 + .494) + .03(.593 + .593) = .088875$$

Cálculos finales para el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación:

$$r = \left[\frac{[(2)(5)(.088875) - (.2)(3.946)]^2}{[(2)(5)(.0045) - (.2)^2] [(2)(5)(1.757302) - (3.946)^2]} \right]^{1/2}$$

$$r = .9946$$

$$r^2 = .9892$$

Cálculos preliminares para el coeficiente de variación:

$$F_1 = \frac{.196}{.01} = 19.6$$

$$F_2 = \frac{.195}{.01} = 19.5$$

$$F_3 = \frac{.295}{.015} = 19.66$$

$$F_4 = \frac{.294}{.015} = 19.6$$

$$F_5 = \frac{.395}{.02} = 19.75$$

$$F_6 = \frac{.395}{.02} = 19.75$$

$$F_7 = \frac{.496}{.025} = 19.84$$

$$F_8 = \frac{.494}{.025} = 19.76$$

$$F_9 = \frac{.593}{.03} = 19.766$$

$$F_{10} = \frac{.593}{.03} = 19.766$$

$$SF = 19.6 + 19.5 + 19.66 + 19.6 + 19.75 + 19.75 + 19.84 + 19.76 + 19.766 + 19.766 = 196.992$$

$$SF^2 = 19.6^2 + 19.5^2 + 19.66^2 + 19.6^2 + 19.75^2 + 19.75^2 + 19.84^2 + 19.76^2 + 19.766^2 + 19.766^2 = 3880.6818$$

$$\bar{F} = \frac{196.992}{10} = 19.6992$$

Cálculos finales para el coeficiente de variación:

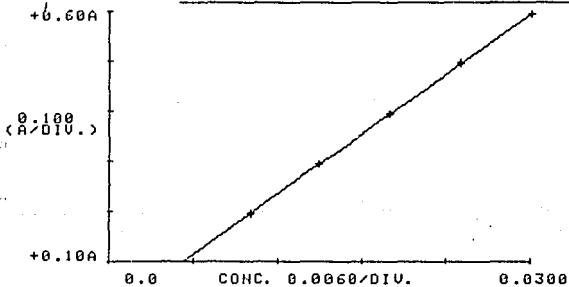
$$DE = \frac{10(3880.6818) - (196.992)^2}{10(10 - 1)}^{1/2}$$

$$DE = .103709$$

$$CV = \frac{.103709}{19.6992} \times 100 = .526\%$$

LINEALIDAD DEL SISTEMA:

CIANOCOBALAMINA VITAMINA B12

WORKING CURVE $C=K*ABS+B$ $K=0.0502$ $B=0.0002$ 

4.3 PRECISION DEL SISTEMA

CLORHIDRATO DE TIAMINA

Se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100% establecido en la linealidad del sistema, por el mismo analista en las mismas condiciones de trabajo.

Resultado de las absorbancias:

$$.463, .464, .467, .466, .468, .469$$

$$N = 6$$

Cálculos preliminares:

$$SY = .463 + .464 + .467 + .466 + .468 + .469 = 2.795$$

$$SY^2 = .463^2 + .464^2 + .467^2 + .466^2 + .468^2 + .469^2 = 1.30389$$

$$\bar{y} = \frac{2.797}{6} = .4658$$

$$DE = \left[\frac{6(1.30389) - (2.797)^2}{6(6 - 1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = .0020896$$

Cálculos finales para coeficiente de variación:

$$CV = \frac{.0020896}{.4658} \times 100$$

$$CV = .4493\%$$

PRECISION DEL SISTEMA

CLORHIDRATO DE PIRIDOXINA

Se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100% establecido en la linealidad del sistema, por el mismo analista en las mismas condiciones de trabajo.

Resultado de las absorbancias:

.393, .394, .396, .396, .395, .395

N = 6

Cálculos preliminares:

$$SY = .393 + .394 + .396 + .396 + .395 + .395 = 2.369$$

$$SY^2 = .393^2 + .394^2 + .396^2 + .396^2 + .395^2 + .395^2 = .935367$$

$$\bar{y} = \frac{2.369}{6} = .39483$$

$$DE = \left[\frac{6(.935367) - (2.369)^2}{6(6 - 1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = .001169$$

Cálculos finales para coeficiente de variación:

$$CV = \frac{.001169}{.39483} \times 100$$

$$CV = .296\%$$

PRECISION DEL SISTEMA

CIANOCOBALAMINA

Se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100% establecido en la linealidad del sistema, por el mismo analista en las mismas condiciones de trabajo.

Resultado de las absorbancias:

$$.391, .391, .390, .391, .393, .392$$

$$N = 6$$

Cálculos preliminares:

$$SY = .391 + .391 + .390 + .391 + .393 + .392 = 2.348$$

$$SY^2 = .391^2 + .391^2 + .390^2 + .391^2 + .393^2 + .392^2 = .918856$$

$$\bar{y} = \frac{2.348}{6} = .39133$$

$$DE = \left[\frac{6(.918856) - (2.348)^2}{6(6 - 1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = .0010328$$

Cálculos finales para coeficiente de variación:

$$CV = \frac{.0010328}{.39133} \times 100$$

$$CV = .2639\%$$

4.4 TABLA DE RESULTADOS DEL METODO

Criterios:

Linealidad: $m = 1$, $b = 0$, r^2 mayor que .98.

Exactitud y Repetibilidad al 100%: Promedio de recobro = 97-103%
CV menor o igual a 3%

Precisión: CV menor o igual a 3%.

MUESTRA	LINEALIDAD	EXACTITUD Y REPETIBILIDAD	PRECISION
B ₁	$m = 1.00$	Promedio de	
	$b = -4.61$	recobro = 95.133	CV = 1.88%
	$r^2 = .9990$	CV = 2.25%	
B ₆	$m = .9$		
	$b = 10.87$	101.383	CV = 6.17%
	$r^2 = .9948$	CV = 3.0%	
B ₁₂	$m = 1.0245$		
	$b = .55$	103.0	CV = .080%
	$r^2 = .9955$	CV = .9369%	

4.5 LINEALIDAD DEL METODO

CLORHIDRATO DE TIAMINA

CANTIDAD ADICIONADA	CANTIDAD RECUPERADA
x = 75	69.61, 70.05, 69.83
x = 100	96.27, 96.04, 96.16
x = 125	119.61, 120.71, 120.16

Cálculos preliminares:

$$SX = 3(75 + 100 + 125) = 900$$

$$SX^2 = 3(75^2 + 100^2 + 125^2) = 93750$$

$$SY = 69.61 + 70.05 + 69.83 + 96.27 + 96.04 + 96.16 + 119.61 + 120.71 + 120.16 = 858.44$$

$$SY^2 = 69.61^2 + 70.05^2 + 69.83^2 + 96.27^2 + 96.04^2 + 96.16^2 + 119.61^2 + 120.71^2 + 120.16^2 = 85683.0054$$

$$SXY = 75(69.61 + 70.05 + 69.83) + 100(96.27 + 96.04 + 96.16) + 125(119.61 + 120.71 + 120.16) = 89618.75$$

$$m = \frac{(3)(3)(89618.75) - (900)(858.44)}{(3)(3)(93750) - (900)^2}$$

$$m = 1.00$$

$$b = \frac{858.44 - 1.00(900)}{9}$$

$$b = 04.61$$

$$r^2 = \frac{|(3)(3)(89618.75) - (900)(858.44)|^2}{|(3)(3)(93750) - (900)^2| |(3)(3)(85683.005) - (858.44)^2|}$$

$$r^2 = .9990$$

Por ciento recuperado:

Cálculo del por ciento recuperado, para cada cantidad recuperada.

$$R_1 = \frac{69.61}{75} \times 100 = 92.813$$

$$R_2 = \frac{70.05}{75} \times 100 = 93.4$$

$$R_3 = \frac{69.83}{75} \times 100 = 93.133$$

$$R_4 = \frac{96.27}{75} \times 100 = 96.27$$

$$R_5 = \frac{96.04}{100} \times 100 = 96.04$$

$$R_6 = \frac{96.16}{100} \times 100 = 96.16$$

$$R_7 = \frac{119.61}{125} \times 100 = 95.688$$

$$R_8 = \frac{120.71}{125} \times 100 = 96.568$$

$$R_9 = \frac{120.16}{125} \times 100 = 96.128$$

$$SR = 856.2$$

$$SR^2 = 81489.9436$$

$$\bar{R} = \frac{856.2}{9} = 95.133$$

$$DE = \left[\frac{(3)(3)(81489.9436) - (856.2)^2}{9(9-1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = 2.14428$$

Cálculos finales para coeficiente de variación:

$$CV = \frac{2.14428}{95.133} \times 100 = 2.25\%$$

LINEALIDAD DEL METODO

CLORHIDRATO DE PIRIDOXINA

CANTIDAD ADICIONADA

$x = 75$

$x = 100$

$x = 125$

CANTIDAD RECUPERADA

79.03, 79.17, 79.89

99.16, 99.56, 99.96

122.05, 125.99, 124.02

Cálculos preliminares:

$-SX = 3(75 + 100 + 125) = 900$

$SX^2 = 3(75^2 + 100^2 + 125^2) = 93750$

$SY = 79.03 + 79.17 + 78.89 + 99.16 + 99.56 + 99.96 + 122.05 + 125.99 + 124.02 = 907.83$

$SY^2 = 79.03^2 + 79.17^2 + 78.89^2 + 99.16^2 + 99.56^2 + 99.96^2 + 122.05^2 + 125.99^2 + 124.02^2 = 94624.841$

$SXY = 75(79.03 + 79.17 + 78.89) + 100(99.16 + 99.56 + 99.96) + 125(122.05 + 125.99 + 124.02) = 94157.25$

Cálculos finales:

$$m = \frac{(3)(3)(94157.25) - (900)(907.83)}{(3)(3)(93750) - (900)^2}$$

$m = .9$

$$b = \frac{907.83 - .9(900)}{(3)(3)}$$

$b = 10.87$

$$r^2 = \frac{|(3)(3)(94157.25) - (900)(907.83)|^2}{|(3)(3)(93750) - (900)^2| \cdot |(3)(3)(94624.841) - (907.83)^2|}$$

$r^2 = .9948$

Porcentaje recuperado:

Cálculo del porcentaje recuperado, para cada cantidad recuperada.

$$R_1 = \frac{79.03}{75} \times 100 = 105.37$$

$$R_2 = \frac{79.17}{75} \times 100 = 105.56$$

$$R_3 = \frac{78.89}{75} \times 100 = 105.19$$

$$R_4 = \frac{99.16}{75} \times 100 = 99.16$$

$$R_5 = \frac{99.56}{100} \times 100 = 99.56$$

$$R_6 = \frac{99.96}{100} \times 100 = 99.96$$

$$R_7 = \frac{122.05}{125} \times 100 = 97.64$$

$$R_8 = \frac{125.02}{125} \times 100 = 100.792$$

$$R_9 = \frac{124.02}{125} \times 100 = 99.216$$

$$SR = 912.446$$

$$SR^2 = 92583.9927$$

$$\bar{R} = \frac{912.446}{9} = 101.383$$

$$DE = \left[\frac{(3)(3)(92583.9927) - (912.446)^2}{9(9-1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = 3.11411$$

Cálculos finales para coeficiente de variación:

$$CV = \frac{3.11411}{101.383} \times 100 = 3.0\%$$

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

LINEALIDAD DEL METODO

CIAHOCOBALAMINA

CANTIDAD ADICIONADA	CANTIDAD RECUPERADA
$x_1 = 75$	76.53, 77.05, 76.79
$x_2 = 100$	104.58, 103.86, 104.22
$x_3 = 125$	127.53, 128.50, 128.015

Cálculos preliminares:

$$SX = 3(75 + 100 + 125) = 900$$

$$SX^2 = 3(75^2 + 100^2 + 125^2) = 93750$$

$$SY = 76.53 + 77.05 + 76.79 + 104.58 + 103.86 + 104.22 + 127.53 + 128.50 + 128.015 = 927.075$$

$$SY^2 = 76.53^2 + 77.05^2 + 76.79^2 + 104.58^2 + 103.86^2 + 104.22^2 + 127.53^2 + 128.50^2 + 128.015^2 = 99439.92305$$

$$SXY = 75(76.53 + 77.05 + 76.79) + 100.(103.86 + 104.2 + 104.58) + 125(127.53 + 128.50 + 128.015) = 96549.375$$

Cálculos finales:

$$m = \frac{(3)(3)(96549.375) - (900)(927.075)}{(3)(3)(93750) - (900)^2}$$

$$m = 1.0245$$

$$b = \frac{927.075 - 1.0245(900)}{(3)(3)}$$

$$b = .55$$

$$r^2 = \frac{|(3)(3)(96549.375) - (900)(927.075)|^2}{|(3)(3)(93750) - (900)^2| |(3)(3)(99439.92305) - (927.075)^2|}$$

$$r^2 = .9955$$

Porcentaje recuperado:

Cálculo del porcentaje recuperado, para cada cantidad recuperada.

$$R_1 = \frac{76.53}{75} \times 100 = 102.04$$

$$R_2 = \frac{77.05}{75} \times 100 = 102.75$$

$$R_3 = \frac{76.79}{75} \times 100 = 102.38$$

$$R_4 = \frac{104.58}{100} \times 100 = 104.58$$

$$R_5 = \frac{103.86}{100} \times 100 = 103.86$$

$$R_6 = \frac{104.22}{100} \times 100 = 104.22$$

$$R_7 = \frac{127.53}{125} \times 100 = 102.02$$

$$R_8 = \frac{128.50}{125} \times 100 = 102.8$$

$$R_9 = \frac{128.015}{125} \times 100 = 102.41$$

$$SR = 927.04$$

$$SR^2 = 95496.69$$

$$\bar{R} = \frac{927.04}{9} = 103.00$$

$$DE = \left[\frac{(3)(3)(95496.69) - (927.04)^2}{9(9-1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = .965013$$

Cálculos finales para coeficiente de variación:

$$CV = \frac{.965013}{103.0} \times 100 = .9369\%$$

4.6 PRECISION: REPRODUCIBILIDAD

CLORHIDRATO DE TIAMINA

Se llevó a cabo por un analista, en dos días diferentes y por triplica do para cada muestra.

		ANALISTA
		99.61
	1	100.21
		99.41
DIA		
		100.61
	2	103.02
		103.829

Cálculos preliminares:

$$SY = 99.61 + 100.21 + 99.41 + 100.61 + 103.02 + 103.829 = 606.68$$

$$SY^2 = 99.61^2 + 100.21^2 + 99.41^2 + 100.61^2 + 103.02^2 + 103.829^2$$

$$= 61362.499$$

$$\bar{Y} = \frac{606.69}{6} = 101.113$$

$$DE = \left[\frac{6(61362.499) - (606.68)^2}{6(6-1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = 1.9006$$

$$N = 6$$

Cálculos finales:

Coefficiente de variación.

$$CV = \frac{1.9006}{101.113} \times 100$$

$$CV = 1.88\%$$

Como CV es menor que 3% se cumple con el criterio para precisión (Re--
producibilidad).

PRECISION: REPRODUCIBILIDAD

CLORHIDRATO DE PIRIDOXINA

Se llevó a cabo por un analista, en dos días diferentes y por triplicado cada muestra.

DIA		ANALISTA
1		105.46
		104.42
		104.94
2		104.94
		105.2
		105.46

Cálculos preliminares:

$$SY = 105.46 + 104.42 + 104.94 + 104.94 + 105.2 + 105.46 = 630.42$$

$$SY^2 = 105.46^2 + 104.42^2 + 104.94^2 + 104.94^2 + 105.2^2 + 105.46^2 = 66448.844$$

$$\bar{Y} = \frac{630.42}{6} = 105.07$$

$$DE = \left[\frac{6(66448.844) - (630.42)^2}{6(6-1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = 6.490$$

$$N = 6$$

Cálculos finales:

Coefficiente de variación.

$$CV = \frac{6.490}{105.09} \times 100$$

$$CV = 6.17\%$$

Como CV es mayor que 3% no se cumple con el criterio para precisión -- (Reproducibilidad).

PRECISION: REPRODUCIBILIDAD

CIANOCOBALAMINA

Se llevó a cabo por un analista, en dos días diferentes y por triplicado cada muestra.

		ANALISTA
DIA	1	101.8
		101.8
		101.8
	2	101.8
		101.8
		102.0

Cálculos preliminares:

$$SY = 101.8 + 101.8 + 101.8 + 101.8 + 101.8 + 102.0 = 611$$

$$SY^2 = 101.8^2 + 101.8^2 + 101.8^2 + 101.8^2 + 101.8^2 + 102.0^2 = 622202$$

$$\bar{Y} = \frac{611}{6} = 101.833$$

$$DE = \left[\frac{6(622202) - (611)^2}{6(6 - 1)} \right]^{1/2}$$

$$DE = .081650$$

$$N = 6$$

Cálculos finales:

Coefficiente de variación.

$$CV = \frac{.081650}{101.833} \times 100$$

$$CV = .080\%$$

Como CV es menor que 3% se cumple con el criterio para precisión (Reproducibilidad).

CAPITULO 5

CONCLUSIONES

- 1.- De los resultados obtenidos se concluye que el método analítico es bueno para B1 y B12 tanto en las pruebas para el Sistema como para el método, los resultados están dentro del criterio establecido.
- 2.- Para la B6 el método analítico no es aplicable, los resultados salen fuera de criterios.
- 3.- Como el análisis de Producto Terminado debe considerar todos y cada uno de los principios activos debe desarrollarse un nuevo método o validarse los ya existentes (CLAR) que aunque requieren equipo especial se reduce en mejor y más rápido control.

CAPITULO 6

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

- 1.- Rolf Strohecker.; Heinz M. Henning. ANALISIS DE VITAMINAS. Ed. -- Paz Moltalvo, Madrid. 1967.
- 2.- José Helman.; FARMACOTECHIA, TEORIA Y PRACTICA. Ed. C.E.C.S.A.; - Tercera Edición; México. 1982.
- 3.- Bowman.; Rand.; FARMACOLOGIA, BASES BIOQUIMICAS Y PATOLOGICAS.; -- Ed. Interamericana.; Segunda Edición.; México. 1984.
- 4.- Louis S. Goodman.; Alfred G. Gilman.; BASES FARMACOLOGICAS DE LA- TERAPEUTICA.; Ed. Interamericana.; Quinta Edición.; New York. -- 1971.
- 5.- Auram Goldstein.; Lewis Aronow Sumner M. Kalman.; FARMACOLOGIA.;- Ed. Interamericana.; Primera Edición.; México. 1979.
- 6.- Douglas A. Skoog.; Donald M. West.; ANALISIS INSTRUMENTAL.; Ed. - Interamericana.; Primera Edición.; México. 1975.
- 7.- Kenneth A. Connors; ANALISIS FARMACEUTICO.; Ed. Reverté, S.A.; - Segunda Edición.; España. 1981.
- 8.- FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS.; Quinta Edición.; -- México. 1988.
- 9.- Comité de Elaboración de Guías Oficiales.; VALIDACION DE METODOS- ANALITICOS.; Secretaría de Salubridad y Asistencia.