



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

---

FACULTAD DE QUIMICA

OPTIMIZACION DE UN METODO POR  
CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA  
RESOLUCION PARA LA PRUEBA DE DISOLUCION Y  
VALORACION DE LORATADINA Y CLORHIDRATO DE  
AMBROXOL EN TABLETAS Y SOLUCION

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A:  
MARIA DEL CARMEN GARIBAY ROMERO



MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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

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

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

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

## INDICE

|               |  |    |
|---------------|--|----|
| CAPITULO I.   | INTRODUCCION.....  | 1  |
| CAPITULO II.  | GENERALIDADES.....   | 4  |
|               | 2.1. Monografía de loratadina.....   | 5  |
|               | 2.2. Monografía de clorhidrato de ambroxol.....  | 6  |
|               | 2.3. Validación de métodos analíticos.....   | 8  |
|               | 2.3.1. Linealidad.....   | 8  |
|               | 2.3.2. Exactitud.....  | 9  |
|               | 2.3.3. Precisión.....  | 9  |
|               | 2.3.4. Reproducibilidad.....   | 9  |
|               | 2.3.5. Especificidad.....  | 10 |
|               | 2.3.6. Estabilidad de la muestra.....  | 10 |
|               | 2.3.7. Tolerancia.....   | 10 |
|               | 2.4. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución....  | 12 |
|               | 2.4.1. Tipos de cromatografía.....   | 12 |
|               | 2.4.2. Componentes de un cromatógrafo de líquidos.....   | 14 |
|               | 2.4.3. Ventajas y limitaciones.....  | 15 |
|               | 2.4.4. Parámetros cromatográficos.....   | 15 |
|               | 2.5. Disolución.....   | 17 |
|               | 2.5.1. Prueba de Disolución.....   | 19 |
|               | 2.5.2. Aplicación de CLAR en la Prueba de Disolución...  | 22 |
| CAPITULO III. | PORTE EXPERIMENTAL.....  | 24 |
|               | 3.1. Metodología analítica para cuantificar loratadina<br>y clorhidrato de ambroxol en solución..... | 25 |
|               | 3.1.1. Sistema cromatográfico.....   | 25 |
|               | 3.1.2. Reactivos y Soluciones de Referencia.....   | 26 |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.1.3. Procedimiento.....  | 27        |
| 3.1.4. Cálculos.....   | 27        |
| 3.2. Metodología analítica para cuantificar loratadina y clorhidrato de ambroxol en tabletas.....                              | 30        |
| 3.2.1. Sistema cromatográfico.....   | 30        |
| 3.2.2. Reactivos y Soluciones de Referencia.....   | 30        |
| 3.2.3. Procedimiento.....  | 30        |
| 3.2.4. Cálculos.....   | 31        |
| 3.3. Metodología analítica para llevar a cabo la Prueba de Disolución en tabletas de loratadina y clorhidrato de ambroxol..... | 34        |
| 3.3.1. Aparato.....  | 34        |
| 3.3.2. Sistema cromatográfico.....   | 34        |
| 3.3.3. Reactivos y Soluciones de Referencia.....   | 34        |
| 3.3.4. Procedimiento.....  | 35        |
| 3.3.5. Cálculos.....   | 36        |
| 3.4. Parámetros de la validación a evaluar.....  | 38        |
| 3.4.1. Especificidad.....  | 38        |
| 3.4.2. Tolerancia.....   | 39        |
| 3.4.3. Linealidad del sistema.....   | 39        |
| 3.4.4. Precisión del sistema.....  | 40        |
| 3.4.5. Exactitud del método.....   | 40        |
| 3.4.6. Reproducibilidad del método.....  | 41        |
| 3.4.7. Linealidad de la muestra.....   | 42        |
| 3.4.8. Estabilidad de la muestra.....  | 42        |
| <b>CAPITULO IV. RESULTADOS.....</b>  | <b>44</b> |
| 4.1. Validación del método de valoración de loratadina   |           |

|  |    |
|--|----|
| y clorhidrato de ambroxol en solución.....   | 45 |
| 4.1.1. Especificidad.....  | 45 |
| 4.1.2. Tolerancia.....   | 53 |
| 4.1.3. Linealidad del sistema.....   | 55 |
| 4.1.4. Precisión del sistema.....  | 58 |
| 4.1.5. Exactitud del método.....   | 59 |
| 4.1.6. Reproducibilidad del método.....  | 62 |
| 4.1.7. Linealidad de la muestra.....   | 64 |
| 4.1.8. Estabilidad de la muestra.....  | 65 |
| 4.2. Validación del método de valoración de loratadina<br>y clorhidrato de ambroxol en tabletas.....   | 66 |
| 4.2.1. Especificidad.....  | 66 |
| 4.2.2. Exactitud del método.....   | 74 |
| 4.2.3. Reproducibilidad del método.....  | 77 |
| 4.2.4. Linealidad de la muestra.....   | 79 |
| 4.2.5. Estabilidad de la muestra.....  | 80 |
| 4.3. Validación de la prueba de disolución de tabletas<br>de loratadina y clorhidrato de ambroxol..... | 81 |
| 4.3.1. Linealidad del sistema.....   | 81 |
| 4.3.2. Precisión del sistema.....  | 84 |
| 4.3.3. Exactitud del método.....   | 85 |
| 4.3.4. Estabilidad de la muestra.....  | 88 |
| CAPITULO V. CONCLUSIONES.....  | 89 |
| CAPITULO VI. BIBLIOGRAFIA.....   | 93 |

## **CAPITULO I**

# ***INTRODUCCION***

Como resultado de la tendencia hacia la Calidad Total, en los últimos años la industria farmacéutica ha sufrido una importante transformación debido principalmente a la creciente demanda de nuevos y mejores medicamentos y a las exigencias de las oficinas gubernamentales en relación a los controles que deben llevarse a cabo durante la fabricación y el análisis de los medicamentos con objeto de tener en el mercado formulaciones que cumplan con el propósito para el cual fueron diseñadas y que no existan variaciones de lote a lote del mismo producto.

Es por ello que debe tenerse un perfecto control sobre todos los parámetros involucrados en la fabricación de un medicamento, partiendo desde el diseño, la etapa de desarrollo y la validación de procesos. Esta última involucra varios aspectos como son: documentación, calificación y certificación de personal, calibración de instrumentos, técnicas analíticas validadas y certificación de instalaciones, equipos, servicios y proveedores<sup>1</sup>. El presente trabajo sólo toca una pequeña parte de todo el engranaje involucrado en la producción de un medicamento de calidad: la validación de un método analítico.

En particular se trata de la revalidación del método para cuantificar loratadina y clorhidrato de ambroxol por la técnica de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) en dos formas farmacéuticas: solución y tabletas. Se habla de revalidación ya que el método se encuentra validado, pero utiliza como patrón interno una molécula muy poco accesible, por eso como parte de un proceso de calidad total y eficiencia se hace necesario buscar otra

sustancia y optimizar las condiciones para que el método propuesto siga siendo exacto, lineal, preciso, específico, reproducible y con una metodología eficiente y sencilla.

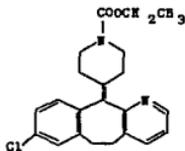
Además este trabajo pretende optimizar la Prueba de Disolución, cuyo análisis se realiza espectrofotométricamente por análisis de multicomponentes, y ahora se propone realizarlo por CLAR. Obteniendo ventajas al efectuar la valoración y la prueba de disolución en el mismo equipo, con el mismo sistema; teniendo mayor sensibilidad, especificidad y eficiencia para la prueba.

## **CAPITULO II**

# ***GENERALIDADES***

## 2.1 Monografía de Loratadina.

- Nombres químicos: Ester etílico del ácido 4-(8-cloro-5,6-dihidro-11H-benzo-[5,6]ciclohepta[1,2-b]piridin-11-ilideno) - 1-piperidincarboxílico<sup>2,3</sup>. 11-[N-(carboetoxi)-4-piperidilideno]-8-cloro-6,11-dihidro-5H-benzo[5,6]ciclohepta[1,2-b]piridina<sup>2,4</sup>.
- Nombre genérico: Loratadina
- Fórmula condensada:  $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$  <sup>2,3,4</sup>.
- Fórmula desarrollada:



- Peso molecular: 382.89 <sup>2,3,4</sup>.
- Descripción: Polvo amorfo de color blanco o blancuzco, inodoro.
- Solubilidad: Muy soluble en agua e hidróxido de sodio 0.1N, soluble en ácido clorhídrico 0.1N, poco soluble en acetona, cloroformo, etanol y metanol.
- Punto de fusión: 132-137°C<sup>2,3,4</sup>.
- Espectro ultravioleta:

| Longitud de onda máxima | Disolvente        |
|-------------------------|-------------------|
| 246nm                   | metanol           |
| 274nm                   | HCl 0.1N/metanol  |
| 246nm                   | NaOH 0.1N/metanol |

- **Espectro infrarrojo:** La dispersión de loratadina en aceite mineral presenta bandas a 1705, 1590, 1580, 1560, 1230, 830, 780 y 765  $\text{cm}^{-1}$ .

- **Nombres registrados:** Clantin, Claritin, Clarityne, etc.<sup>2,3</sup>

- **Acción:** Es un antihistamínico tricíclico potente de acción prolongada, con actividad selectiva, antagónica a los receptores H1 periféricos, no sedante<sup>2,3,4,5</sup>.

- **Usos:** La loratadina está indicada para el alivio de los síntomas asociados con rinitis alérgica, como estornudos, secreción nasal (rinoxrea), prurito y ardor oculares. También está indicado para el alivio de los síntomas y señales de urticaria crónica y otras afecciones dermatológicas alérgicas<sup>5</sup>.

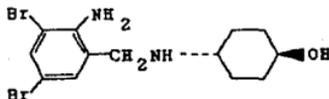
## 2.2 Monografía de Ambroxol.

- **Nombres químicos:** 4-[[[(2-amino-3,5-dibromofenil)-metil] amino]ciclohexanol]<sup>2,4</sup>. N-(trans-p-hidroxíciclohexil)-(2-amino-3,5-dibromobencil)amina<sup>2</sup>. trans-4-(2-amino-3,5-dibromobencil-amino)ciclohexanol<sup>3</sup>.

- **Nombre genérico:** Ambroxol.

- **Fórmula condensada:**  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}$ <sup>2,3,4</sup>.

- **Fórmula desarrollada:**



- Peso molecular: 378.11 <sup>2,3,4</sup>.

**Clorhidrato de Ambroxol.**

- Fórmula condensada:  $C_{13}H_{19}Br_2ClN_2O^2$ .

- Solubilidad: Fácilmente soluble en ácido clorhídrico 0.1N, agua, metanol y etanol; casi insoluble en hidróxido de sodio 0.1N.

- Punto de fusión: 228-229°C<sup>2,3</sup>.

- Espectro ultravioleta:

| Longitud de onda máxima | Disolvente |
|-------------------------|------------|
| 243nm                   | HCl 0.1N   |
| 247nm                   | metanol    |
| 243nm                   |            |
| 242nm                   | agua       |

- Nombres registrados: Bronchopront, Duramucal, Fluibron, Fluixol, Frenopect, Lindoxyl, Muco-Burg, Mucosolvan, Muco-clear, Mucovent, Surbronc, Surfactal, etc.<sup>2,3,4</sup>.

- Usos: El clorhidrato de ambroxol está indicado en todo tipo de procesos broncopulmonares que cursan con aumento de la viscosidad y adherencia del moco, en los que es necesario mantener libre de secreciones el aparato respiratorio: bronquitis aguda, crónica, asmátiforme, espasmódica, asma bronquial, rinitis, sinusitis, otitis media, neumonía, bronconeumonía, traqueotomía y pre y postoperatorio, particularmente en cirugía geriátrica<sup>5</sup>.

### 2.3 Validación de métodos analíticos<sup>6,7,8</sup>.

Hoy día uno de los principales objetivos de la industria farmacéutica, es asegurar un adecuado control de la calidad tanto de la materia prima, producto en proceso, como del producto terminado. Es por esto que la validación ha tomado gran importancia en estas áreas.

La validación del método puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. Las características de capacidad se expresan en términos de parámetros analíticos que al ser evaluados a través de un análisis estadístico, permiten demostrar la confiabilidad del método analítico y que éste cumple con su propósito.

#### 2.3.1 Linealidad.

Es la 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 rango determinado.

La linealidad de un método se evalúa por el coeficiente de variación (CV) de los porcentajes recuperados, coeficiente de correlación ( $r$ ), coeficiente de determinación ( $r^2$ ), pendiente de la curva ( $m$ ) e intercepto de la curva con el eje de las ordenadas ( $b$ ).

### **2.3.2 Exactitud.**

Es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor aceptado como referencia.

Generalmente se evalúa por la media de los valores recuperados con referencia a los teóricos o adicionados, así como su intervalo de confianza.

### **2.3.3 Precisión.**

Es el grado de concordancia entre los valores de los resultados de mediciones experimentales sucesivas, que se obtienen bajo las mismas condiciones (repetibilidad) y/o bajo diferentes condiciones de trabajo (reproducibilidad).

Se evalúa por medio del coeficiente de variación (CV).

### **2.3.4 Reproducibilidad.**

Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas ya sea por diferentes analistas, en distintos días, en el mismo y/o diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos.

La reproducibilidad se evalúa por medio del coeficiente de variación (CV) o bien por un análisis de varianza (ANALISIS DE DEVA) para conocer las interacciones entre analistas, días y analista-día.

### **2.3.5 Especificidad.**

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

### **2.3.6 Estabilidad de la muestra.**

Es la propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de la sustancia de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas como: temperatura ambiente y/o refrigeración, presencia y/o ausencia de luz, etc.

Para asegurar la integridad de la muestra, es necesario evaluar la variación obtenida entre el análisis inicial y el análisis a cierto tiempo bajo determinada condición.

### **2.3.7 Tolerancia.**

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. Para el caso de CLAR este parámetro determina como se afecta la separación cuando se varía una condición de operación determinante como puede ser: modificar la composición de la fase móvil, utilizar una columna nueva o una usada, cambiar

la velocidad de flujo o el pH de la fase móvil, etc.

Para el cálculo de los parámetros estadísticos mencionados para efectuar la validación de un método analítico se emplean las siguientes fórmulas:

$$\bar{y} = \frac{\Sigma(y)}{n}$$

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

$$b = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{n}$$

$$r = \sqrt{\frac{[n(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[n(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][n(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]}}$$

$$DE = \sqrt{\frac{\Sigma(y - \bar{y})^2}{n - 1}}$$

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

Donde:

$\bar{y}$  = media aritmética

m = pendiente

b = ordenada al origen

r = coeficiente de correlación

DE = desviación estándar

CV = coeficiente de variación

$\Sigma$  = sumatoria

y = propiedad medida o cantidad recuperada

x = dilución o cantidad adicionada

n = número de replicaciones

#### 2.4 Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).

La cromatografía es una técnica que permite separar, aislar e identificar los componentes de una mezcla de compuestos químicos. La muestra es distribuida entre dos fases, una estacionaria y otra móvil, de tal forma que cada uno de los componentes de la mezcla es selectivamente retenido por la fase estacionaria<sup>9</sup>.

El proceso cromatográfico tiene lugar como resultado de repetidas absorciones o repartos durante el movimiento de los componentes de la muestra a lo largo del lecho estacionario, alcanzándose la separación gracias a las diferencias en los coeficientes de distribución de los distintos componentes de la muestra<sup>10</sup>.

##### 2.4.1 Tipos de cromatografía <sup>9,10,11,12</sup>.

Según el tipo de interacción existente entre los solutos a separar y el lecho cromatográfico, podemos clasificar los procesos en:

- a) Cromatografía de Adsorción: la fase estacionaria es un adsorbente y la separación se basa en repetidas etapas de adsorción-desorción.
- b) Cromatografía de Partición: la separación no se basa en la

adsorción, sino en una verdadera partición entre la fase móvil y la fase estacionaria.

- c) **Cromatografía de Intercambio Iónico:** el lecho estacionario tiene una superficie cargada iónicamente con carga contraria a la de la muestra.
- d) **Cromatografía de Exclusión:** se rellena la columna con un material con el cual la muestra es retenida o filtrada según sea el tamaño molecular.
- e) **Cromatografía de Fase Químicamente Unida:** si se varía la naturaleza de los grupos funcionales de la fase estacionaria es posible obtener diferentes tipos de selectividad. Dichos grupos pueden ser de naturaleza polar, como el grupo amino ( $-NH_2$ ) y el grupo ciano ( $-CN$ ) en el caso de la cromatografía de fase normal, o bien no polar como el grupo octilo ( $C_8H_{17}$ ), octadecilo ( $C_{18}H_{37}$ ), fenilo ( $C_6H_5$ ), etc., en el caso de la cromatografía de fase inversa.

Otra forma de clasificar a la cromatografía líquida es de acuerdo a la polaridad relativa de las dos fases:

- a) **Cromatografía en Fase Normal:** el lecho estacionario es de naturaleza fuertemente polar (sílica) y la fase móvil es apolar (n-hexano o tetrahidrofurano). Las muestras polares quedan retenidas en la columna durante tiempos mayores que los materiales menos polares o apolares.
- b) **Cromatografía en Fase Inversa:** el lecho estacionario es de naturaleza apolar (hidrocarburo), mientras que la fase móvil es un líquido polar, normalmente agua o un alcohol.

En cuanto más apolar sea la muestra, mayor será la retención.

#### 2.4.2 Componentes de un cromatógrafo de líquidos <sup>9,10,11</sup>.

Los componentes esenciales encontrados en un instrumento de CLAR incluyen: una bomba, inyector, columna, detector y registrador.

La columna está considerada como el corazón del sistema, la cual se encuentra rellena de fase estacionaria compuesta por partículas en la escala de micras. Es necesaria una bomba de alta presión para impulsar la fase móvil a través de la columna. El proceso cromatográfico empieza por la inyección de la muestra en la columna. La separación ocurre al bombear la fase móvil y la muestra a través de la columna, cada compuesto que eluye de la columna es detectado ya sea por un detector universal o selectivo, dependiendo de las propiedades de los componentes a medir. La respuesta del detector a la presencia de cada componente es manifestada en una carta graficadora como un cromatograma. La señal producida por el detector se manifestará en forma de picos (Gaussianos) representando la concentración de los componentes eluidos. La calidad de la separación cromatográfica puede ser determinada matemáticamente obteniendo los valores de eficiencia, selectividad y resolución de los resultados cromatográficos, según se explica en el inciso 2.4.4.

### 2.4.3 Ventajas y limitaciones <sup>9,10</sup>.

**Ventajas:** Rapidez, alta resolución, buena sensibilidad, resultados cuantitativos, automatización, columnas reutilizables, ideal para moléculas grandes y especies iónicas.

**Limitaciones:** Instrumentación costosa, difícil el análisis cualitativo, no existe detector universal y suficientemente sensible, elevado costo de operación, experiencia indispensable.

### 2.4.4 Parámetros cromatográficos <sup>9,10,13,14</sup>.

La cromatografía líquida tiene algunos términos y ecuaciones, las cuales cuantitativamente y cualitativamente describen el comportamiento de los componentes individuales.

a) Tiempo muerto ( $t_0$ ). Es el tiempo necesario para eluir una muestra no retenida por el sistema y se determina midiendo el tiempo de retención de la fase móvil misma, en su viaje a través de la columna.

b) Tiempo de retención ( $t_r$ ). Es el tiempo que la muestra permanece dentro de la columna, y se mide desde el momento en que la muestra se introduce en el sistema, hasta el momento en que se obtiene el punto máximo de la señal o pico. El tiempo de retención es característico de la muestra, la columna, la fase móvil y la temperatura. Por lo general se emplea como medida de tipo cualitativo y se expresa en unidades de tiempo.

c) Número de platos teóricos (N). Un plato teórico, es el equilibrio de distribución de la muestra entre la fase móvil y la fase estacionaria, y se mide de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{W_b} \right)^2$$

Donde  $W_b$  = ancho de la base del pico cromatográfico.

El número de platos teóricos es una medida de la eficiencia de la columna y sistemas asociados; así que cuanto mayor sea el valor de  $N$ , mayor será la eficiencia de la columna.

d) Factor de capacidad ( $K'$ ). Es la medida de la capacidad para retener un soluto en la columna; definida por la siguiente expresión:

$$K' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

Si  $K'$  es demasiado bajo, los componentes son eluidos demasiado rápido, mientras que, si  $K'$  es demasiado alto, los componentes son eluidos demasiado lento. La teoría cromatográfica predice que el valor óptimo es de 2 a 5, sin embargo valores de 1 a 10 son aceptables.

e) Selectividad o retención relativa ( $\alpha$ ). Describe la posición relativa de dos picos adyacentes, y es definido como:

$$\alpha = \frac{K'_2}{K'_1}$$

Donde  $K'_2$  es el factor de capacidad del compuesto eluido en

último término, si es igual a 1, entonces no hay separación.  
f) Resolución (R). Es una medida cuantitativa del grado de separación obtenido entre dos compuestos.

$$R = \frac{2(tr_2 - tr_1)}{wb_2 + wb_1}$$

Donde un valor de 1.5 o mayor representa una separación basal de dos picos.

## 2.5 Disolución.

La disolución es el proceso por el cual un soluto sólido de relativamente poca solubilidad entra en solución<sup>15</sup>.

En los últimos años, la cinética de disolución de sustancias sólidas ha suscitado gran atención, especialmente por su aplicación al estudio de medicamentos, relacionando este proceso con la biodisponibilidad de fármacos en el organismo animal y sobre todo en el ser humano<sup>16</sup>.

El estudio y establecimiento de métodos de disolución *in vitro*, obedece a la necesidad de disponer de modelos experimentales que reflejen lo más fidedignamente posible las condiciones *in vivo*, especialmente aquéllas que pueden afectar la velocidad de disolución y, por lo tanto, la biodisponibilidad de los medicamentos en el organismo. También son útiles para predecir las características de absorción de fármacos, una vez establecidas las correlaciones *in vivo* - *in vitro* correspondientes<sup>16</sup>.

La prueba de disolución también puede servir como meca-

nismo de control rutinario para asegurar la uniformidad de propiedades en lotes de producción regular<sup>15</sup>.

Para determinar la velocidad de disolución de los fármacos a partir de formas de dosificación sólidas bajo condiciones estandarizadas, se deben considerar varios procesos fisicoquímicos los cuales incluyen: las características de humectación de las formas sólidas de dosificación, la capacidad de penetración del medio disolvente dentro de las formas de dosificación, el proceso de hinchamiento y la desintegración. Wagner propuso el siguiente esquema para el proceso implicado en la disolución de formas sólidas de dosificación: 15,16,17,18.



El esquema muestra claramente que si el proceso de disolución se encuentra bloqueado, la absorción del fármaco no tiene lugar, lo que originará fallas terapéuticas. Si la

velocidad de disolución es lenta o incompleta, el nivel sanguíneo alcanzado con este fármaco resultará bajo e insuficiente para lograr un efecto terapéutico adecuado.

#### 2.5.1 Prueba de Disolución <sup>16,18,19,20</sup>.

Esta prueba se basa en la determinación cuantitativa del principio activo, que se encuentra en solución, después de un determinado tiempo de agitación de la forma farmacéutica en un medio de disolución adecuado.

En los documentos oficiales ("*Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM)*", 5a. edición y *USP XXII*) se describen dos métodos que pueden utilizarse para medir la velocidad de disolución de formas farmacéuticas sólidas. Estos métodos oficiales se describen a continuación.

##### Método 1. Método de la Canastilla Rotatoria

En este método se usa un vaso de disolución de una capacidad nominal de 1000 ml, de paredes lisas y fondo redondo, y una canastilla para colocar la muestra a ensayar. Las paredes y el fondo de la canastilla están constituidas por una malla de acero inoxidable No. 40. Por su parte superior ésta va unida a un vástago de acero inoxidable conectado a un motor que puede imprimirle velocidades que fluctúan entre 25 y 200 rpm. La canastilla con la muestra se sumerge en el centro de la masa líquida, que constituye el medio de disolución, hasta una profundidad tal que quede situado a 2.5 cm del fondo del vaso, ver figura 2.1.

## Método 2. Método de la Paleta.

Se emplea el mismo equipo que en el método 1, excepto que en vez de la canastilla de disolución se emplea una paleta de 3 a 5 mm de espesor y de 83 mm de diámetro, recubierta con un polímero fluocarbonado. Esta paleta se sumerge en el líquido de disolución de modo que su borde inferior quede a una distancia de 2.5 cm del fondo del vaso. Las formas farmacéuticas sólidas que tienden a flotar en el líquido pueden ser sumergidas en el medio de disolución con algún metal inerte, ver figura 2.2.

El medio de disolución en el vaso debe permanecer a una temperatura constante de 37°C ( $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ) por medio de un baño de agua destilada. El medio o fluido de disolución que se emplea en los ensayos se especifica en cada monografía, así como también el volumen a usar.

## Calibración de los Equipos.

Con el objeto de garantizar la reproducibilidad de los resultados, la USP ha introducido ciertos comprimidos que poseen una velocidad de disolución estándar garantizada. Hay dos tipos de calibradores de equipos de disolución: tabletas de referencia de tipo desintegrante de prednisona y tabletas de tipo no desintegrante de ácido salicílico. Un aparato de disolución es adecuado para los ensayos si los resultados obtenidos con cada comprimido se encuentran dentro de un rango aceptable para el calibrador empleado en ese equipo.

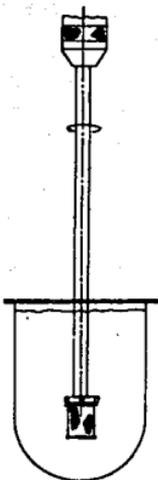


Figura 2.1 Canastilla

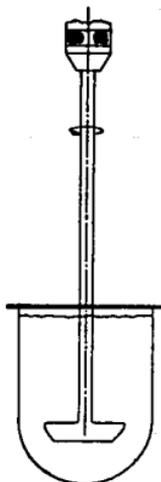


Figura 2.2 Paleta

Factores que influyen en la velocidad de disolución<sup>9</sup>.

A. Factores que dependen del medio de disolución:

- a) Intensidad de la agitación
- b) Temperatura
- c) Composición del medio:
  - influencia de la acidez
  - viscosidad
  - presencia de adsorbentes
  - tensión superficial
  - sales u otros compuestos.

**B. Factores que dependen del sólido a disolver:**

a) La solubilidad que depende de:

- la naturaleza química (sal, ácido, éster, etc.)
- el polimorfismo
- las impurezas.

b) La superficie libre que depende de:

- el tamaño de partícula
- la porosidad.

**2.5.2 Aplicación de la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) en la Prueba de Disolución <sup>17,21</sup>.**

La cromatografía de líquidos de alta resolución es un método de análisis que puede complementar muy bien la prueba de disolución; puede detectar cantidades muy bajas de fármacos, emplea volúmenes de muestra mucho menores que otros métodos, elimina la interferencia de excipientes, separa y cuantifica todos los principios activos presentes y permite monitorear productos de degradación regularmente.

Una de las más importantes ventajas del uso de CLAR es que se reducen en forma importante los procesos de extracción y de limpieza de muestras antes de inyectar ya que en general, sólo se requiere filtrar la alícuota e inyectarla. Los excipientes salen con el frente del solvente o son separados cromatográficamente del fármaco de interés.

Otra ventaja, asociada particularmente con el advenimiento de la cromatografía en fase inversa, es el amplio rango de

fases móviles de naturaleza polar que pueden emplearse en el análisis por CLAR, como son sistemas amortiguadores (buffer) que permiten la ionización de ciertas sustancias con características ácidas o básicas logrando así su análisis e investigación en forma práctica y sencilla. Una ventaja más es la capacidad de monitorear sustancias polares directamente.

**CAPITULO III**

***PARTE***

***EXPERIMENTAL***

### **3.1 Metodología analítica para cuantificar loratadina y clorhidrato de ambroxol en solución.**

Se va a partir de una solución que contiene en su formulación 1 mg/ml de loratadina y 6 mg/ml de clorhidrato de ambroxol.

#### **3.1.1 Sistema cromatográfico.**

- 1.- Instrumento: Cromatógrafo de líquidos Waters, compuesto por dos bombas No. 510, un inyector automático WISP 712, un detector de longitud de onda variable UV/VIS modelo 490E y un integrador modelo 746.
- 2.- Columna de acero inoxidable de 25 cm x 4.6 mm (DI) de intercambio catiónico fuerte (SCX) con partículas de sílica de 10  $\mu\text{m}$  de diámetro.
- 3.- Fase móvil: Acetato de amonio 0.04N:Etanol en proporción 20:80. Se prepara disolviendo 3.1 g de acetato de amonio en 1000 ml de agua. De esta solución se toman 200 ml y se mezclan con 800 ml de etanol. Se ajusta el pH de la mezcla a  $4.4 \pm 0.05$  con ácido fosfórico. Se filtra la solución final a través de un filtro de 0.22  $\mu\text{m}$  y se degasifica el filtrado poniendo el matraz en un baño de ultrasonido por 10 minutos.
- 4.- Velocidad de flujo: 2.0 ml/min.
- 5.- Detector: UV a 254 nm.
- 6.- Velocidad de la carta: 0.25 cm/min.
- 7.- Volumen de inyección: 10  $\mu\text{l}$ .

### Tiempos de Retención Aproximados

|                     |              |
|---------------------|--------------|
| Pico del excipiente | 1.7 minutos  |
| Loratadina          | 3.2 minutos  |
| Ambroxol            | 11.2 minutos |
| Amitriptilina       | 19.8 minutos |

#### 3.1.2 Reactivos y Soluciones de Referencia.

- 1.- Metanol.
- 2.- Etanol HPLC.
- 3.- Acido clorhídrico 0.1N.
- 4.- Mezcla metanol/ácido clorhídrico 0.1N, proporción 1:1
- 5.- Patrón Interno.

Pesar 40 mg de clorhidrato de amitriptilina, sustancia de referencia y anotar el peso  $W_i$ . Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 ml. Disolver y llevar a volumen con la mezcla metanol/ácido clorhídrico 0.1N. Mezclar bien.

- 6.- Solución de Referencia.

Pesar 25 mg de sustancia de referencia de loratadina y anotar el peso,  $W_s$ . Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 25 ml. Disolver y llevar a volumen con la mezcla metanol/ácido clorhídrico 0.1N. Mezclar bien. Solución A.

Pesar 150 mg de sustancia de referencia de clorhidrato de ambroxol y anotar el peso,  $W_a$ . Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 25 ml. Disolver y

llevar a volumen con la mezcla metanol/ácido clorhídrico 0.1N. Mezclar bien. Solución B.

Transferir con pipetas volumétricas 5.0 ml de Patrón Interno, 5.0 ml de la Solución A y 5.0 ml de la Solución B a un matraz volumétrico de 50 ml. Llevar a volumen con la mezcla metanol/ácido clorhídrico 0.1N y mezclar bien.

### 3.1.3 Procedimiento.

- 1.- Usando una pipeta volumétrica por expulsión transferir cuantitativamente 5.0 ml de muestra a un matraz volumétrico de 50 ml y anotar el volumen, Vu.
- 2.- Lavar la pipeta con pequeñas porciones de mezcla metanol/ácido clorhídrico 0.1N y adicionar los lavados al matraz.
- 3.- Con otra pipeta volumétrica transferir 5.0 ml de Patrón Interno al mismo matraz. Llevar a volumen con la mezcla metanol/ácido clorhídrico 0.1N y mezclar bien. Etiquetar Muestra.
- 4.- Inyectar alícuotas de 10  $\mu$ l de la Muestra y Solución de Referencia al cromatógrafo de líquidos y anotar las áreas (o alturas) de pico de cada inyección.

### 3.1.4 Cálculos.

Loratadina

- a) Factor Respuesta (K): Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidos de las inyecciones de las Solu-

ciones de Referencia.

$$K_i = \frac{A_B}{A_i} \times \frac{W_i}{50} \times \frac{5}{50} \times \frac{25}{W_B} \times \frac{50}{5}$$

$$K_i = \frac{A_B}{A_i} \times \frac{W_i}{W_B} \times 0.5$$

$$\bar{K} = \frac{\sum K_i}{n}$$

Donde:

$K_i$  = Factor Respuesta para cada inyección de Solución de Referencia.

$A_B$  = Area (o altura) de pico de loratadina.

$A_i$  = Area (o altura) de pico de amitriptilina.

$W_i$  = Peso de la sustancia de referencia de clorhidrato de amitriptilina, mg.

$W_B$  = Peso de la sustancia de referencia de loratadina, mg.

$n$  = Número de inyecciones de Solución de Referencia.

$\bar{K}$  = Factor Respuesta promedio.

b) Resultados de la valoración: Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidas de las inyecciones de la Muestra.

$$mg \text{ lor.}/ml = \frac{1}{\bar{K}} \times \frac{A'_B}{A'_i} \times \frac{W_i}{50} \times \frac{5}{50} \times \frac{50}{V_u}$$

$$mg \text{ lor.}/ml = \frac{1}{\bar{K}} \times \frac{A'_B}{A'_i} \times \frac{W_i}{V_u} \times 0.1$$

Donde:

$A'_B$  = Area (o altura) de pico de loratadina.

$A'i$  = Area (o altura) de pico de amitriptilina.

$Vu$  = Volumen de muestra tomada, ml.

Clorhidrato de Ambroxol.

a) Factor Respuesta (K): Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidos de las inyecciones de las Soluciones de Referencia.

$$K_i = \frac{A_a}{A_i} \times \frac{W_i}{50} \times \frac{5}{50} \times \frac{25}{W_a} \times \frac{50}{5}$$

$$K_i = \frac{A_a}{A_i} \times \frac{W_i}{W_a} \times 0.5$$

$$\bar{K} = \frac{\sum K_i}{n}$$

Donde:

$K_i$  = Factor Respuesta para cada inyección de Solución de Referencia.

$A_a$  = Area (o altura) de pico de ambroxol.

$A_i$  = Area (o altura) de pico de amitriptilina.

$W_i$  = Peso de la sustancia de referencia de clorhidrato de amitriptilina, mg.

$W_a$  = Peso de la sustancia de referencia de clorhidrato de ambroxol, mg.

$n$  = Número de inyecciones de Solución de Referencia.

$\bar{K}$  = Factor Respuesta promedio.

b) Resultados de la valoración: Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidas de las inyecciones de la Muestra.

$$\text{mg clorh.amb./ml} = \frac{1}{R} \times \frac{A'a}{A'i} \times \frac{Wi}{50} \times \frac{5}{50} \times \frac{50}{Vu}$$

$$\text{mg clorh.amb./ml} = \frac{1}{R} \times \frac{A'a}{A'i} \times \frac{Wi}{Vu} \times 0.1$$

Donde:

A'a = Area (o altura) de pico de ambroxol.

A'i = Area (o altura) de pico de amitriptilina.

Vu = Volumen de muestra tomada, ml.

### 3.2 Metodología analítica para cuantificar loratadina y clorhidrato de ambroxol en tabletas.

Se van a emplear tabletas que contienen 6 mg/tab de loratadina y 30 mg/tab de clorhidrato de ambroxol.

#### 3.2.1 Sistema cromatográfico.

El mismo empleado en la metodología analítica para la solución.

#### 3.2.2 Reactivos y Soluciones de Referencia.

Los mismos empleados en la metodología analítica para la solución.

#### 3.2.3 Procedimiento.

1.- Moler 20 tabletas hasta polvo fino.

- 2.- Pesar una porción representativa del polvo, equivalente a una tableta (aprox. 150 mg), anotar el peso,  $W_u$  y transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 ml.
- 3.- Adicionar 30 ml de la mezcla metanol/ácido clorhídrico 0.1N y 5.0 ml de Patrón Interno. Etiquetar: Solución de la Muestra.
- 4.- Sonicar la Solución de la Muestra por 20 minutos y llevar a volumen con la mezcla metanol/ácido clorhídrico 0.1N. Mezclar bien.
- 5.- Filtrar la Solución de la Muestra a través de un filtro de 0.8  $\mu$ m. Etiquetar al filtrado: Muestra.
- 6.- Inyectar alícuotas de 10  $\mu$ l de la Muestra y Solución de Referencia al cromatógrafo de líquidos y anotar las áreas (o alturas) de pico de cada inyección.

#### 3.2.4 Cálculos.

##### Loratadina

- a) Factor Respuesta (K): Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidas de las inyecciones de las Soluciones de Referencia.

$$K_i = \frac{A_s}{A_i} \times \frac{W_i}{50} \times \frac{5}{50} \times \frac{25}{W_s} \times \frac{50}{5}$$

$$K_i = \frac{A_s}{A_i} \times \frac{W_i}{W_s} \times 0.5$$

$$K = \frac{\sum K_i}{n}$$

Donde:

Ki = Factor Respuesta para cada inyección de Solución de Referencia.

As = Area (o altura) de pico de loratadina.

Ai = Area (o altura) de pico de amitriptilina.

Wi = Peso de la sustancia de referencia de clorhidrato de amitriptilina, mg.

Ws = Peso de la sustancia de referencia de loratadina, mg.

n = Número de inyecciones de Solución de Referencia.

$\bar{K}$  = Factor Respuesta promedio.

b) Resultados de la valoración: Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidas de las inyecciones de la Muestra.

$$mg \text{ lor. / tab} = \frac{1}{\bar{K}} \times \frac{A's}{A'i} \times \frac{N_i}{50} \times \frac{5}{50} \times \frac{50}{W_u} \times PP$$

$$mg \text{ lor. / tab} = \frac{1}{\bar{K}} \times \frac{A's}{A'i} \times \frac{N_i}{W_u} \times 0.1 \times PP$$

Donde:

A's = Area (o altura) de pico de loratadina.

A'i = Area (o altura) de pico de amitriptilina.

Wu = Peso de la muestra, mg.

PP = .Peso promedio, mg/tab.

Clorhidrato de Ambroxol.

a) Factor Respuesta (K): Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidos de las inyecciones de las Solu-

ciones de Referencia.

$$K_i = \frac{A_a}{A_i} \times \frac{W_i}{50} \times \frac{5}{50} \times \frac{25}{W_a} \times \frac{50}{5}$$

$$K_i = \frac{A_a}{A_i} \times \frac{W_i}{W_a} \times 0.5$$

$$\bar{K} = \frac{\sum K_i}{n}$$

Donde:

$K_i$  = Factor Respuesta para cada inyección de Solución de Referencia.

$A_a$  = Area (o altura) de pico de ambroxol.

$A_i$  = Area (o altura) de pico de amitriptilina.

$W_i$  = Peso de la sustancia de referencia de clorhidrato de amitriptilina, mg.

$W_a$  = Peso de la sustancia de referencia de clorhidrato de ambroxol, mg.

$n$  = Número de inyecciones de Solución de Referencia.

$\bar{K}$  = Factor Respuesta promedio.

b) Resultados de la valoración: Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidas de las inyecciones de la Muestra.

$$\text{mg clorh. amb. / tab} = \frac{1}{\bar{K}} \times \frac{A'_a}{A'_i} \times \frac{W_i}{50} \times \frac{5}{50} \times \frac{50}{W_u} \times PP$$

$$\text{mg clorh. amb. / tab} = \frac{1}{\bar{K}} \times \frac{A'_a}{A'_i} \times \frac{W_i}{W_u} \times 0.1 \times PP$$

Donde:

A'a = Area (o altura) de pico de ambroxol.

A'i = Area (o altura) de pico de amitriptilina.

Wu = Peso de la muestra, mg.

PP = Peso promedio, mg/tab.

### 3.3 Metodología analítica para llevar a cabo la Prueba de Disolución de tabletas que contienen loratadina y clorhidrato de ambroxol.

#### 3.3.1 Aparato.

- 1.- Aparato 2 descrito bajo la Prueba de Disolución, FEUM5a. Edición, p.129, MGA 0291, agitador de paletas.
- 2.- Seis vasos de disolución de 1000 ml.
- 3.- Regulador de velocidad variable a 50 rpm.
- 4.- Baño de agua a temperatura constante mantenido a  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ .
- 5.- Filtro de membrana de  $0.8 \mu\text{m}$ .

#### 3.3.2 Sistema cromatográfico.

El mismo empleado en la metodología analítica para la solución. El volumen de inyección es de  $360 \mu\text{l}$ .

#### 3.3.3 Reactivos y Soluciones de Referencia.

- 1.- Medio de Disolución.  
Acido clorhídrico 0.1 N.
- 2.- Solución de Referencia.  
Pesar 28 mg de sustancia de referencia de loratadina y

anotar el peso, Ws. Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 100 ml. Disolver y llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1N. Sol. a

Pesar 33 mg de sustancia de referencia de clorhidrato de ambroxol y anotar el peso, Wa. Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 ml. Disolver y llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1N. Sol. b

Transferir 2.0 ml de la Sol. a y 5.0 ml de la Sol. b a un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a volumen con ácido clorhídrico 0.1N, etiquetar Sol. A. Tomar una alícuota de 5.0 ml de la Sol. A y mezclarla con 5.0 ml de metanol. Agitar bien y etiquetar: Solución de Referencia.

#### 3.3.4 Procedimiento.

- 1.- Transferir exactamente 900 ml de Medio de Disolución a cada uno de los seis vasos de disolución.
- 2.- Poner los vasos en el baño de agua a temperatura constante y dejar que el Medio de Disolución llegue a temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ .
- 3.- Insertar las paletas en el Medio de Disolución.
- 4.- Poner una tableta en cada uno de los seis vasos de disolución y operar el aparato a 50 rpm.
- 5.- A los 45 minutos, tomar alícuotas de cada vaso. Filtrar - cada alícuota a través de filtros de membrana de  $0.8 \mu\text{m}$  previamente lavados con Medio de Disolución. Desechar la primera porción de cada filtrado y conservar el filtrado

remanente. Tomar una alícuota de 5.0 ml de cada filtrado remanente y mezclar con 5.0 ml de metanol. Agitar bien y etiquetar: Soluciones de Muestra.

6.- Inyectar alícuotas de 360  $\mu$ l de las Soluciones de Muestra y Solución de Referencia al cromatógrafo de líquidos y anotar las áreas (o alturas) de pico de cada inyección.

### 3.3.5 Cálculos.

Loratadina

a) Relación de áreas (o alturas) ( $R_s$ ): Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidas de las inyecciones de las Soluciones de Referencia.

$$R_{si} = \frac{A_s}{W_s}$$

$$\bar{R}_s = \frac{\sum R_{si}}{n}$$

Donde:

$R_{si}$  = Relación de áreas (o alturas) para cada inyección de Solución de Referencia.

$A_s$  = Área (o altura) de pico de loratadina.

$W_s$  = Peso de la sustancia de referencia de loratadina, mg.

$n$  = Número de inyecciones de Solución de Referencia.

$\bar{R}_s$  = Relación de áreas promedio.

b) Resultados de la disolución: Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidas de las inyecciones de las Solucio-

nes de Muestra.

$$\% \text{ lor. dis.} = \frac{A'S}{AS} \times \frac{NB}{100} \times \frac{2}{100} \times \frac{5}{10} \times \frac{900}{Wt} \times \frac{10}{5} \times \frac{PP}{5} \times 100$$

$$\% \text{ lor. disuelto} = \frac{A'S}{Wt} \times \frac{3.6}{RB} \times PP$$

Donde:

$\%$  lor. dis. = Porcentaje de loratadina disuelta.

A's = Area (o altura) de pico de loratadina.

Wt = Peso de la tableta, mg.

PP = Peso promedio, mg/tab.

Clorhidrato de Ambroxol

a) Relación de áreas (o alturas) (Rs): Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidas de las inyecciones de las Soluciones de Referencia.

$$Rsi = \frac{Aa}{Wa}$$

$$\overline{Rs} = \frac{\sum Rsi}{n}$$

Donde:

Rsi = Relación de áreas (o alturas) para cada inyección de Solución de Referencia.

Aa = Area (o altura) de pico de ambroxol

Wa = Peso de la sustancia de referencia de clorhidrato de ambroxol, mg.

n = Número de inyecciones de la Solución de Referencia.

$\overline{R_s}$  = Relación de áreas promedio.

b) Resultados de la disolución: Usar únicamente las áreas (o alturas) de pico obtenidas de las inyecciones de las Soluciones de Muestra.

$$\% \text{ amb. dis.} = \frac{A'a}{Aa} \times \frac{Wa}{100} \times \frac{5}{100} \times \frac{5}{10} \times \frac{900}{Wt} \times \frac{10}{5} \times \frac{PP}{30} \times 100$$

$$\% \text{ amb. disuelto} = \frac{A'a}{Aa} \times \frac{3}{R_s} \times PP$$

Donde:

% amb. dis. = Porcentaje de ambroxol disuelto.

A'a = Area (o altura) de pico de ambroxol.

Wt = Peso de la tableta, mg.

PP = Peso promedio, mg/tab.

### 3.4 Parámetros de la validación a evaluar.

El criterio de aceptación o rechazo de todos los parámetros analíticos, son los establecidos en la *Guía Oficial de Validación de Métodos Analíticos* editado por la Secretaría de Salud y el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos<sup>6</sup>.

#### 3.4.1 Especificidad.

Para demostrar la especificidad del método propuesto a ser utilizado en control de calidad y en estudios de estabilidad,

los placebos de los productos se sometieron a dos condiciones: efecto de la temperatura (70°C) durante 14 días y a temperatura ambiente; mientras que los productos se tomaron a temperatura ambiente y a 35°C después de 18 meses de almacenamiento. Transcurrido este tiempo, tanto los placebos como los productos se analizaron para identificar las respuestas de los principios activos así como de los excipientes y posibles productos de degradación obtenidos después de las condiciones a las que fueron sometidos para verificar que no hay interferencia entre ellos.

#### 3.4.2 Tolerancia.

Se evaluó llevando a cabo diferentes pruebas para determinar el efecto de la variación del número de platos teóricos (NPT), pH, velocidad de flujo y proporción en la composición de la fase móvil en los tiempos de retención y el factor de resolución entre: excipiente y loratadina, loratadina y ambroxol, así como ambroxol y amitriptilina.

#### 3.4.3 Linealidad del sistema.

Se realizó el análisis por duplicado de soluciones de referencia de loratadina y clorhidrato de ambroxol en el rango de concentraciones que va del 60 al 140%, considerando como 100% la concentración señalada en el procedimiento del método analítico. La concentración de clorhidrato de amitriptilina (patrón interno) fue constante en todas las soluciones

de referencia. Se construyó una curva de calibración de concentración vs relación de áreas (o alturas) (principio activo/patrón interno).

El criterio de aceptación para este parámetro es un coeficiente de correlación ( $r$ )  $\geq 0.99$  y un coeficiente de determinación ( $r^2$ )  $\geq 0.98$  <sup>6</sup>.

#### 3.4.4 Precisión del sistema.

Se llevó a cabo realizando seis inyecciones de la solución de referencia correspondiente al 100% y evaluando el Factor Respuesta obtenido.

Este parámetro se acepta cuando el coeficiente de variación (CV)  $\leq 1.5\%$  <sup>6</sup>.

#### 3.4.5 Exactitud del método.

Se adicionaron cantidades variables de solución de referencia de loratadina y de clorhidrato de ambroxol a una cantidad constante de placebo para tener una concentración que va del 60 al 140% de la concentración manejada en el ensayo. Se llevó a cabo el análisis y se obtuvieron los porcentajes de recuperación para cada principio activo en presencia del placebo.

El criterio de evaluación de este parámetro lo constituyen dos puntos que son: a) cantidad adicionada vs cantidad recuperada donde se considera la pendiente ( $m$ ), la ordenada al origen ( $b$ ) y el coeficiente de correlación ( $r^2$ ) como:  $m \approx$

1,  $b \approx 0$ ,  $r^2 \geq 0.98$ ; y b) porcentaje de recuperación: 98-102%, con su respectivo CV  $\leq 2\%$  para técnicas cromatográficas<sup>6</sup>.

### 3.4.6 Reproducibilidad del método.

Se efectuó llevando a cabo el análisis de tres muestras diferentes con el 100% correspondiente al ensayo por dos analistas en dos días diferentes. Dando un total de 12 muestras ensayadas de las cuales se obtuvo el porcentaje de recuperación de cada uno de los activos.

Este parámetro debe cumplir con un CV  $\leq 2\%$  (técnicas cromatográficas)<sup>6</sup>.

Se puede evaluar la reproducibilidad del método mediante un análisis de varianza (ANADEVA) como se muestra en la tabla I. Este análisis permite conocer las interacciones entre analistas, días y analista-día. Sin embargo, este tratamiento estadístico es opcional ya que no constituye un requisito mínimo dentro de la validación<sup>6</sup>.

Tabla I.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Media de cuadrados | F <sub>cal</sub> | F <sub>0.05</sub> |
|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|
| Analista (α)        | gla=a-1            | SCa               | MCa=SCa/gla        | Fa=MCa/MCe       | Fgla/gle          |
| Día (δ)             | gld=(d-1)a         | SCd               | Mcd=SCd/gld        | Fd=Mcd/MCe       | Fgld/gle          |
| Error (ε)           | gle=(r-1)ad        | SCe               | Mce=SCe/gle        | -----            | -----             |

$F_{0.05}$ . = Los valores de  $F_{0.05}$  se obtienen de la Tabla de  $F$ , localizando el cruce del valor de los grados de libertad (gl) del numerador horizontalmente y el valor de los grados de libertad del denominador verticalmente, para una  $\alpha = 0.05$

a = número de analistas (2)

d = número de días (2)

r = número de replicaciones (3)

#### 3.4.7 Linealidad de la muestra.

Esta prueba tiene como objetivo demostrar que el método analizado no afecta a la confiabilidad de los resultados cuando varía el tamaño de la muestra. Para demostrarlo, se prepararon una serie de muestras de producto terminado con concentraciones correspondientes al rango del 60 al 140% del nivel del procedimiento y se valoraron con el método propuesto obteniéndose el porcentaje de recuperación de cada uno de los niveles.

En este punto se evalúa el coeficiente de variación que debe ser menor al 2%<sup>6</sup>.

#### 3.4.8 Estabilidad de la muestra.

Se determinó mediante la comparación de los resultados de los análisis iniciales de seis muestras con los resultados obtenidos de las mismas muestras después de varios días bajo dos condiciones diferentes: temperatura ambiente y refrigera-

ción.

La muestra es estable si la media de la muestra con respecto a la media del análisis inicial se encuentra dentro del  $\pm 2\sigma$ .

## **CAPITULO IV**

# ***RESULTADOS***

**4.1 Validación del método de valoración de solución de loratadina/clorhidrato de ambroxol.**

**4.1.1 Especificidad.**

A continuación se presentan los cromatogramas de las muestras cuyo orden es el siguiente:

**Figura 4.1. Estándares**

- a) Loratadina. Concentración 0.1 mg/ml.
- b) Ambroxol. Concentración 0.6 mg/ml.
- c) Amitriptilina. Concentración 0.08 mg/ml.

**Figura 4.2. Solución de Referencia**

**Figura 4.3. Disolvente**

**Figura 4.4. Placebo de loratadina y clorhidrato de ambroxol.**

**Lote ME-24550-138.**

- a) Temperatura ambiente
- b) 70°C durante 14 días

**Figura 4.5. Placebo de loratadina. Lote ME-24550-136.**

- a) Temperatura ambiente
- b) 70°C durante 14 días

**Figura 4.6. Placebo de clorhidrato de ambroxol. Lote ME-24550-137.**

- a) Temperatura ambiente
- b) 70°C durante 14 días

**Figura 4.7. Solución de loratadina/clorhidrato de ambroxol.**

**Lote ME-24545-18.**

- a) Temperatura ambiente sin patrón interno
- b) Temperatura ambiente con patrón interno

c) 35°C durante 18 meses sin patrón interno

Donde los picos obtenidos corresponden a:

L Loratadina

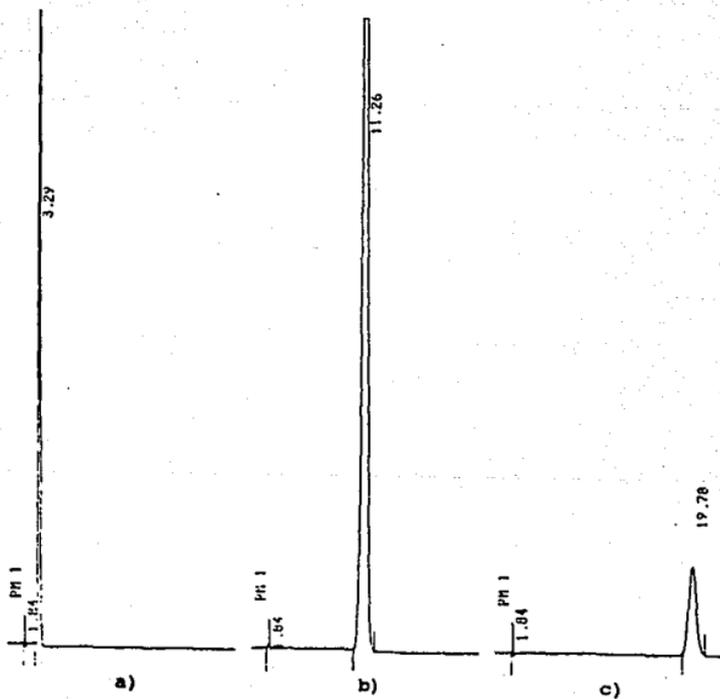
A Ambroxol

SI Patrón interno (amitriptilina)

E Excipientes

Con los cromatogramas obtenidos se demuestra que el método propuesto es específico para el análisis de solución de loratadina/clorhidrato de ambroxol ya que no hay interferencia entre las respuestas obtenidas de los principios activos, patrón interno y excipientes.

Figura 4.1  
Estándares



- a) Loratadina.
- b) Ambroxol.
- c) Amitriptilina.

Figura 4.2  
Solución de Referencia

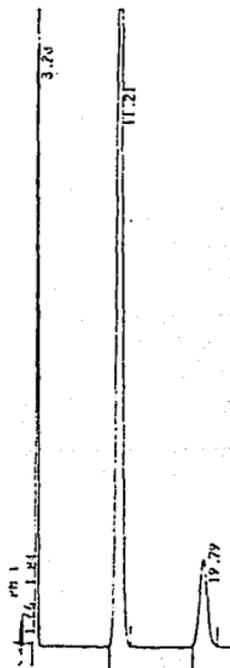


Figura 4.3  
Disolvente

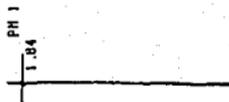
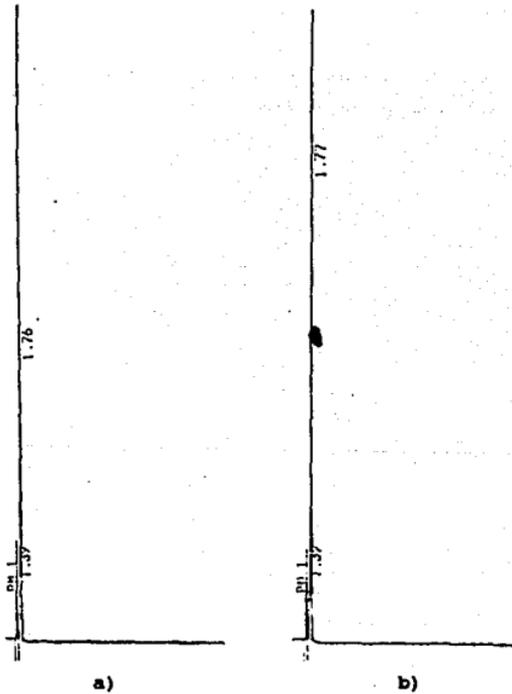


Figura 4.4

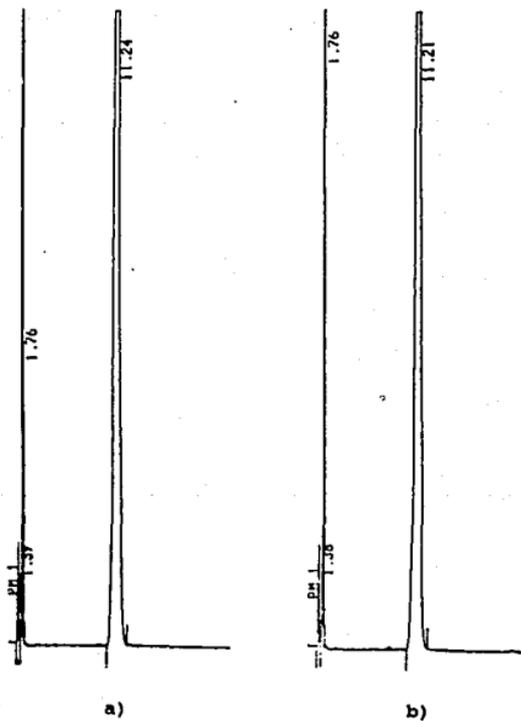
Placebo de loratadina y clorhidrato de ambroxol



a) Temperatura ambiente

b) 70°C durante 14 días

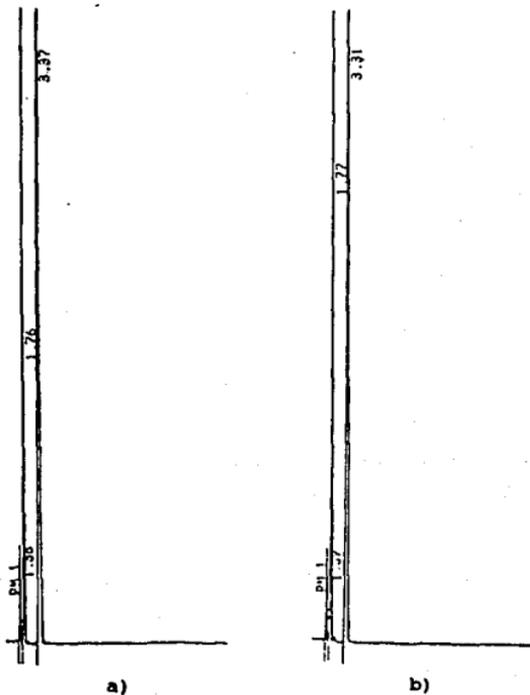
Figura 4.5  
Placebo de loratadina



- a) Temperatura ambiente
- b) 70°C durante 14 días

Figura 4.6

Placebo de clorhidrato de ambroxol



a) Temperatura ambiente

b) 70°C durante 14 días



#### 4.1.2 Tolerancia.

Se presenta el factor de resolución obtenido entre excipiente (E) y loratadina (L), entre loratadina (L) y ambroxol (A) y entre ambroxol (A) y amitriptilina (SI) cuando se variaron diferentes condiciones del sistema.

Se empleó el lote ME-24545-18 de solución de loratadina y clorhidrato de ambroxol bajo dos condiciones: temperatura ambiente (T) y almacenada a 35°C durante 18 meses (C).

Tabla 4.1 Variación del Número de Platos Teóricos (NPT)

|   | NPT  | Factor de Resolución |       |      |
|---|------|----------------------|-------|------|
|   |      | E/L                  | L/A   | A/SI |
| T | 748  | 2.14                 | 3.75  | 3.13 |
|   | 2680 | 5.11                 | 8.09  | 6.49 |
|   | 2869 | 6.96                 | 10.58 | 6.79 |
| C | 748  | 2.03                 | 3.59  | 2.96 |
|   | 2680 | 4.69                 | 8.11  | 6.20 |
|   | 2869 | 6.81                 | 10.10 | 6.80 |

Tabla 4.2 Variación del pH

|   | pH   | Factor de Resolución |      |      |
|---|------|----------------------|------|------|
|   |      | E/L                  | L/A  | A/SI |
| T | 4.2  | 6.09                 | 6.81 | 6.50 |
|   | 4.4* | 5.11                 | 8.09 | 6.49 |
|   | 4.6  | 2.96                 | 8.19 | 6.40 |
| C | 4.2  | 4.89                 | 6.67 | 6.34 |
|   | 4.4* | 4.69                 | 8.11 | 6.20 |
|   | 4.6  | 3.27                 | 8.23 | 6.33 |

**Tabla 4.3 Variación en la velocidad de flujo**

|   | ml/min | Factor de Resolución |      |      |
|---|--------|----------------------|------|------|
|   |        | E/L                  | L/A  | A/SI |
| T | 1.5    | 5.61                 | 7.56 | 6.94 |
|   | 2.0*   | 5.11                 | 8.09 | 6.49 |
|   | 2.5    | 4.50                 | 7.66 | 6.05 |
| C | 1.5    | 5.36                 | 7.84 | 6.92 |
|   | 2.0*   | 4.69                 | 8.11 | 6.20 |
|   | 2.5    | 4.34                 | 7.74 | 5.97 |

**Tabla 4.4 Variación en la proporción de fase móvil**

|   | Etanol:<br>Buffer | Factor de Resolución |      |      |
|---|-------------------|----------------------|------|------|
|   |                   | E/L                  | L/A  | A/SI |
| T | 83:17             | 4.89                 | 8.18 | 7.20 |
|   | 80:20*            | 5.11                 | 8.09 | 6.49 |
|   | 77:23             | 4.00                 | 6.80 | 5.36 |
| C | 83:17             | 5.19                 | 8.15 | 6.94 |
|   | 80:20*            | 4.69                 | 8.11 | 6.20 |
|   | 77:23             | 4.10                 | 7.03 | 5.19 |

Como la resolución es una medida de la separación de los picos, podemos señalar que las condiciones marcadas con asterisco (\*) son las óptimas ya que se logra el equilibrio entre una buena resolución y un tiempo de análisis no muy largo.

#### 4.1.3 Linealidad del sistema.

Los resultados se encuentran en las tablas Núms. 4.5 y 4.6, y en las gráficas Núms. 4.1 y 4.2.

Tabla 4.5 Linealidad del sistema para loratadina

| §   | Conc. de lorat.<br>(mg/ml) | Relac. de áreas<br>L/SI* |
|-----|----------------------------|--------------------------|
| 60  | 0.06018                    | 1.0896                   |
| 80  | 0.08024                    | 1.4934                   |
| 100 | 0.10030                    | 1.8517                   |
| 120 | 0.12036                    | 2.1975                   |
| 140 | 0.14042                    | 2.5652                   |

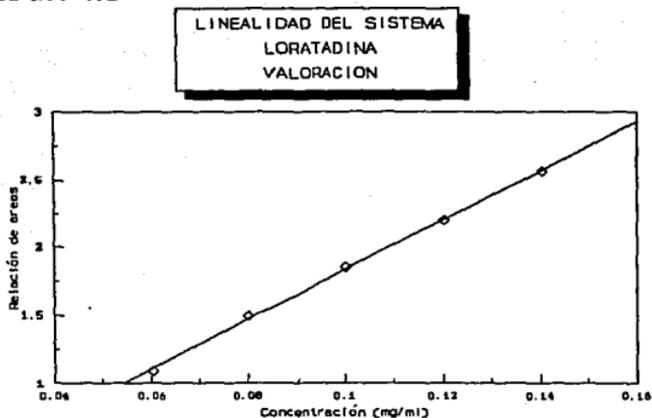
Tabla 4.6 Linealidad del sistema para clorhidrato de ambroxol.

| §   | Conc. de amb.<br>(mg/ml) | Relac. de áreas<br>A/SI** |
|-----|--------------------------|---------------------------|
| 60  | 0.36006                  | 4.0105                    |
| 80  | 0.48008                  | 5.3054                    |
| 100 | 0.60010                  | 6.5514                    |
| 120 | 0.72012                  | 7.8249                    |
| 140 | 0.84014                  | 9.1786                    |

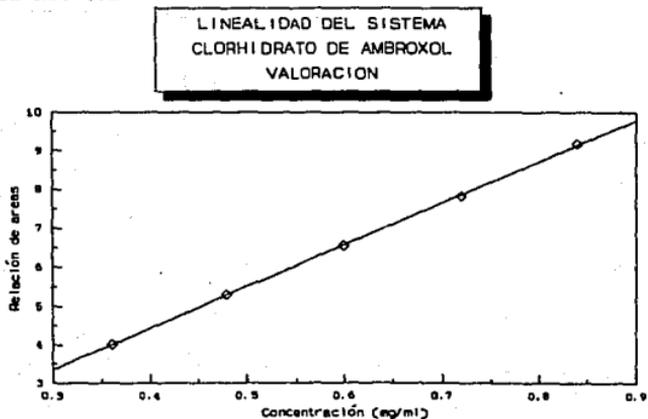
\* L/SI Loratadina/Patrón interno (amitriptilina)

\*\*A/SI Ambroxol/Patrón interno (amitriptilina)

Gráfica No. 4.1



Gráfica No. 4.2



Haciendo el análisis de regresión lineal considerando como "x" la concentración de los principios activos y como "y" la relación de áreas tenemos:

|                                  | Loratadina | Clorh.Ambroxol |
|----------------------------------|------------|----------------|
| Pendiente (m)                    | 18.2218    | 10.7113        |
| Ordenada al origen (b)           | 0.0118     | 0.1463         |
| Coef. de correlación (r)         | 0.9996     | 0.9999         |
| Coef. de determinación ( $r^2$ ) | 0.9992     | 0.9998         |

De acuerdo a los resultados obtenidos para loratadina y para clorhidrato de ambroxol se considera que el sistema es lineal, ya que r y  $r^2$  se encuentran dentro de los límites señalados;  $r \geq 0.99$  y  $r^2 \geq 0.98$ .

#### 4.1.4 Precisión del sistema.

Los resultados se muestran en la tabla No. 4.7

Tabla 4.7 Precisión del sistema.

| No. inyección | Factor Respuesta (K)<br>Loratadina | Factor Respuesta (K)<br>Ambroxol |
|---------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 1             | 1.4863                             | 0.8683                           |
| 2             | 1.4725                             | 0.8694                           |
| 3             | 1.4764                             | 0.8695                           |
| 4             | 1.4685                             | 0.8657                           |
| 5             | 1.4653                             | 0.8639                           |
| 6             | 1.4633                             | 0.8634                           |
| Media         | 1.4720                             | 0.8667                           |
| CV            | 0.57%                              | 0.32%                            |

El Factor Respuesta es:

$$K = \frac{\text{Area pico prin. activo}}{\text{Area pico patrón interno}} \times \frac{\text{Conc. patrón interno}}{\text{Conc. prin. activo}}$$

Un CV menor al 1.5% nos señala que el sistema es preciso para ambos principios activos.

#### 4.1.5 Exactitud del método.

Los resultados para exactitud del método se presentan en las tablas Núms. 4.8, 4.9 y 4.10 y en las gráficas Núms. 4.3 y 4.4.

Tabla 4.8 Exactitud del método para loratadina.

| ‡   | Loratadina adic.<br>(mg) | Loratadina recup.<br>(mg) | ‡ de<br>recuperación |
|-----|--------------------------|---------------------------|----------------------|
| 60  | 3.0075                   | 2.9792                    | 99.06                |
| 80  | 4.0100                   | 4.0033                    | 99.83                |
| 100 | 5.0125                   | 5.0205                    | 100.16               |
| 120 | 6.0150                   | 5.9691                    | 99.24                |
| 140 | 7.0175                   | 7.1061                    | 101.26               |

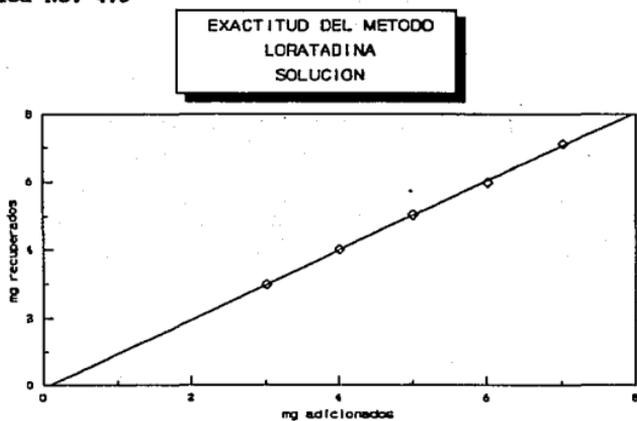
Tabla 4.9 Exactitud del método para clorhidrato de ambroxol.

| ‡   | Clorh. ambroxol<br>adic (mg) | Clorh. ambroxol<br>recup (mg) | ‡ de<br>recuperación |
|-----|------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| 60  | 18.0075                      | 17.8731                       | 99.25                |
| 80  | 24.0100                      | 24.0964                       | 100.36               |
| 100 | 30.0125                      | 30.1018                       | 100.30               |
| 120 | 36.0150                      | 35.8829                       | 99.63                |
| 140 | 42.0175                      | 42.4328                       | 100.99               |

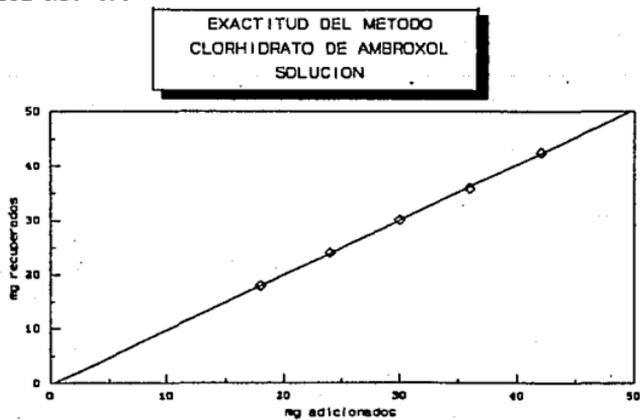
Tabla 4.10 Exactitud del método

|                | Loratadina | Clorh. ambroxol. |
|----------------|------------|------------------|
| m              | 1.0194     | 1.0147           |
| b              | -0.0942    | -0.3756          |
| r <sup>2</sup> | 0.9994     | 0.9997           |
| Prom. ‡rec     | 99.91      | 100.11           |
| CV             | 0.88‡      | 0.68‡            |

Gráfica No. 4.3



Gráfica No. 4.4



Del análisis estadístico respectivo obtenemos el intervalo de confianza para la pendiente (ICm) y para la ordenada al origen (ICb).

|      | Loratadina      | Ambroxol        |
|------|-----------------|-----------------|
| ICm: | 0.9977, 1.0411  | 0.9994, 1.0300  |
| ICb: | -0.2230, 0.0347 | -0.9185, 0.1674 |

De los resultados para ambos principios activos podemos señalar los siguientes puntos: la pendiente (m) y ordenada al origen (b) son significativamente iguales a 1 y 0 respectivamente ya que se encuentran incluidos en los intervalos de confianza correspondientes,  $r^2 \geq 0.98$ ; el porcentaje de recuperación se encuentra entre 98-102% y su respectivo CV  $\leq 2\%$ , por lo que se considera que el método es exacto para el análisis de solución de loratadina/clorhidrato de ambroxol.

#### 4.1.6 Reproducibilidad del método.

Los resultados se presentan en las tablas Núms. 4.11, 4.12 y 4.13.

Tabla 4.11 Reproducibilidad del método.

| Muestra  | Analista | Día | % Loratadina | % Ambroxol |
|----------|----------|-----|--------------|------------|
| 1        | 1        | 1   | 106.41       | 108.60     |
| 2        | 1        | 1   | 107.56       | 109.17     |
| 3        | 1        | 1   | 107.07       | 108.61     |
| 4        | 2        | 1   | 108.56       | 109.97     |
| 5        | 2        | 1   | 111.91       | 113.27     |
| 6        | 2        | 1   | 108.19       | 109.73     |
| 7        | 1        | 2   | 106.83       | 108.21     |
| 8        | 1        | 2   | 105.98       | 107.25     |
| 9        | 1        | 2   | 106.49       | 107.89     |
| 10       | 2        | 2   | 109.12       | 111.21     |
| 11       | 2        | 2   | 109.62       | 110.25     |
| 12       | 2        | 2   | 110.31       | 110.60     |
| Promedio |          |     | 108.17       | 109.56     |
| CV       |          |     | 1.67%        | 1.51%      |

Un valor menor al 2% en el coeficiente de variación de ambos principios activos nos indica que el método de valoración de la solución es reproducible.

Tabla 4.12 Tabla de ANADEVa para loratadina.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Media de cuadrados | F <sub>cal</sub> | F <sub>0.05</sub> |
|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|
| Analista (a)        | 1                  | 25.1431           | 25.1431            | 19.8261          | 38.51             |
| Día (δ)             | 2                  | 0.5300            | 0.2650             | 0.2089           | 6.06              |
| Error (ε)           | 8                  | 10.1455           | 1.2682             | ----             | ----              |

Tabla 4.13 Tabla de ANADEVa para clorhidrato de ambroxol.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Media de cuadrados | F <sub>cal</sub> | F <sub>0.05</sub> |
|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|
| Analista (a)        | 1                  | 19.5075           | 19.5075            | 17.3608          | 38.51             |
| Día (δ)             | 2                  | 1.6682            | 0.8341             | 0.7423           | 6.06              |
| Error (ε)           | 8                  | 8.9892            | 1.1237             | ----             | ----              |

Como  $F_a < F_{gla,gle;0.05}$ , el método analítico es reproducible por los dos analistas para los dos principios activos.

Como  $F_d < F_{gld,gld;0.05}$ , el método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista para ambos principios activos.

#### 4.1.7 Linealidad de la muestra.

Los resultados se muestran en la tabla No. 4.14.

Tabla 4.14 Linealidad de la muestra.

| % proced | % Recuperación Loratadina | % Recuperación Ambroxol |
|----------|---------------------------|-------------------------|
| 60       | 106.40                    | 106.45                  |
| 80       | 107.65                    | 108.44                  |
| 100      | 109.86                    | 110.67                  |
| 120      | 106.57                    | 107.05                  |
| 140      | 105.95                    | 106.39                  |
| Prom.    | 107.29                    | 107.80                  |
| CV       | 1.46%                     | 1.67%                   |

El coeficiente de variación obtenido (menor al 2%) demuestra que el método de valoración es lineal en el rango de concentración manejado para el análisis de loratadina y para clorhidrato de ambroxol.

#### 4.1.8 Estabilidad de la muestra.

Los resultados se encuentran en las tablas Números. 4.15 y 4.16.

Tabla 4.15 Estabilidad de la muestra para loratadina.

| Muestra | % Anal.Inic. | % 5 días T.A. | % 5 días ref. |
|---------|--------------|---------------|---------------|
| 1       | 105.30       | 108.19        | 107.07        |
| 2       | 106.83       | 109.25        | 107.82        |
| 3       | 105.98       | 108.51        | 105.55        |
| 4       | 106.49       | 108.92        | 108.06        |
| 5       | 109.91       | 107.65        | 107.86        |
| 6       | 107.42       | 109.11        | 108.03        |
| Prom.   | 106.99       | 108.60        | 107.40        |
| CV      | 1.50%        | 0.56%         | 0.91%         |

Tabla 4.16 Estabilidad de la muestra para clorh. de ambroxol.

| Muestra | % Anal.Inic. | % 5 días T.A. | % 5 días ref. |
|---------|--------------|---------------|---------------|
| 1       | 108.12       | 109.29        | 108.87        |
| 2       | 108.21       | 110.64        | 109.62        |
| 3       | 107.25       | 109.81        | 106.16        |
| 4       | 107.89       | 110.07        | 109.38        |
| 5       | 110.39       | 108.67        | 108.64        |
| 6       | 107.71       | 110.00        | 108.81        |
| Prom.   | 108.26       | 109.75        | 108.58        |
| CV      | 1.01%        | 0.62%         | 1.14%         |

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos señalar que la muestra es estable al menos por cinco días almacenada a temperatura ambiente o en refrigeración.

#### 4.2 Validación del método de valoración de tabletas de loratadina/clorhidrato de ambroxol.

Los parámetros de tolerancia, linealidad del sistema y precisión del sistema no se presentan para tabletas ya que el sistema cromatográfico es el mismo que en la solución y por lo tanto es válido para ambas formas farmacéuticas.

##### 4.2.1 Especificidad.

Se van a presentar los cromatogramas de las muestras en el orden siguiente:

Figura 4.8. Estándares

- a) Loratadina. Concentración 0.1 mg/ml.
- b) Ambroxol. Concentración 0.6 mg/ml.
- c) Amitriptilina. Concentración 0.08 mg/ml.

Figura 4.9. Solución de Referencia

Figura 4.10. Disolvente

Figura 4.11. Placebo de loratadina y clorhidrato de ambroxol.

Lote ME-24550-142.

- a) Temperatura ambiente
- b) 70°C durante 14 días

Figura 4.12. Placebo de loratadina. Lote ME-24550-140.

- a) Temperatura ambiente
- b) 70°C durante 14 días

Figura 4.13. Placebo de clorhidrato de ambroxol. Lote ME-24550-141.

- a) Temperatura ambiente

b) 70°C durante 14 días

**Figura 4.14. Tabletas de loratadina/clorhidrato de ambroxol.**

**Lote ME-24545-91.**

- a) Temperatura ambiente sin patrón interno
- b) Temperatura ambiente con patrón interno
- c) 35°C durante 18 meses sin patrón interno

Donde los picos obtenidos corresponden a:

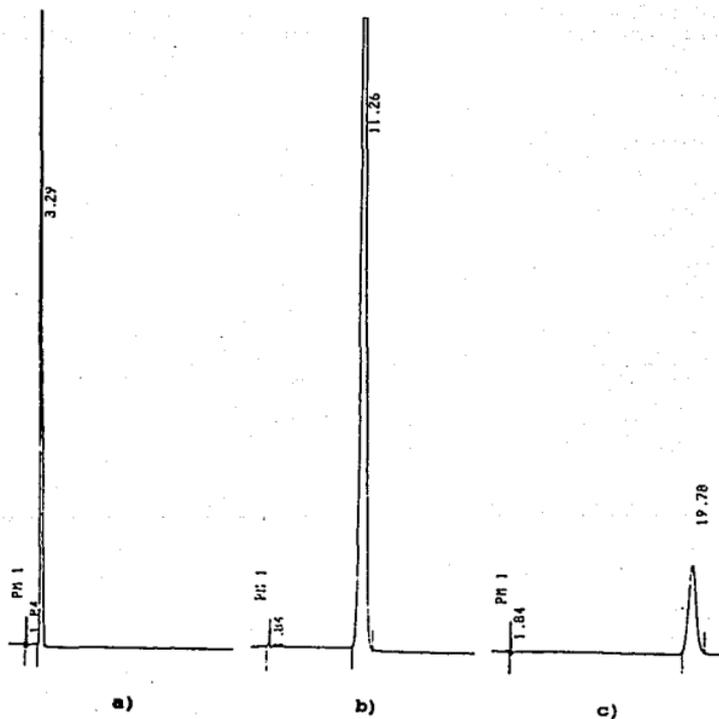
L Loratadina

A Ambroxol

SI Patrón interno (amitriptilina)

Con los cromatogramas obtenidos se demuestra que el método propuesto es específico para el análisis de tabletas de loratadina/clorhidrato de ambroxol ya que no hay interferencia en las respuestas obtenidas de los principios activos y el patrón interno.

**Figura 4.8**  
**Estándares**



- a) Loratadina.
- b) Ambroxol.
- c) Amitriptilina.

Figura 4.9  
Solución de Referencia

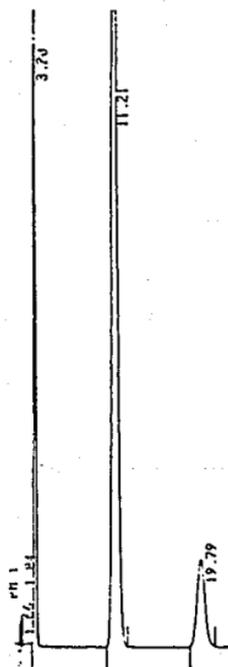


Figura 4.10  
Disolvente

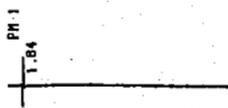
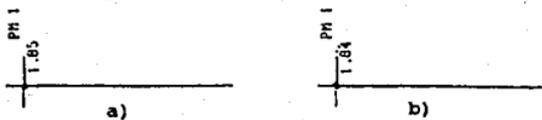


Figura 4.11

Placebo de loratadina y clorhidrato de ambroxol

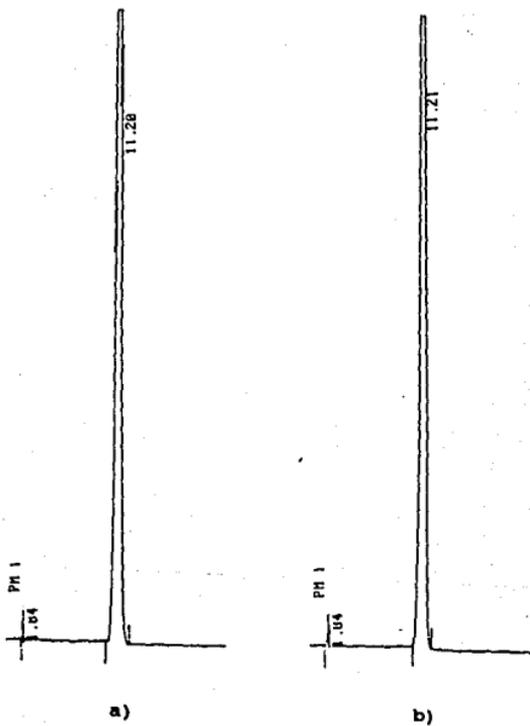


a) Temperatura ambiente

b) 70°C durante 14 días

Figura 4.12

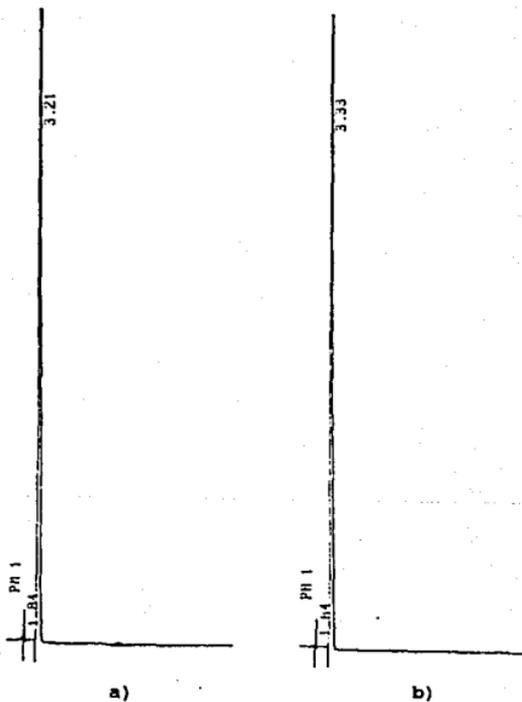
Placebo de loratadina



- a) Temperatura ambiente
- b) 70°C durante 14 días

Figura 4.13

Placebo de clorhidrato de ambroxol

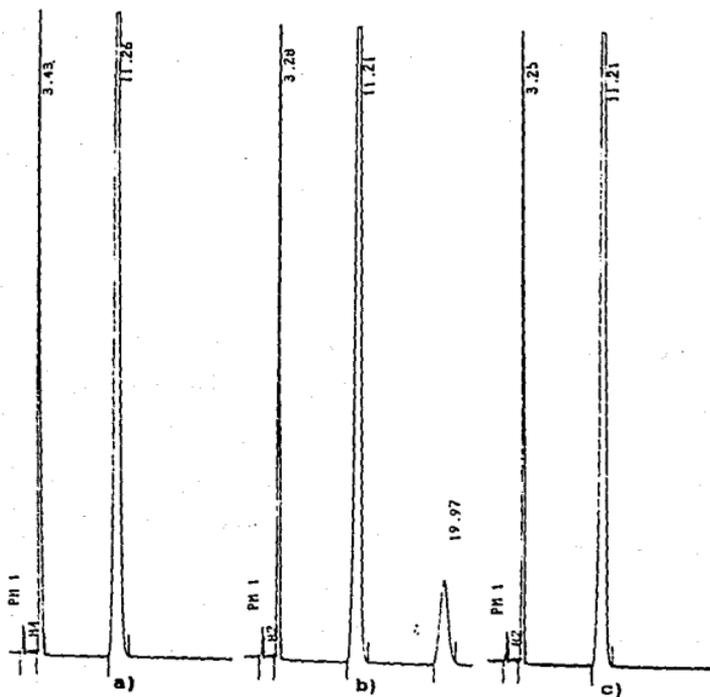


a) Temperatura ambiente

b) 70°C durante 14 días

Figura 4.14

Tabletas de loratadina/clorhidrato de ambroxol



- a) Temperatura ambiente sin patrón interno
- b) Temperatura ambiente con patrón interno
- c) 35°C durante 18 meses sin patrón interno

#### 4.2.2 Exactitud del método.

Los resultados para exactitud del método se presentan en las tablas Núms. 4.17, 4.18 y 4.19 y en las gráficas Núms. 4.5 y 4.6.

Tabla 4.17 Exactitud del método para loratadina.

| ‡   | Loratadina adic.<br>(mg) | Loratadina recup.<br>(mg) | ‡ de re-<br>cuperación |
|-----|--------------------------|---------------------------|------------------------|
| 60  | 3.0075                   | 3.0251                    | 100.59                 |
| 80  | 4.0100                   | 3.9578                    | 98.70                  |
| 100 | 5.0125                   | 4.9629                    | 99.01                  |
| 120 | 6.0150                   | 6.0884                    | 101.22                 |
| 140 | 7.0175                   | 7.0164                    | 99.98                  |

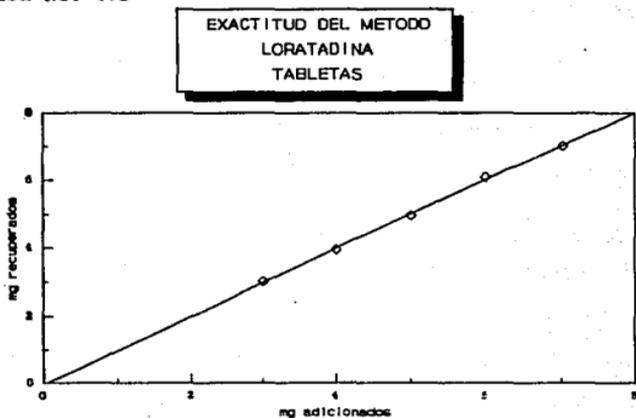
Tabla 4.18 Exactitud del método para clorhidrato de ambroxol.

| ‡   | Clorh.ambroxol.<br>adic (mg) | Clorh.ambroxol.<br>recup (mg) | ‡ de<br>recuperación |
|-----|------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| 60  | 18.0075                      | 17.9906                       | 99.91                |
| 80  | 24.0100                      | 24.2223                       | 100.88               |
| 100 | 30.0125                      | 29.8152                       | 99.34                |
| 120 | 36.0150                      | 36.4273                       | 101.14               |
| 140 | 42.0175                      | 42.1341                       | 100.28               |

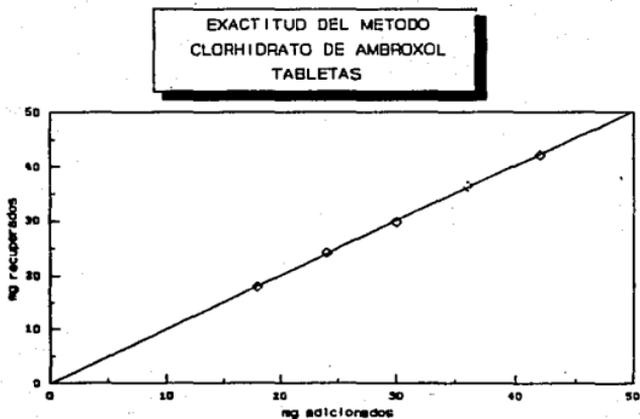
Tabla 4.19 Exactitud del método

|                | Loratadina | Clorh. ambroxol. |
|----------------|------------|------------------|
| m              | 1.0088     | 1.0078           |
| b              | -0.0465    | -0.1281          |
| r <sup>2</sup> | 0.9990     | 0.9994           |
| Prom. ‡rec     | 99.90      | 100.31           |
| CV             | 1.06‡      | 0.73‡            |

Gráfica No. 4.5



Gráfica No. 4.6



Del análisis estadístico respectivo obtenemos el intervalo de confianza para la pendiente (ICm) y para la ordenada al origen (ICb).

|      | Loratadina      | Ambroxol        |
|------|-----------------|-----------------|
| ICm: | 0.9828, 1.0348  | 0.9889, 1.0348  |
| ICb: | -0.2008, 0.1078 | -0.7990, 0.5428 |

De los resultados para ambos principios activos podemos señalar los siguientes puntos: la pendiente (m) y ordenada al origen (b) son significativamente iguales a 1 y 0 respectivamente ya que se encuentran incluidos en los intervalos de confianza correspondientes,  $r^2 \geq 0.98$ ; el porcentaje de recuperación se encuentra entre 98-102% y su respectivo CV  $\leq 2\%$ , por lo que se considera que el método es exacto para el análisis de tabletas de loratadina/clorhidrato de ambroxol.

#### 4.2.3 Reproducibilidad del método.

Los resultados se presentan en las tablas Núms. 4.20, 4.21 y 4.22.

Tabla 4.20 Reproducibilidad del método.

| Muestra  | Analista | Día | % Loratadina | % Ambroxol |
|----------|----------|-----|--------------|------------|
| 1        | 1        | 1   | 93.92        | 99.92      |
| 2        | 1        | 1   | 92.98        | 97.88      |
| 3        | 1        | 1   | 93.06        | 98.24      |
| 4        | 2        | 1   | 92.96        | 96.91      |
| 5        | 2        | 1   | 95.03        | 100.43     |
| 6        | 2        | 1   | 93.19        | 99.46      |
| 7        | 1        | 2   | 96.70        | 100.41     |
| 8        | 1        | 2   | 95.81        | 99.63      |
| 9        | 1        | 2   | 94.80        | 99.97      |
| 10       | 2        | 2   | 93.74        | 99.75      |
| 11       | 2        | 2   | 94.01        | 98.73      |
| 12       | 2        | 2   | 96.55        | 99.60      |
| Promedio |          |     | 94.40        | 99.24      |
| CV       |          |     | 1.45%        | 1.09%      |

Un valor menor al 2% en el coeficiente de variación de ambos principios activos nos indica que el método de valoración de las tabletas es reproducible.

Tabla 4.21 Tabla de ANADEVa para loratadina.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Media de cuadrados | F <sub>cal</sub> | F <sub>0.05</sub> |
|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|
| Analista (α)        | 1                  | 0.2670            | 0.2670             | 0.2195           | 8.51              |
| Día (δ)             | 2                  | 10.6262           | 5.3131             | 4.3675           | 6.06              |
| Error (ε)           | 8                  | 9.7319            | 1.2165             | ----             | ----              |

Tabla 4.22 Tabla de ANADEVa para clorhidrato de ambroxol.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Media de cuadrados | F <sub>cal</sub> | F <sub>0.05</sub> |
|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|
| Analista (α)        | 1                  | 0.1141            | 0.1141             | 0.0922           | 38.51             |
| Día (δ)             | 2                  | 2.8999            | 1.4499             | 1.1723           | 6.06              |
| Error (ε)           | 8                  | 9.8949            | 1.2369             | ----             | ----              |

Como  $F_a < F_{g1a, g1e; 0.05}$ , el método analítico es reproducible por los dos analistas para los dos principios activos.

Como  $F_d < F_{g1d, g1e; 0.05}$ , el método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista para ambos principios activos.

4.2.4 Linealidad de la muestra.

Los resultados se muestran en la tabla No. 4.23.

Tabla 4.23 Linealidad de la muestra.

| % proced | % Recuperación Loratadina | % Recuperación Ambroxol |
|----------|---------------------------|-------------------------|
| 60       | 95.83                     | 98.75                   |
| 80       | 94.76                     | 97.11                   |
| 100      | 93.92                     | 97.91                   |
| 120      | 93.87                     | 97.68                   |
| 140      | 92.72                     | 96.94                   |
| Prom.    | 94.22                     | 97.68                   |
| CV       | 1.23%                     | 0.74%                   |

El coeficiente de variación obtenido (menor al 2%) demuestra que el método de valoración es lineal en el rango de concentración manejado para el análisis de ambos principios activos.

#### 4.2.5 Estabilidad de la muestra.

Los resultados se encuentran en las tablas Núms. 4.24 y 4.25.

Tabla 4.24 Estabilidad de la muestra para loratadina.

| Muestra | % Anal.Inic. | % 5 días T.A. | % 5 días ref. |
|---------|--------------|---------------|---------------|
| 1       | 93.92        | 93.72         | 95.56         |
| 2       | 96.70        | 93.92         | 95.51         |
| 3       | 95.81        | 95.93         | 92.67         |
| 4       | 94.80        | 93.92         | 94.01         |
| 5       | 93.38        | 96.03         | 91.79         |
| 6       | 93.23        | 94.89         | 91.51         |
| Prom.   | 94.64        | 94.73         | 93.51         |
| CV      | 1.47%        | 1.11%         | 1.92%         |

Tabla 4.25 Estabilidad de la muestra para clorh. de ambroxol.

| Muestra | % Anal.Inic. | % 5 días T.A. | % 5 días ref. |
|---------|--------------|---------------|---------------|
| 1       | 97.22        | 97.71         | 99.66         |
| 2       | 100.41       | 97.62         | 99.43         |
| 3       | 99.63        | 100.07        | 97.19         |
| 4       | 99.97        | 97.66         | 96.74         |
| 5       | 98.05        | 100.68        | 96.79         |
| 6       | 97.40        | 98.83         | 95.80         |
| Prom.   | 98.78        | 98.76         | 97.60         |
| CV      | 1.41%        | 1.36%         | 1.61%         |

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos señalar que la muestra es estable al menos por cinco días almacenada a temperatura ambiente o en refrigeración.

#### 4.3 Validación de la prueba de disolución de tabletas de loratadina/clorhidrato de ambroxol.

La especificidad en la prueba de disolución no se presenta ya que se tiene el mismo sistema que en la valoración y se maneja el mismo disolvente. La única diferencia es el volumen de inyección, que se compensa con la concentración de las soluciones de referencia y que es equivalente (de acuerdo al volumen inyectado) al empleado en la valoración. Además se inyectó este volumen y no presentó problemas por lo que se considera válida la especificidad dada en la valoración de tabletas.

##### 4.3.1 Linealidad del sistema.

Los resultados se encuentran en las tablas Núms. 4.26 y 4.27, y en las gráficas Núms. 4.7 y 4.8.

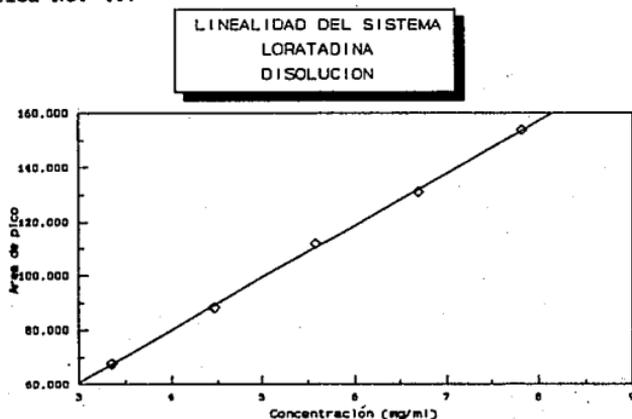
Tabla 4.26 Linealidad del sistema para loratadina

| %   | Conc. de lorat.<br>(mg/ml) | Area de pico |
|-----|----------------------------|--------------|
| 60  | 3.348                      | 67644        |
| 80  | 4.464                      | . 88113      |
| 100 | 5.580                      | 112057       |
| 120 | 6.696                      | 131047       |
| 140 | 7.812                      | 153755       |

Tabla 4.27 Linealidad del sistema para clorh. de ambroxol.

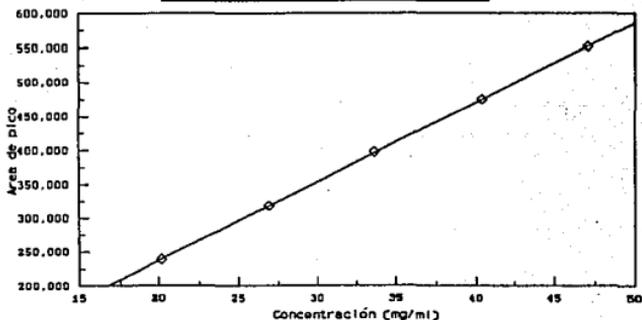
| %   | Conc. de amb.<br>(mg/ml) | Area de pico |
|-----|--------------------------|--------------|
| 60  | 20.19                    | 239168       |
| 80  | 26.92                    | 318035       |
| 100 | 33.65                    | 397744       |
| 120 | 40.38                    | 474232       |
| 140 | 47.11                    | 551804       |

Gráfica No. 4.7



Gráfica No. 4.8

LINEALIDAD DEL SISTEMA  
CLORHIDRATO DE AMBROXOL  
DISOLUCION



Haciendo el análisis de regresión lineal considerando como "x" la concentración de los principios activos y como "y" el área de pico tenemos:

|  | Loratadina | Clorh. ambroxol |
|--|------------|-----------------|
| Pendiente (m)                            | 19279.2    | 11611.7         |
| Ordenada al origen (b)                   | 2945.2     | 5462.1          |
| Coef. de correlación (r)                 | 0.99955    | 0.99997         |
| Coef. de determinación (r <sup>2</sup> ) | 0.99910    | 0.99994         |

De acuerdo a los resultados obtenidos para loratadina y para clorhidrato de ambroxol se considerará que el sistema es lineal, ya que r y r<sup>2</sup> se encuentran dentro de los límites señalados,  $r \geq 0.99$  y  $r^2 \geq 0.98$ .

#### 4.3.2 Precisión del sistema.

Los resultados se muestran en la tabla No. 4.28.

Tabla 4.28 Precisión del sistema.

| No. inyección | Factor Respuesta (Kc)<br>Loratadina | Factor Respuesta (Kc)<br>Ambroxol |
|---------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 1             | 19715770                            | 11805794                          |
| 2             | 19685483                            | 11792184                          |
| 3             | 19656630                            | 11760029                          |
| 4             | 19669354                            | 11799940                          |
| 5             | 19615949                            | 11803863                          |
| 6             | 19605017                            | 11800980                          |
| Media         | 19658034                            | 11793798                          |
| CV            | 0.21%                               | 0.15%                             |

El Factor Respuesta es:

$$Kc = \frac{\text{Area de pico del prin. activo}}{\text{Concentración del prin. activo}}$$

De los resultados podemos considerar que el sistema es preciso para los dos principios activos ya que el CV es menor al 1.5%.

#### 4.3.3 Exactitud del método.

Los resultados para exactitud del método se presentan en las tablas Núms. 4.29, 4.30 y 4.31 y en las gráficas Núms. 4.9 y 4.10.

Tabla 4.29 Exactitud del método para loratadina.

| %   | Loratadina adic.<br>(mg) | Loratadina recup.<br>(mg) | % de<br>recuperación |
|-----|--------------------------|---------------------------|----------------------|
| 40  | 2.0140                   | 2.0424                    | 101.41               |
| 60  | 3.0210                   | 3.0170                    | 99.87                |
| 80  | 4.0280                   | 3.9945                    | 99.17                |
| 100 | 5.0350                   | 5.0457                    | 100.21               |
| 120 | 6.0420                   | 6.0221                    | 99.67                |

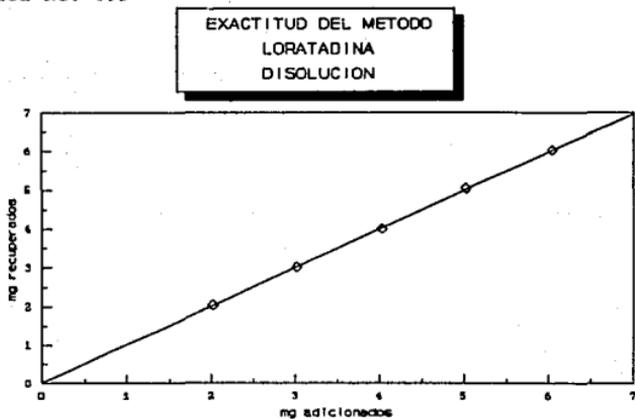
Tabla 4.30 Exactitud del método para clorh. de ambroxol.

| %   | Clorh. ambroxol<br>adic (mg) | Clorh. ambroxol<br>recup (mg) | % de<br>recuperación |
|-----|------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| 40  | 12.0951                      | 12.0951                       | 100.73               |
| 60  | 18.0120                      | 18.3707                       | 101.99               |
| 80  | 24.0160                      | 24.0230                       | 100.03               |
| 100 | 30.0200                      | 29.9955                       | 99.92                |
| 120 | 36.0240                      | 36.1269                       | 100.29               |

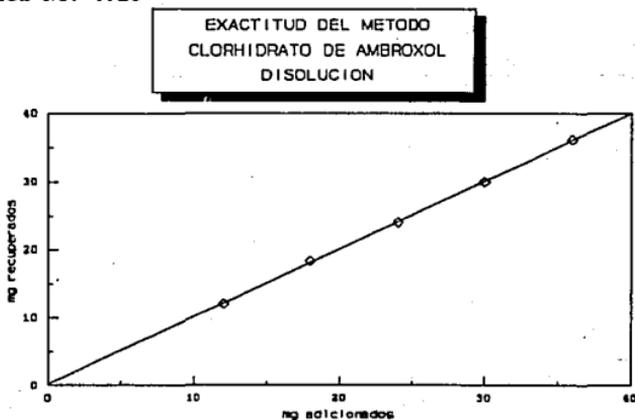
Tabla 4.31 Exactitud del método

|                | Loratadina | Clorh. ambroxol. |
|----------------|------------|------------------|
| m              | 0.9919     | 0.9941           |
| b              | 0.0291     | 0.2469           |
| r <sup>2</sup> | 0.9998     | 0.9998           |
| Prom. %rec     | 100.07     | 100.59           |
| CV             | 0.84%      | 0.84%            |

Gráfica No. 4.9



Gráfica No. 4.10



Del análisis estadístico respectivo obtenemos el intervalo de confianza para la pendiente (ICm) y para la ordenada al origen (ICb).

|      | Loratadina      | Ambroxol        |
|------|-----------------|-----------------|
| ICm: | 0.9812, 1.0025  | 0.9820, 1.0063  |
| ICb: | -0.0111, 0.0693 | -0.1247, 0.6185 |

De los resultados para ambos principios activos podemos señalar los siguientes puntos: la pendiente (m) y ordenada al origen (b) son significativamente iguales a 1 y 0 respectivamente, ya que se encuentran incluidos en los intervalos de confianza correspondientes,  $r^2 \geq 0.98$ ; el porcentaje de recuperación se encuentra entre 98-102% y su respectivo CV  $\leq 2\%$ , por lo que se considera que el método es exacto para el análisis de la prueba de disolución de tabletas de loratadina/clorhidrato de ambroxol.

#### 4.3.4 Estabilidad de la muestra.

Los resultados se encuentran en las tablas Núms. 4.32 y 4.33.

Tabla 4.32 Estabilidad de la muestra para loratadina.

| Muestra | Anal.Inic.<br>(% disuelto) | 3 días T.A.<br>(% disuelto) | 3 días ref.<br>(% disuelto) |
|---------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1       | 95.63                      | 96.69                       | 96.72                       |
| 2       | 98.15                      | 100.97                      | 98.33                       |
| 3       | 98.10                      | 99.01                       | 97.36                       |
| 4       | 98.57                      | 99.39                       | 97.81                       |
| 5       | 95.39                      | 95.46                       | 96.77                       |
| 6       | 94.34                      | 95.07                       | 94.49                       |
| Prom.   | 96.70                      | 97.76                       | 96.91                       |
| CV      | 1.85%                      | 2.43%                       | 1.38%                       |

Tabla 4.33 Estabilidad de la muestra para clorh.ambroxol.

| Muestra | Anal.Inic.<br>(% disuelto) | 3 días T.A.<br>(% disuelto) | 3 días ref.<br>(% disuelto) |
|---------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1       | 92.25                      | 93.29                       | 92.69                       |
| 2       | 93.99                      | 95.08                       | 94.21                       |
| 3       | 92.99                      | 93.76                       | 93.34                       |
| 4       | 90.26                      | 91.11                       | 90.25                       |
| 5       | 92.58                      | 93.65                       | 93.97                       |
| 6       | 90.76                      | 91.92                       | 91.20                       |
| Prom.   | 92.14                      | 93.13                       | 92.61                       |
| CV      | 1.52%                      | 1.52%                       | 1.71%                       |

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos señalar que la muestra es estable al menos por tres días almacenada a temperatura ambiente o en refrigeración.

## **CAPITULO V**

# ***CONCLUSIONES***

Considerando los resultados obtenidos en la validación del método de valoración de tabletas y solución de loratadina y clorhidrato de ambroxol podemos concluir que:

El método propuesto es específico ya que no existen interferencias entre los principios activos, excipientes (en el caso de la solución) y el patrón interno. Aún en las muestras que se sometieron a condiciones extremas el sistema no detecta la presencia de productos de degradación que interfieran con las respuestas de las sustancias de interés.

Las condiciones manejadas en el sistema son las óptimas ya que se combina una buena resolución con un tiempo de análisis adecuado. Además se demuestra (con la resolución) que el método acepta pequeñas modificaciones en las condiciones de operación y análisis y por lo tanto el método es tolerante a estos cambios.

El sistema es lineal y preciso ya que para los dos principios activos el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación son mayores de 0.99 y 0.98 respectivamente, además de tener un coeficiente de variación (CV) menor al 1.5%.

El método es exacto para los dos principios activos en ambas formas farmacéuticas puesto que se obtienen valores de pendiente significativamente iguales a 1, ordenadas al origen significativamente iguales a cero y coeficientes de determinación mayores a 0.98. Así como también porcentajes de recuperación y coeficientes de variación (CV) dentro de los límites (98-102% y  $CV \leq 2\%$ ).

El CV menor al 2% nos señala que el método es reproducible en las formas farmacéuticas manejadas. Además, el análisis de

varianza (ANAEVA) aclara que el método analítico es reproducible por los analistas y es reproducible en distintos días por un mismo analista.

La muestra presenta un comportamiento lineal en el intervalo manejado y su estabilidad es como mínimo de cinco días, manteniendo la muestra a temperatura ambiente o en refrigeración bien tapada.

Respecto a la prueba de disolución podemos señalar lo siguiente:

El sistema es lineal y preciso al estar dentro de los límites para las condiciones manejadas en la prueba (mayor volumen de inyección y concentración diferente -pero proporcional- a la valoración en las soluciones de referencia) cuando se evalúa el coeficiente de correlación, coeficiente de determinación y coeficiente de variación (CV).

Los valores de pendiente, ordenada al origen y coeficiente de determinación obtenidos además del porcentaje de recuperación y su CV nos indican que el método es exacto para los dos principios activos.

La muestra puede ser analizada sin ningún problema a los tres días de ser preparada ya que es estable si se conserva a temperatura ambiente o en refrigeración bien tapada.

Como conclusión general podemos señalar que el presente trabajo permitió alcanzar los objetivos iniciales en forma

satisfactoria, ya que se encontró otra sustancia para emplearse como patrón interno dentro del método propuesto para la valoración cumpliéndose con todos los parámetros de la validación; además de aprovechar el sistema empleado en la valoración para llevar a cabo la prueba de disolución y así cubrir el otro objetivo propuesto.

## **CAPITULO VI**

# ***BIBLIOGRAFIA***

1. Vazquez Luna Isaias.  
*Validación de Procesos.*  
Plática de actualización del grupo de desarrollo.  
Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, México.  
10./julio/1992.
2. Budavari, Susan editor.  
*Merck Index.*  
11th edition.  
Merck & Co., Inc.  
New Jersey, (1989).  
p. 62, 63, 877.
3. Reynolds, James E.F. editor.  
*Martindale/The Extra Pharmacopeia.*  
29th edition.  
The Pharmaceutical Press.  
London, (1989).  
p. 904, 905, 1584.
4. Elks, J. and C.R. Ganellin editors.  
*Dictionary of drugs/Chemical data structures and bibliographies.* Vol. 1.  
Chapman and Hall (Scientific Data Division)  
Great Britain, (1990).  
p. 37, 741.
5. Rosenstein, Emilio.  
*Diccionario de Especialidades Farmacéuticas.*  
38ava. edición.  
Ediciones PLM.  
México, (1992).  
p. 47, 178, 254, 609, 610, 775.

6. **Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación.**  
*Validación de Métodos Analíticos.*  
Secretaría de Salud-Colegio Nacional de Q.F.B.'s  
México, (1991).
7. Jimenez Vargas, Enrique. "Un acercamiento a la validación de los métodos analíticos". 1ra. parte. *Pharma News/Actualización en tecnología farmacéutica.* 1/5:16-17, (1990).
8. Jimenez Vargas, Enrique. "Un acercamiento a la validación de los métodos analíticos". 2da. parte. *Pharma News/Actualización en tecnología farmacéutica.* 1/6:15-20, (1990).
9. McNair, Harold M.  
*Cromatografía de líquidos.*  
OEA. Departamento de Asuntos Científicos y Tecnológicos  
Washington, D.C.
10. Madero Garcia, Sebastián.  
*Principios de Cromatografía Líquida de Alta Resolución.*  
Merck-México S.A.  
México, (1992).
11. Bello, Gerónimo. "La Cromatografía Líquida de Alta Resolución". 1ra. parte. *Pharma News/Actualización en tecnología farmacéutica.* 1/5:28-32, (1990).
12. Sadée, Wolfgang and Gertruida Beelen C.M.  
*Drug level monitoring. Analytical techniques, metabolism and pharmacokinetics.*  
John Wiley & Sons.  
New York, (1980).  
p. 42-49.

13. Kucera, Paul and Nicholas Licato.  
*High Speed HPLC Using Short Columns Packed with 3  $\mu$ m Particles.*  
en: Fong, Godwing W. and Stanley K. Lam.  
*HPLC in the Pharmaceutical Industry.*  
Marcel Dekker, Inc.  
New York, (1991).  
p. 3-11.
14. Olson.  
*Theory and instrumentation.*  
en: Kiyoshi Tsuji and Walter Morozowich, editors.  
*GLC and HPLC: Determination of therapeutic agents.*  
Marcel Dekker, Inc.  
New York, (1978).  
p. 2-13.
15. Abdou, Hamed M.  
*Disolución.*  
en: Remington. *Farmacía.* Vol.1.  
17ava edición.  
Editorial Médica Panamericana.  
Buenos Aires, (1987).  
p. 892-911.
16. Cid Cárcamo, Edison.  
*Cinética de disolución de medicamentos.*  
OEA. Departamento de Asuntos Científicos y Tecnológicos  
Washington, D.C. (1981).
17. Baweja, Raman K. "Dissolution testing of oral solid dosage  
forms using HPLC". *Pharmaceutical Technology.* 11/1:28-36,  
(1987).

18. Hanson, William A.  
*Handbook of Dissolution Testing.*  
Pharmaceutical Technology Publications.  
Oregon, (1982).
  
19. Comisión Permanente de la Farmacopea de los E.U.M.  
*Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.*  
5ta. edición.  
Secretaría de Salud.  
México, (1988).
  
20. Secretary of the USPC Board of Trustees.  
*USP XXII.*  
The United States Pharmacopeial Convention, Inc.  
U.S.A., (1990).
  
21. Hanson, William A.  
*Application of HPLC to Dissolution Testing of Solid Dosage Forms.*  
en: Fong, Godwing W. and Stanley K. Lam.  
*HPLC in the Pharmaceutical Industry.*  
Marcel Dekker, Inc.  
New York, (1991).  
p.173-183.