



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

METODO ANALITICO POR CROMATOGRAFIA DE
LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCION PARA
CUANTIFICAR SULFATO DE QUINIDINA EN UN
PRODUCTO TERMINADO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLÓGICA

P R E S E N T A :

BLANCA ESTELA MADRID GARRIDO



**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.



EXAMEN PROFESIONAL
FAC. DE QUIMICA

JURADO ASIGNADO SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE: ETELVINA MEDRANO BARRA

VOCAL: OFELIA ESPEJO GONZALEZ

SECRETARIO: INES FUENTES NORIEGA

1er. SUPLENTE: CONSUELO ARELLANO BORJAS

2do. SUPLENTE: NORMA TRINIDAD GONZALEZ MONZON

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

FACULTAD DE QUIMICA, UNAM

EN LA DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

DEPARTAMENTO DE BIOFARMACIA

ASESOR DEL TEMA: OFELIA ESPEJO GONZALEZ

SUPERVISOR TECNICO: INES FUENTES NORIEGA

SUSTENTANTE: BLANGA ESTELA MADRID GARRIDO

AGRADECIMIENTOS

A Dios por todo lo bueno y lo malo que me ha sucedido en la vida, ya que esto cada día me hace ser un mejor profesionalista y mejor persona.

A Martha, Blanca y Laura por todo el apoyo que siempre me han dado de una u otra forma, y gracias a ellas soy lo que soy.

A Manuel y a Teresa por que ellos son un ejemplo digno a seguir de que se puede lograr todo con honestidad y rectitud.

A Patty y a Carmen por su amistad, cariño y consejos, además de aportarme sus experiencias como grandes profesionalistas que son.

A Sergio ya que en su momento colaboró conmigo para terminar el trabajo y poder cumplir mis objetivos.

A Hugo, Vanesa y Pepe por que han confiado en mi como estudiante y ahora como profesionalista.

**A mis profesoras (Ofelia, Inés y Margarita)
que me impulsaron a acabar este trabajo y
que son una motivación a actualizarme y a
prepararme día a día.**

INDICE

CAPITULO	PAGINA
I. INTRODUCCION	1
II. GENERALIDADES	2
2.0 Padecimientos cardíacos	2
2.1.1 Arritmia cardíaca	2
2.2 Bases fisiológicas	2
3.0 Bases farmacológicas	6
3.1 Terapia antiarrítmica	13
4.0 Sulfato de Quinidina	13
4.1 Antecedentes históricos	13
4.2 Monografía	13
4.3 Fuentes de obtención	15
4.4 Efecto terapéutico	15
4.5 Interacciones	16
4.6 Farmacocinética	16
4.7 Toxicología	17
5.0 Métodos analíticos para cuantificar quinidina	18
5.1 Métodos analíticos generales	18
5.2 Método farmacopeico para determinar sulfato de quinidina	19
III. PARTE EXPERIMENTAL	
3.1 Método analítico	21
3.11 Equipo	21
3.12 Reactivos y estándares	21
3.13 Preparación de soluciones	22
3.14 Preparación del placebo para la validación del método	25
3.15 Preparación del placebo cargado	25
3.2 Procedimiento	26
3.3 Condiciones cromatográficas	26
3.4 Parámetros del sistema	27
3.4.1 Linealidad	27
3.4.2 Precisión	27
3.5 Parámetros del método	27
3.5.1 Linealidad	27
3.5.2 Precisión	28
3.5.3 Exactitud	28

3.5.3 Exactitud	28
3.5.4 Especificidad	28
3.6 Aplicación del método en un producto comercial	28
IV RESULTADOS	
Cromatogramas	29
Parámetros validados	32
V ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS	42
VI CONCLUSIONES	46
VII BIBLIOGRAFIA	47
ANEXO 1	52

CAPITULO I

INTRODUCCION

A pesar de tratarse de un hecho cotidiano, es importante subrayar la importancia que tiene el establecimiento de métodos analíticos alternos para sustancias de interés farmacéutico, que permitan cuantificar los principios activos contenidos en una forma farmacéutica, verificar la presencia del fármaco en un organismo, u optimizar los que están en uso de tal forma que se puedan llevar a cabo el desarrollo de nuevos medicamentos, es una tarea que debe mantenersse al día.

Este trabajo se inicia con la selección de un método analítico que permitiera la separación y evaluación de alcaloides, derivados de anillos heterocíclicos como la quinolina y la tetrahidroisoquinolina, en sustratos naturales.

Un trabajo preliminar permitió establecer un método para la separación de alcaloides en esos productos.

El presente trabajo, es la aplicación de dicho método a fármacos de naturaleza alcaloidea de uso corriente, dirigido específicamente a la cuantificación de un principio activo de este tipo de medicamento.

Se seleccionó la quinidina por tratarse de un alcaloide con las características mencionadas. La quinidina se utiliza corrientemente como antiarrítmico y en el mercado nacional se puede encontrar en medicamentos del tipo monofármacos o polifármacos.

El trabajo reúne una parte inicial de generalidades sobre el uso de quinidina y la selección de métodos analíticos para su determinación. El trabajo experimental consistió en la realización de un método analítico por CLAR; para cuantificar quinidina en comprimidos y la validación del mismo; las conclusiones y la bibliografía constituyen los últimos capítulos de esta tesis.

CAPITULO II

GENERALIDADES

2.0 PADECIMIENTOS CARDIACOS.

En la actualidad la principal causa de muerte en los países desarrollados la constituyen las enfermedades cardiovasculares. En nuestro país el perfil de morbi-mortalidad de la población se ha modificado enormemente en los últimos años, de tal manera que no son ya las enfermedades infecciosas la principal causa de muerte, sino las de tipo cardiovascular, entre las que se encuentran las arritmias cardíacas, afecciones para las que la prescripción más común es la quinidina.

2.1.1 ARRITMIA CARDIACA.

Es una alteración en la que el latido del corazón que normalmente debería ser constante se vuelve irregular, existiendo la tendencia a aumentar o disminuir el número de latidos por minuto. (Taquicardia o bradicardia respectivamente).

Entre las arritmias más comunes se encuentra la **taquicardia sinusal** que es una aceleración del ritmo cardíaco que supera los límites considerados como normales, ésta se acentúa en relación con la edad. Normalmente la frecuencia cardíaca, varía de 60 a 90 latidos por minuto, por encima de los 100 latidos por minutos en sujetos adultos, podemos hablar de **taquicardia sinusal** cuyo límite máximo es de 160 latidos por minuto.

La bradicardia sinusal es definida como una disminución del ritmo cardíaco, por abajo de los 60 latidos por minuto.

2.2 BASES FISIOLÓGICAS.

El corazón está formado por tres capas: la externa, conocida como el epicardio, la media o miocardio y la interna: endocardio.

El corazón de los mamíferos es un órgano muscular vacío que tiene cuatro cavidades, dos superiores las aurículas y dos inferiores los ventrículos.

En el corazón existen dos tipos de válvulas: las auriculoventriculares y las semilunares, su función estriba en asegurar el paso unidireccional de la sangre de aurículas y ventriculas.

En los mamíferos, el ventrículo derecho impulsa la sangre desoxigenada hacia los pulmones. La sangre oxigenada regresa a la aurícula izquierda siguiendo las venas pulmonares y luego penetra en el ventrículo izquierdo.

El músculo cardíaco consta de un tejido especializado adaptado para conducir la excitación a través del miocardio.

El funcionamiento y la conducción del impulso eléctrico puede explicarse a nivel de potencial de acción transmembrana.

La fibra ventricular en reposo tiene un valor de -80 a -90 mV. Cuando la membrana se despolariza hasta aproximadamente -70 mV, o sea, una caída de potencial de membrana se genera un potencial de acción. La rápida elevación del potencial de acción es consecuencia principalmente de la abertura de las puertas para iones sodio al que la membrana se vuelve permeable. Por lo tanto, los iones penetran al interior de la membrana de la fibra transportando hacia el interior cargas positivas.

Existen datos que indican que una corriente rápida de calcio contribuye a la fase de elevación del potencial de acción. Una vez que se dispara el potencial de acción, el potencial eléctrico de la membrana se invierte hasta un valor de $+30$ mV.

La figura 1 muestra la forma de evolución cronológica del potencial de acción ventricular registrados con un microelectrodo.

La fase de elevación es rápida (aproximadamente 2 mseg) y se denomina (**fase 0**). La repolarización comienza rápidamente (**fase 1**), pero se hace más lenta para constituir la meseta (**fase 2**), después de lo cual hay otra fase de repolarización (**fase 3**) hasta llegar al potencial de reposo. El intervalo entre los potenciales de acción se denomina. (**fase 4**). Durante la fase 4 se restablece la distribución en reposo de los iones por acción de bombas metabólicas.

El **periodo refractario absoluto** del músculo cardíaco dura desde el comienzo del potencial de acción hasta que la membrana se ha repolarizado hasta aproximadamente -50 mV. Unas pocas milésimas de segundo más tarde, cuando la membrana se ha repolarizado hasta quedar entre -55 y -60 mV, una poderosa estimulación eléctrica desencadena un segundo potencial de acción que se propaga; este punto señala al final del **periodo refractario efectivo**. El término **periodo refractario relativo**, incluye la superposición entre los periodos refractarios efectivo y absoluto, pero sigue hasta que se recupera la excitabilidad normal.

Los parámetros del potencial de acción transmembrana que son importantes en la discusión del mecanismo de acción de los fármacos antiarrítmicos son los siguientes: (4)

1. Amplitud del potencial de acción.
2. Duración del potencial de acción. Periodo de tiempo desde que empieza la fase 0 hasta que termina la fase 3.
3. Velocidad de conducción. La velocidad a la cual el estímulo es propagado.
4. Automaticidad. Determinada por la pendiente de la fase 4.
5. Máxima velocidad. Es la pendiente de la curva hasta alcanzar fase 0. Este parámetro es algunas veces reportado como el promedio de la velocidad alcanzada.

6. Excitabilidad. Depende del nivel superior del potencial del umbral.

7. Periodo refractario absoluto. Período que sigue después de empezar la repolarización y durante el cual no hay respuesta al estímulo.

8. Periodo refractario total. Es el resultado de periodos refractarios absolutos y efectivos.

9. Relación entre la velocidad ascendente al nivel de potencial de membrana al cual el potencial de acción es iniciado.

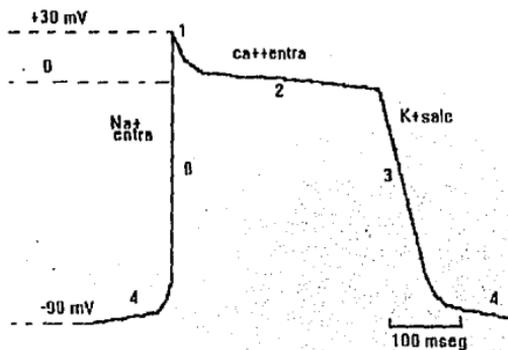


Figura 1

3.0 BASES FARMACOLOGICAS

3.1 TERAPIA ANTIARRITMICA

La terapia del ritmo cardiaco(1) empezó en 1914 cuando Wenckebach reportó que un paciente con malaria que tenía arritmia cardiaca, fue tratado con una mezcla de alcaloides de Cinchona que contenía principalmente quinina, y se observó que su ritmo volvió a la normalidad.

En 1918 Frey estudió la cinchonina, la quinina y la **quinidina**, 1.1 encontrando que los tres tenían propiedades similares en la fibrilación atrial, pero la quinidina fue la más potente. Desde el inicio la quinidina sigue siendo uno de los fármacos más importantes y eficaces para mantener el ritmo normal del corazón. Posteriormente, en 1951, Mark y col. encontraron a la **procainamida** 1.2 efectiva como agente antiarrítmico.

Southworth y col. reportaron en 1950 que el anestésico local **lidocaina** 1.3 también tenía éxito en la taquicardia ventricular, este fármaco ha sido empleado en el tratamiento temprano de arritmias ventriculares asociadas con el infarto al miocardio.

La **Fenitoina** 1.4, es un anticonvulsivo en uso desde 1958, es también efectivo en las arritmias ventriculares, y ha sido ampliamente usado contra las arritmias ventriculares causada por la toxicidad de los digitálicos

Otro fármaco que tiene propiedades antiarrítmicas es el **tosilato de bretilio** 1.5.

El **Propranolol** 1.6 tiene usos clínicos como agente antiarrítmico. Este fármaco desarrollado en 1964, es un potente adrenérgico. Sin embargo, estudios posteriores indican que el propranolol está relacionado con la quinidina en la acción sobre el corazón por sus propiedades bloqueadoras.

Otros fármacos que no son clasificados como agentes antiarrítmicos pero son usados en la terapia de desórdenes del ritmo cardiaco son los **digitálicos** 1.7.

La **Disopiramida 1.8** es usada exitosamente en Europa y tiene un amplio margen de seguridad.

El **Verapamilo 1.9** derivado de la papaverina ha sido utilizado en Europa desde 1966, encontrándose que es efectivo en la fibrilación atrial y la taquicardia preexitatoria, pero es menos eficiente en el tratamiento de las arritmias ventriculares.

La **Mexiletina 1.10** ha mostrado ser eficaz contra las arritmias ventriculares, reportándose que es efectiva por vía oral y tiene un tiempo de vida media largo con niveles efectivos.

Un nuevo medicamento, lo constituye la **2-aminopropiono-2',6'-xilidida 1.11** que posee una estructura similar a la lidocaina y a la mexiletina, y tuvo éxito en el tratamiento experimental de arritmias ventriculares en animales.

La **Amiodarona 1.12** inicialmente usada en el tratamiento de la angina de pecho, parece ser efectiva como agente antiarrítmico después de una administración oral prolongada. Este fármaco mimetiza y alarga la duración del potencial de acción cardíaco.

La **Aprindina 1.13** se informa como efectiva, presentando una acción prolongada. Es eficaz para prevenir las arritmias ventriculares asociadas con infarto al miocardio.

Otro fármaco que en animales ha demostrado tener propiedades antiarrítmicas es la **4-carbamiloxi-1-[4-(4-fluorofenil)-4-oxibutil]decahidroquinolina 1.14**. Es efectiva por vía oral, tiene larga acción y posee una acción similar a la de la quinidina.

La **Propafenona 1.15** se probó en Alemania en humanos. Su efectividad puede resultar de la combinación de sus propiedades β -bloqueadoras y anestésicas.

El **Difenidol 1.16** es eficaz en arritmias inducidas por digitálicos en perros y en intoxicación por digitálicos en humanos. Se ha propuesto para uso clínico.

Recientemente se renovó el interés por la lidocaina para el tratamiento de las arritmias ventriculares, por lo que se sintetizó el **Cloruro de N,N-Bis(fenilcarbamoilmetil)dimetilamonio 1.17** una sal de amonio cuaternario derivado de la lidocaina. El compuesto tuvo éxito en el tratamiento de algunos tipos de arritmias ventriculares, especialmente para arritmias provocadas por el periodo refractario. El compuesto antes mencionado posee una larga acción. Sin embargo, tratándose de una molécula cargada positivamente no penetra la barrera hematoencefálica.

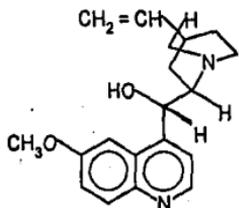
El **Cloruro de o-Iodobenciltrimetilamonio 1.18** es un análogo del bretilio que ha demostrado ser efectivo en la prevención de la fibrilación ventricular en perros que han sufrido inducción experimental de infarto al miocardio. Este compuesto es potencialmente peligroso por sus efectos simpaticomiméticos. Con el compuesto marcado con ¹³¹I se sabe que se localiza en el tejido cardíaco, por lo que también se ha propuesto su uso como agente para uso en radiología.

El esteroide, identificado como **3-amino-5-androstan-2-ol-17-ona 1.19** posee una potente actividad antiarrítmica. Este compuesto antagoniza las arritmias inducidas por aconitina en ratas, y fue siete veces más potente y cinco veces menos tóxico que la lidocaina por vía intravenosa. El compuesto fue más efectivo oralmente a dosis más bajas que la lidocaina administrada por vía intravenosa y fue similar en potencia a la lidocaina en la taquicardia ventricular inducida con ouabaina en perros. Dosis protectoras del compuesto fueron efectivas 18 y 24 horas después de administración oral e intravenosa, respectivamente. El compuesto carece de actividad anestésica local y propiedades β -bloqueadoras.

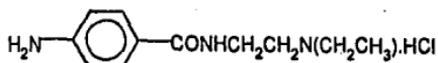
La presencia de muchos agentes antiarrítmicos efectivos, de larga acción y menores efectos tóxicos es alentadora para la clínica.

Cuando se considera el tratamiento de las arritmias cardíacas, hay que escoger el fármaco más conveniente basado en el completo conocimiento de las bases patológicas que causan el desorden.

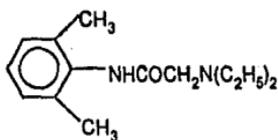
TABLA 1



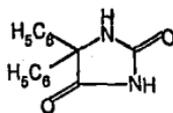
QUINIDINA 1.1



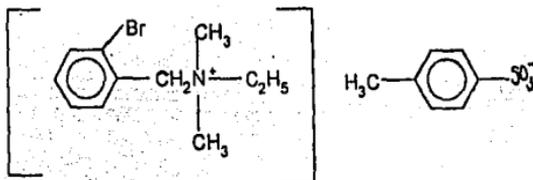
PROCAINAMIDA 1.2



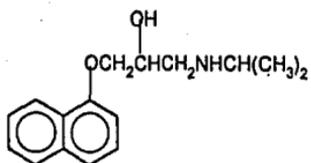
LIDOCAINA 1.3



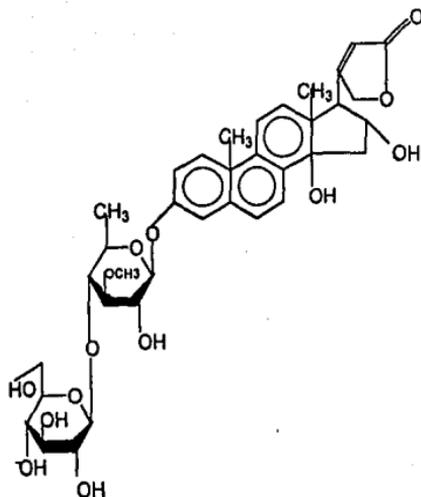
FENITOINA 1.4



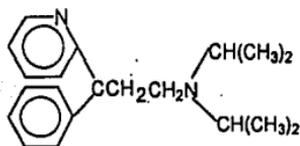
TOSILATO DE BRETILIO 1.5



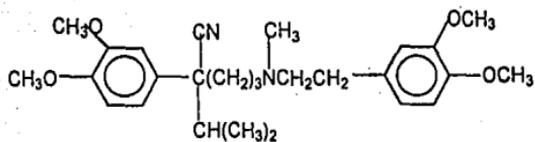
PROPRANOLOL 1.6



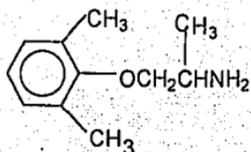
DIGITALICOS 1.7



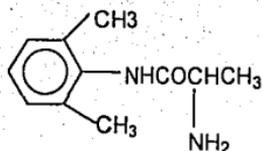
DIBOPIRAMIDA 1.8



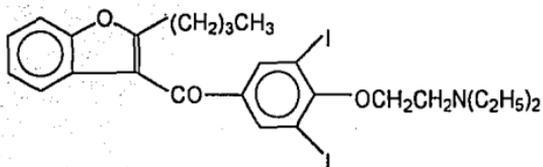
VERAPAMILO 1.9



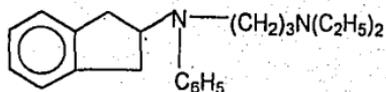
MEXILETINA 1.10



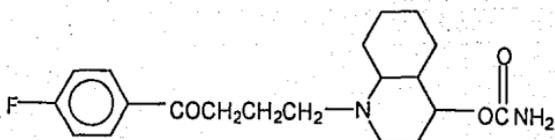
AMINOPROPIONOXILIDIDA 1.11



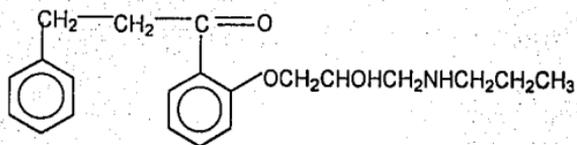
AMIODARONA 1.12



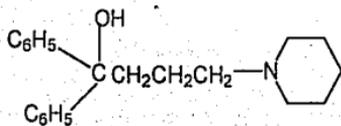
APRINDINA 1.13



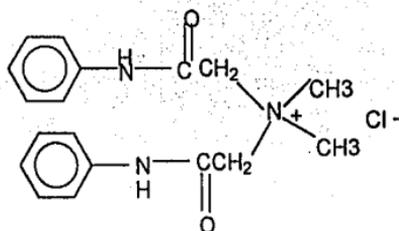
DECAHIDROQUINOLINA (1.14)



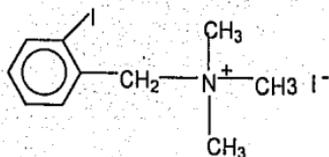
PROPAFENONA 1.15



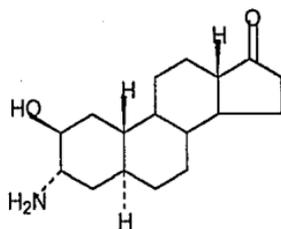
DIFENIDOL 1.16



(FENILCARBAMOILMETIL) DIMETILAMONIO 1.1'



CLORURO DE
O⁻ IODOBENCILTRIMETILAMONIO 1.18



3-AMINO
-5-ANDROSTANOLONA 1.19

4.0 SULFATO DE QUINIDINA

4.1 ANTECEDENTES HISTORICOS

-1749 Uso de la corteza de la quina en la fibrilación auricular por Jean-Baptiste de Senac.

-1848 Descubrimiento de la quinidina por Van Heyningen. Se observó que pacientes con malaria que tenían fibrilación auricular se curaban de su arritmia con estos fármacos.

-1853 Nombrada y preparada por Pasteur.

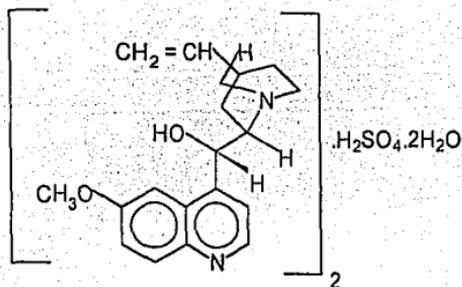
-1914 Wenckback describe el efecto de los alcaloides de la quina en arritmias cardíacas.

-1918 Frey comprueba que la quinidina es la más efectiva después que estudió los otros alcaloides.

4.2 MONOGRAFIA.

Nombre genérico: Sulfato de quinidina.

Fórmula estructural:



SULFATO DE QUINIDINA

Fórmula condensada: $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$

P.M.: 783.0

Nombre químico: 6-metoxi-(5-vinil-2-quinuclidil)-4-quinolin-metanol; -(6-metoxi-4-quinolil)-5-vinil-2-quiniclidinametanol.

Nombres comerciales: Cin-Quin, Quinidex, Quinicardina, Quinitex, Quinora. (en México: Quinidurules, Cardiosedinkutz).

Descripción: Polvo blanco, inodoro, de sabor amargo, se oscurece a la exposición de la luz, contiene no más del 15% de sulfato de dihidroquinidina. No pierde el agua de hidratación abajo de 120°.

Punto de fusión: 174 -- 175°

Índice de rotación $[\alpha]_D^{15} = +230^\circ$ (c= 1.8 en cloroformo)

$[\alpha]_D^{15} = +322^\circ$ (c= 1.6 en HCl 2M)

Longitud de onda de máxima absorción: 235 nm. Anexo 1.

Solubilidad: Un gramo se disuelve en 90 mililitros de agua, 15 mililitros de agua caliente, 10 mililitros de alcohol, 3 mililitros de metanol, 12 mililitros de cloroformo. Insoluble en éter y benceno.

pH = 6 en 1:200 en agua

pK₁ a 20° = 5.4 en agua

pK₂ a 20° = 10.0 en agua

4.3 FUENTES DE OBTENCION.

Por tratamiento de la quinidina con un alcohòxido metàlico o por oxidaciòn dela quinidina a quinona y luego reduciendo con isopropòxido de sodio (19,20).

Tambièn puede ser obtenida directamente de las aguas madres remanentes despuès de obtener la quinidina de los extractos de Cinchona separando la cinchonina y otros alcaloides.

4.4 EFECTO TERAPEUTICO.

Fàrmaco utilizado para el tratamiento de las arritmias supraventriculares y ventriculares.

Mecanismo de acciòn (3)

- a) Depresiòn general del corazòn.
- b) Incremento en el periodo refractario (5). Aumentan los efectos de despolarizaciòn y repolarizaciòn.
- c) Depresiòn en el ritmo, disminuciòn en la velocidad de conducciòn.
- d) Afecta la permeabilidad de la cèlula, la salida de Na^+ y la entrada de K^+ . Este efecto se encuentra descrito en la secciòn de bases fisiològicas.

Via de administraciòn:

En la pràctica se toma por via oral, aunque puede administrarse por via intramuscular en circunstancias especiales.

Dosis:

La dosis oral habitual es de 300 a 500 mg. cuatro veces por dia.

Índice Terapéutico:

3-6 mcg/ml

4.5 INTERACCIONES

- Si se administra con fármacos como el fenobarbital o la fenitoína (8), los cuales inducen enzimas metabolizadoras hepáticas, pueden acortar significativamente la duración de la acción de la quinidina, ya que su velocidad de eliminación aumenta.

- La concentración de digoxina aumenta (13,14,18).

- Aumento en el tiempo de protombina con warfarina (3).

- Potenciación con propranolol (10).

- Con antiácidos que alcalinizan la orina pueden aumentar la reabsorción renal tubular de quinidina (11) y puede inducir el incremento de niveles plasmáticos de quinidina.

4.6 FARMACOCINETICA (4,6).

Vd = 2 a 3 litros por Kg.

Absorción: Se absorbe rápidamente y las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan en 60 a 90 minutos. La absorción de gluconato de quinidina es un poco más lenta (8) Las reacciones tóxicas ocurren arriba de 8 mcg/ml. Alrededor del 70 al 80% está ligada a la albúmina del plasma.

Distribución: Se acumula rápidamente en la mayoría de los tejidos, excepto el cerebro (5), se localiza en el sarcolema y las mitocondrias del corazón.

Metabolismo: Es metabolizada por el hígado. Los metabolitos que se eliminan por la orina se hidroxilan únicamente en un sitio, ya sea en el anillo de la quinolina o de la quinuclidina.

Eliminación: Se excreta por la orina, el tiempo medio de eliminación es de unas 6 horas, como es una base débil la excreción aumenta si la orina es ácida. El tiempo de vida media de eliminación es aproximadamente 6 horas.

4.7 TOXICOLOGIA.

- Hipotensión significativa.
- Embolia arterial.
- Tinnitus, pérdida de la audición, visión borrosa, molestias gastrointestinales.

5.0 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA CUANTIFICAR QUINIDINA.

5.1 MÉTODOS ANALÍTICOS GENERALES.

Existen diferentes métodos analíticos para cuantificar el sulfato de quinidina, ya sea en preparaciones farmacéuticas, en plantas, en fluidos biológicos o simplemente como materia prima.

Entre éstos se encuentran la cuantificación por fluorometría (21,23) en que la muestra previamente se ha disuelto en ácido sulfúrico.

Existen también métodos por TLC (21,23) que permiten separar la quinina de la quinidina, epiquinidina, cinconidina, cinconina y quinonina. De acuerdo al sistema también se pueden separar los dihidroalcaloides de sus respectivos alcaloides vinílicos, o los epialcaloides de los dihidroalcaloides.

Otro método para cuantificar y separ los alcaloides vinílicos de los dehidroanálogos es la cromatografía de gases (21) en donde previamente se han formado los derivados por metilación.

Una técnica que también se ha empleado para cuantificar hidroquinidina (contaminante natural de la quinidina) en mezclas en donde está presente la quinidina, es la resonancia magnético nuclear (28).

La técnica más empleada en la actualidad es la cromatografía de líquidos, porque permite utilizar diferentes fases de soporte en la columna (de intercambio iónico, de fase reversa, o directa), y también distintos detectores etc. (24).

Se han desarrollado métodos en muestras de plasmas para determinar quinidina y dihidroquinidina empleando una columna de intercambio catiónico a una absorbancia de 230 nm. utilizando como estándar interno la cinconina (25).

Otra modificación al método, consiste en emplear una columna C18 empleando detección de fluorescencia. Este método permite determinar la quinidina y la hidroquinidina (24).

Otros métodos consisten en la determinación de quinidina y sus metabolitos en plasma empleando fase normal y detector UV a 235 nm (25). Existen métodos para detectar impurezas en preparaciones farmacéuticas (26,27), o bien para separar los alcaloides cinchona, o la determinación simultánea de varios agentes antiarrítmicos (28,29).

5.2M ETODO FARMACOPEICO PARA DETERMINAR SULFATO DE QUINIDINA

- Reactivos.

Acido metanosulfónico: Adicionar 35 ml de ácido metanosulfónico a 20 ml de ácido acético glacial y diluir con agua a 500 ml.

Solución de dietilamina: Disolver 10 ml de dietilamina en 100 ml de agua.

Fase móvil: Agua acetonitrilo, ácido metanosulfónico y solución de dietilamina (860: 100: 20: 20). Se ajusta con dietilamina a un pH de 2.6.

Estándar: Pesar 20 mg de sulfato de quinidina, disolver y aforar a 100 ml con fase móvil.

Muestra: Pesar y moler no menos de 20 tabletas, transferir a un matraz aforado de 100 ml una porción de polvo, equivalente a 160 mg de sulfato de quinidina, adicionar 80 ml de metanol, agitar durante 30 minutos y aforar con metanol, filtrar desechando los primeros 10 ml del filtrado. Tomar una alícuota de 3 ml y diluir a 25 ml con fase móvil.

Condiciones cromatográficas:

- Volumen de inyección 50 µl.

- Longitud de onda: 235 nm.

- Columna soporte C18 de 3.9 mm x 30 cm.

La fórmula para calcular la cantidad en mg de la suma de sulfato de quinidina y sulfato de dihidroquinidina en la porción tomada de polvo es la siguiente:

$$(2500/3) C(r_{b,u} + r_{d,u}) / (r_{b,s} + r_{d,s}),$$

en donde C es la concentración en mg/ml, de estándar de sulfato de quinidina, $r_{b,u}$ y $r_{b,s}$ son las respuestas de la quinidina obtenidas de la muestra y el estándar respectivamente y $r_{d,u}$ y $r_{d,s}$ son las respuestas de la hidroxiquinidina obtenidas de la muestra y el estándar respectivamente.

Tiempo de retención de la quinidina: 1 minuto.

Tiempo de retención de la dihidroquinidina: 1,5 minutos.

La resolución entre los picos es de 1.2.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 METODO ANALITICO

3.1.1 Equipo

-Cromatógrafo de líquidos Millipore Walters equipado con dos bombas modelo M-45. Un detector UV Lambda Max No. 481 y un integrador 33745/745B.

- Columna de acero inoxidable de 25 cm de longitud con 4.6 mm de diámetro interno, empacada con un soporte C₁₈, ultrasphere ODS 5μ marca Beckman Instruments.

- Balanza analítica marca Sartorius 200. Agitador vortex. Baño ultrasónico marca Cole Parmer 8851.

- Equipo de filtración Millipore, matraces aforados y pipetas volumétricas marca Pyrex previamente lavados con extrán y enjugados con agua desionizada.

3.12 Reactivos y estándares.

3.12.1 Reactivos.

- Metanol grado HPLC Mallincrodt.
- Agua desionizada por una membrana.
- Acido fosfórico al 85% Merck.
- Trietilamina.
- Metanol grado reactivo Merck.3.12
- Sulfato de quinidina estándar secundario lote MPL-9540MD050 proporcionado por CAFET y ASTRA.
- Etilparabeno, estándar secundario, lote número 97F-3565 donado por SYNTEX.

3.12. Reactivos.

- Metanol grado HPLC de Mallincrodt.
- Agua desionizada y filtrada por una membrana.
- Acido fosfórico al 85% de Merck.
- Trietilamina.

Metanol grado reactivo Merck.

3.13 Preparación de soluciones.

- Solución reguladora de fosfato de trietilamomio.

Se mezclan 10 ml de trietilamina con 80 ml de agua desionizada, agitando para incorporar ambas fases y se ajusta el PH a 2.2. con ácido ortofosfórico al 85%.

Se probó la conducta lineal del método para sulfato de quinidina con concentraciones que van desde 60% hasta 140% con las siguientes concentraciones:

- **Solución I.** Se preparó una solución madre de estándar de sulfato de quinidina, se pesan 20 mg y disolver en 100 ml de metanol, su concentración es de 200 mg/ml.

Solución II. Solución madre de estandar interno de etilparabeno. Se pesan 45 mg y se disuelven en 100 ml en metanol, su concentración es de 450 mg/ml.

DILUCIONES. (Ver diagrama 1).

Solución A. De la solución I (que tiene una concentración de 200 mcg/ml se hace una dilución). Se toman 4 ml con una pipeta volumétrica y se depositan en un matraz volumétrico de 50 ml.

Por otro lado, se pipetea 4 ml de la solución de etilparabeno, que tiene una concentración de 450 mcg/ml, y se depositan en el mismo matraz, se afora con

metanol. Esta solución tiene una concentración de 16 mcg/ml que corresponde al porcentaje del 60% de sulfato de quinidina, y una concentración de 36 mcg/ml de etilparabeno que es el estándar interno.

Solución B. De la solución I se pipetea con una pipeta volumétrica 5 ml y se depositan en un matraz volumétrico de 50 ml, pipetear de la solución madre de etilparabeno 4 ml y depositarlos ahí mismo, aforar a la marca con metanol. Esta solución tiene una concentración de sulfato de quinidina de 20 mcg/ml que equivale al 80% y una concentración de etilparabeno de 36 mcg/ml.

Solución C Se toman de la solución I (conc. de 200 mcg/ml) 3 ml y se colocan en un matraz volumétrico de 25 ml, y depositar también en el mismo matraz 2 ml de estándar interno y se afora con metanol, la solución tiene una concentración de 24 mcg/ml de sulfato de quinidina que corresponde al 100% de la curva patrón y una concentración de 36 mcg/ml de estándar interno.

Solución D. Se toman 4 ml de la solución I y 2 ml de la solución II del estándar interno y se afora a 25 ml con metanol; la solución tiene una concentración de 32 mcg/ml de sulfato de quinidina que corresponde al 120% y una concentración de estándar interno de 36 mcg/ml.

Solución E. Se toman 5 ml de la solución I y se depositan en un matraz volumétrico de 25 ml, se depositan también 2 ml de la solución II de estándar interno y se afora, la solución tiene una concentración de 40 mcg/ml de sulfato de quinidina que equivale al 140% y 36 mcg/ml de etilparabeno. Cada concentración se inyectó al cromatógrafo por duplicado. (Diagrama 1).

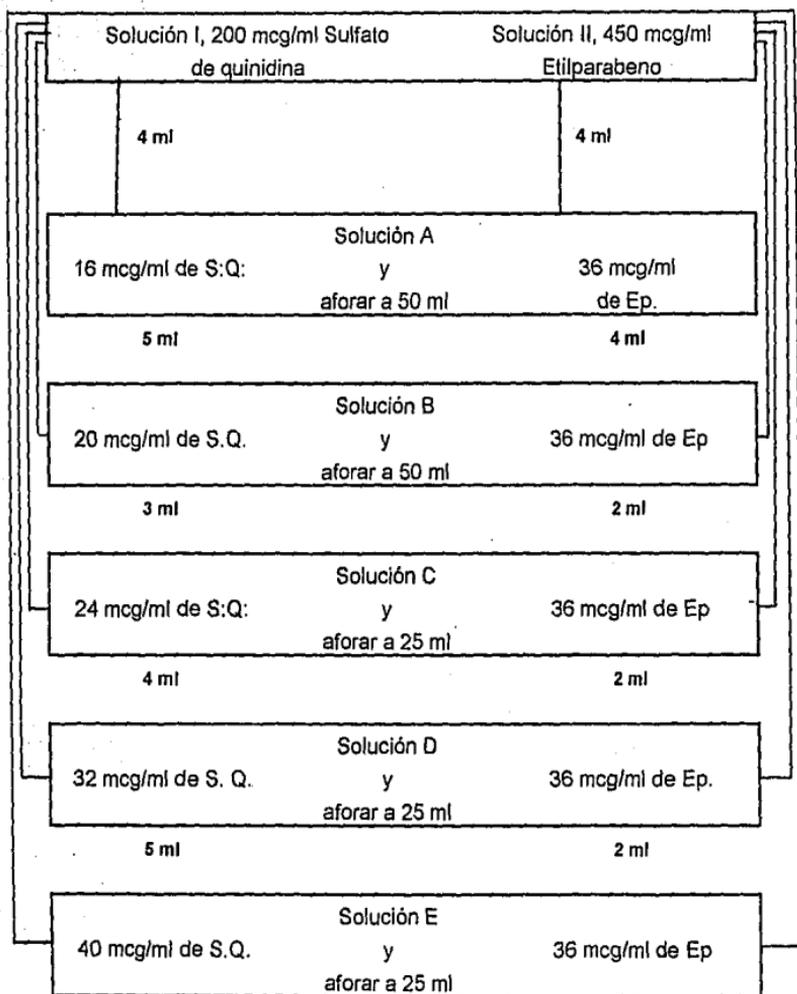


Diagrama 1

3.14 Preparación del placebo para la validación del método

Para determinar la linealidad del método se preparó el siguiente placebo de liberación prolongada:

Lactosa.....	75 mg
Almidón de maíz.....	60 mg
PVP.....	23 mg
Eudragit RS.....	30 mg
Talco.....	12 mg

Se pesaron 400 mg de sulfato de quinidina y 700 mg de placebo, se mezclaron los polvos perfectamente en un mortero. Esta mezcla es también llamada placebo cargado.

3.15 Preparación del placebo cargado

Para determinar la linealidad del método se pesó el equivalente del placebo cargado para obtener 12, 16, 20, y 24 mg de sulfato de quinidina. Para obtener 12 mg de quinidina se pesaron 33 mg de placebo cargado. Esta pesada se realizó por triplicado. De la misma manera se pesaron tres veces 44 mg de mezcla, la cual lleva 16 mg de sulfato de quinidina. Luego se pesaron 6 veces 55 mg de placebo para obtener 20 mg de quinidina, en este punto de la curva que es el 100% se efectúan seis pesadas para obtener la exactitud del método.

Se pesaron por triplicado 66 mg de placebo cargado, para obtener 24 mg de sulfato de quinidina, y finalmente se hicieron tres pesadas de 77 mg de mezcla para obtener 28 mg de sulfato de quinidina, como lo indica la tabla no 1 y se cuantificaron siguiendo el procedimiento descrito en la sección 3.2.

3.2 Procedimiento.

Tabla no. 1. Procedimiento para obtener la curva para determinar la linealidad y exactitud del método.

No. de pesadas	% de Sulfato de quinidina	mg (mezcla) (Quin + Plc)	mg (Sulfato de quinidina)	mg (placebo)	Aforo (ml)
3	60	33	12	21	100
3	80	44	16	28	100
6	100	55	20	35	100
3	120	66	24	42	100
3	140	77	28	49	100

Después de efectuar cada una de las pesadas arriba mencionadas se depositan en un matraz volumétrico de 100 ml, se adicionan 50 ml de metanol, se agita en un vortex durante diez minutos y se afora a la marca con metanol. Se filtra a través de papel filtro (Wathman no. 1), desechando la primera porción del filtrado, se toman tres ml del filtrado y se depositan en un matraz volumétrico de 25 ml llevando a la marca con metanol. (Diagrama 2).

Se inyectan por duplicado 25 mcl al cromatógrafo de cada una de las pesadas. Las condiciones del cromatógrafo se examinan en el inciso 3.3.

3.3 Condiciones cromatográficas.

-Fase móvil: Metanol HPLC, agua desionizada y solución reguladora de fosfato de trietilaamonio, en las siguientes proporciones: 60:39:1, filtrada por una membrana Millipore de 0.45 micras y desgasificada en un baño ultrasónico por 20 minutos, el pH de la fase móvil es de 3.5.

- a) Volumen de inyección: 25 mcl.
- b) Atenuación: 256
- c) Sensibilidad: 0.5 AUFS.
- d) Longitud de onda: 235 nm.
- e) Flujo: 1.0 ml/min.

3.4 Parámetros del sistema

3.4.1 Linealidad.

Para determinar la linealidad del sistema, se prepararon 6 curvas patrón de sulfato de quinidina (cada punto de la curva lleva una concentración constante de estandar interno) en el intervalo de concentraciones de 16 a 40 mcg/ml, en cada uno de los dos días se hicieron tres curvas patrón diferentes (Tabla 4.1 y 4.2).

El criterio para establecer la concentración de la curva patrón se basó en la formulación de cada uno de los productos farmacéuticos disponibles en el mercado nacional. Producto A.

3.4.2 Precisión.

Para determinar la precisión del sistema se prepararon 6 curvas patrón en dos días distintos; de 16 a 40 mcg/ml inyectando cada punto por duplicado y se obtuvo el coeficiente de variación. (Tabla no. 4.3 y 4.4).

3.5 Parámetros del Método.

3.5.1 Linealidad.

Se determinó con placebos cargados del principio activo con cinco concentraciones diferentes incluyendo el 100%, haciendo tres pesadas de cada concentración e inyectando cada muestra por duplicado (Tabla 4.5).

3.5.2 Precisión.

Para determinar la precisión del método se obtuvieron los coeficientes de variación de los resultados de la curva de exactitud (Tabla no.4.6).

3.5.3 Exactitud.

Se determinó preparando seis placebos cargados diferentes, a la concentración del 100% (de la linealidad del método se ocuparon tres placebos cargados y solamente se prepararon otros tres), e inyectando por duplicado cada muestra (Tabla no.4.7).

3.5.4. Especificidad.

El placebo se disolvió en metanol y se hizo una inyección previa para observar si había interferencia de algún pico del placebo con los picos de la quinidina o del estándar interno y de esta manera comprobar la especificidad del método (figura 1).

3.6 Aplicación del método en producto comercial.

Se aplicó el método a un producto del mercado nacional, (producto A) con forma farmacéutica de grageas de liberación prolongada.

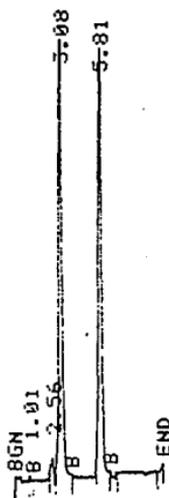
Se pulverizaron 10 grageas, se pesó una muestra equivalente a 20 mg de sulfato de quinidina y se utilizó el mismo procedimiento descrito en la sección 3.2. Se obtuvo el porcentaje de sulfato de quinidina, haciendo el cálculo con las alturas. (Diagrama 2).

CAPITULO IV

RESULTADOS

CROMATOGRAMAS

4.1 Sulfato de Quinidina y Estándar Interno



4.2 Especificidad del Método, comparación con Placebo

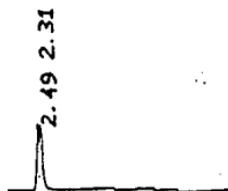


Figura 1

4.3 APLICACION DEL METODO
(SULFATO DE QUINIDINA Y ESTANDAR INTERNO)



Figura no. 2

4.3.1 APLICACION DEL METODO A UN PRODUCTO TERMINADO

Determinación de la cantidad de sulfato de quinidina por tableta. Cálculos (resultado en mg).

$$\text{mg/tab.} = C(\text{std}) (\text{hmrta} / \text{hrstd}) \text{ aforos} / \text{alícuotas p.p.} / w (\text{mtra})$$

donde:

C(std) es la concentración del estandar en mg/ml

hmrta, es la altura relativa de la muestra = 1.417,

hrstd, es la altura relativa del estandar = 1.410

p.p. es el peso promedio de 20 tabletas y

w(mtra) es el peso de la muestra en mg = 554.0.

Peso promedio: 0.5530, 0.5491, 0.5502, 0.5230, 0.5412, 0.5551, 0.5600
0.5551, 0.5597, 0.5528, 0.5677, 0.5598, 0.5501, 0.5602
0.5501, 0.5434, 0.5525, 0.5507, 0.5619, 0.5521.

$$\bar{x} = 0.5523$$

Sustituyendo en la fórmula tenemos que:

$$\text{mg/ tab} = 20 \text{ mg} / 100 * 3/25 * (1.417/1.410) * 25 * 100 / 3 * 552.3 / 554$$

$$\text{mg/tab} = 20.80$$

$$\% = 20.80 * 100 / 20 = 103.54\%$$

LINEALIDAD DEL SISTEMA

DÍA 1

Para determinar la linealidad del sistema se prepararon seis curvas patrón, en dos días distintos; las concentraciones van de 16 a 40 mcg/ml y se calculó la pendiente, el intercepto y el coeficiente de correlación. (Tabla no. 4.1 y 4.2).

Tabla no. 4.1. Linealidad del sistema.

Concentración (mcg/ml)	R1	R2	R3	R
16	1.206	1.199	1.240	1.215
20	1.675	1.489	1.589	1.577
24	1.846	1.831	1.840	1.839
32	2.428	2.387	2.457	2.424
40	2.998	2.977	3.083	3.019
m	0.071	0.073	0.076	m = 0.0740
b	0.133	0.023	0.022	b = 0.0596
r ²	0.995	0.999	0.999	r = 0.9994

Las concentraciones arriba expresadas se refieren a la concentración del sulfato de quinidina. R es la altura relativa promedio, es decir, el resultado de dividir la altura del pico del sulfato de quinidina por la altura del estándar interno, y promedio porque se inyectó por duplicado.

LINEALIDAD DEL SISTEMA

DIA 2

Tabla no. 4.2 Linealidad del sistema.

Concentración (mcg/ml)	R1	R2	R3	R
16	1.0606	1.0740	1.0923	1.0756
20	1.3385	1.3483	1.3333	1.3400
24	1.5606	1.5945	1.5605	1.5718
32	2.0846	2.1174	2.0436	2.0818
40	2.6363	2.6187	2.6363	2.6304
m	0.0651	0.0642	0.0637	m = 0.0644
b	0.0160	0.0546	0.0505	b = 0.0403
r2	0.9996	0.9999	0.9985	r2 = 0.9997

PRECISION DEL SISTEMA

DIA 1

Para determinar la precisión del sistema se obtuvo la desviación estandar y el coeficiente de variación de las tres curvas realizadas en un mismo día.

Tabla no. 4.3. Precisión del sistema.

Conc. (ncg/ml)	R1	R2	R3	R	D.E:	C.V. (%)
16	1.206	1.199	1.240	1.215	0.021	1.80
20	1.675	1.489	1.569	1.577	0.093	5.91
24	1.846	1.831	1.840	1.839	0.007	0.41
32	2.428	2.387	2.457	2.424	0.035	1.45
40	2.998	2.977	3.083	3.019	0.056	1.86

R es el promedio de tres curvas realizadas en un día.

D.E: es la desviación estandar

C.V: es el coeficiente de variación.

PRECISION DEL SISTEMA
DÍA 2

Tabla no. 4.4 Precisión del sistema.

Concentración (mcg/ml)	R1	R2	R3	R	D.E.	C.V. (%)
16	1.0606	1.0740	1.0923	1.0756	0.0159	1.47
20	1.3385	1.3483	1.3333	1.3400	0.0076	0.56
24	1.5606	1.5945	1.5605	1.5718	0.0196	1.24
32	2.0846	2.1174	2.0436	2.0819	0.0370	1.77
40	2.6363	2.6187	2.6363	2.6304	0.0101	0.38

LINEALIDAD DEL METODO

Para obtener la linealidad del método se grafican los resultados de cada concentración de sulfato de quinidina que lleva la mezcla contra la respuesta que es la relación de alturas, obteniéndose el intercepto, la pendiente y el coeficiente de correlación.

Tabla no. 4.5. Linealidad del método por CLAR.

mg (mezcla)	Concentración (mcg/ml)	R	R
33	14.4	0.9169 0.8991 0.8917	0.9025
44	19.2	1.1902 1.2160 1.2038	1.2033
55	24.0	1.4706 1.5190 1.5263 1.4999 1.5043 1.5351	1.5092
66	28.8	1.8035 1.8408 1.8008	1.8150
77	33.6	2.1056 2.1061 2.0768	2.0961
m = 0.0624		b = 0.0057	r = 0.9998

PRECISION DEL METODO

Para determinar la precisión del método se calculó el coeficiente de variación de los datos de cada una de las pesadas de los datos de linealidad del método.

Tabla 4.6. Precisión del método por CLAR para cuantificar sulfato de quinidina.

mg (mezcla)	Concentración (mcg/ml)	R	D.E.	C.V: (%)
33	14.4	0.9025	0.0129	1.43
44	19.2	1.2033	0.0129	1.07
55	24.0	1.5092	0.0230	1.52
66	28.8	1.8150	0.2230	1.23
77	33.6	2.0961	0.0167	0.80

EXACTITUD DEL METODO

Para determinar la exactitud se grafican los miligramos adicionados de sulfato de quinidina al placebo vs. miligramos recuperados después de hacer la extracción, obteniéndose el porcentaje recuperado para así poder obtener el intervalo de confianza para la media.

Tabla no. 4.7. Exactitud del método por CLAR para cuantificar quinidina.

mezcla (placebo)	mg adicionados de sulfato de quinidina	mg recuperados	% recuperado	Intervalo de confianza
33	12	11.40	95.13	94.34 - 95.91
44	16	15.20	95.08	94.49 - 95.86
55	20	19.06	95.36	93.19 - 97.52
66	24	22.93	95.56	92.64 - 98.47
77	28	26.48	94.59	92.72 - 98.45
m 0.9472		b = 0.069	r = 0.9998	

El término mezcla se refiere al placebo cargado, o sea a la mezcla de sulfato de quinidina y formulación de liberación prolongada.

Los mg adicionados son los mg de sulfato de quinidina que se agregaron a cada una de las mezclas de la columna 1.

Los mg recuperados son de sulfato de quinidina después de extraer y aplicar el método.

El % de recuperación es la relación de mg adicionados y los mg recuperados.

El Intervalo de confianza para la media al 0.975 de probabilidad.

**PROCEDIMIENTO PARA ANALISIS DEL PRODUCTO TERMINADO.
(APLICACION DEL METODO)**

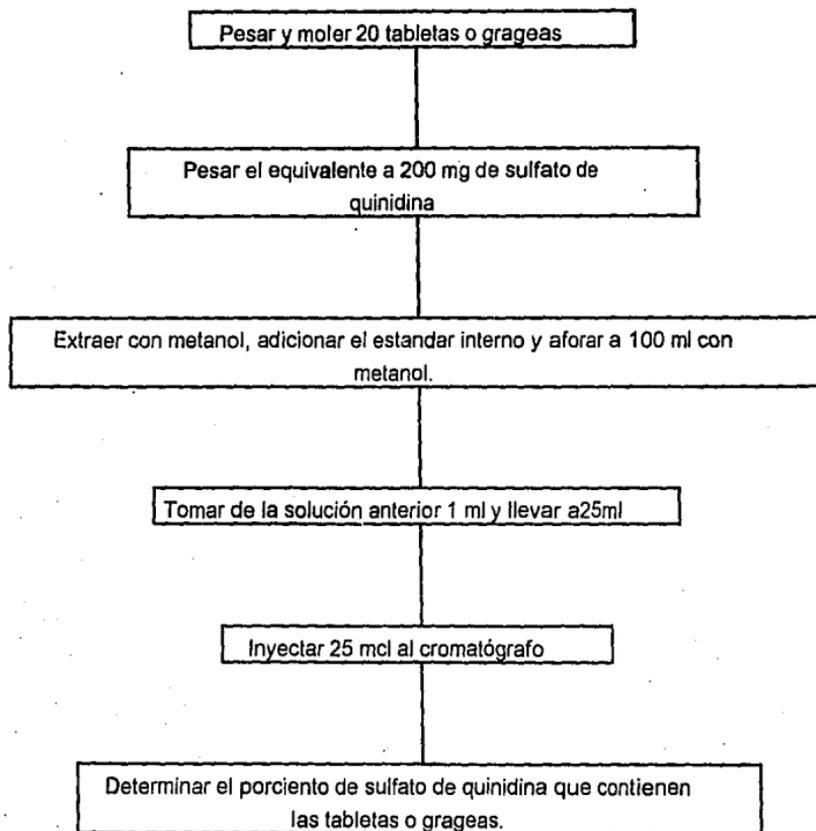
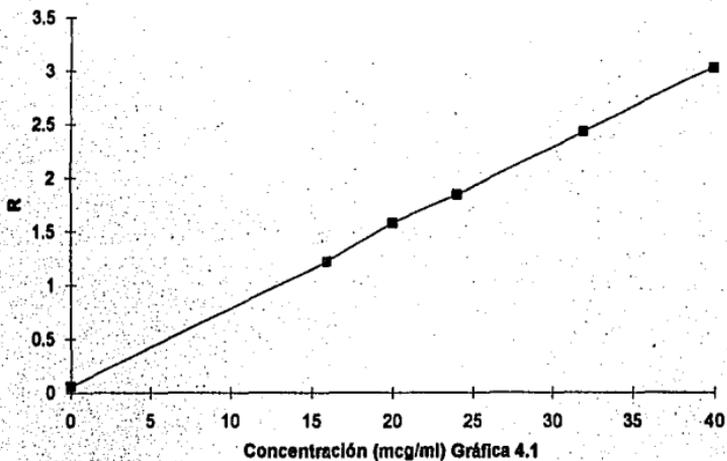
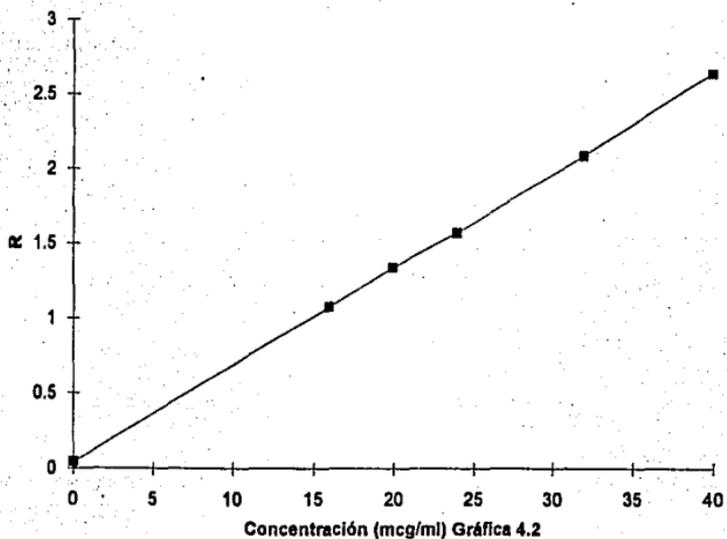


Diagrama 2

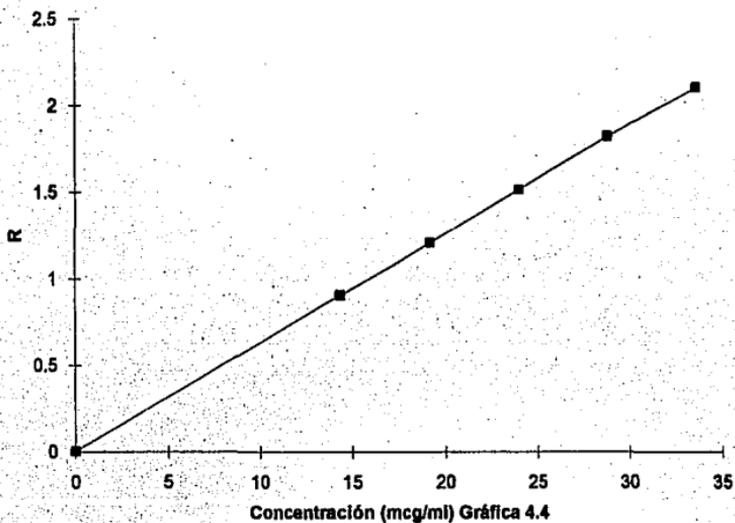
LINEARIDAD DEL SISTEMA (DIA 1)



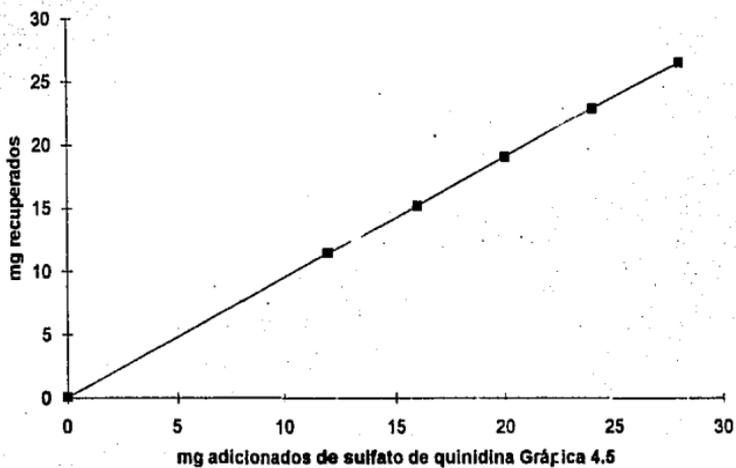
LINEARIDAD DEL SISTEMA (DIA 2)



LINEARIDAD DEL METODO



EXACTITUD DEL METODO



CAPITULO V

ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

A continuación se analizan los factores que se consideraron para el desarrollo del presente método analítico.

Estandar interno.

Se probaron como estandares moléculas de estructura química semejante a la de la quinidina pero su tiempo de retención era muy semejante al de ella, además de quedar retenidas en la columna, por lo que se descartaron.

Se probaron también moléculas con un tiempo de retención mayor que el de la quinidina, sin embargo no se obtuvo una buena resolución o el tiempo necesario para el análisis se incrementaba desfavorablemente.

Se eligió el etilparabeno como estandar interno por sus características de solubilidad en metanol, ya que este disolvente es el que se utilizó para preparar las soluciones de sulfato de quinidina.

Se buscó una molécula fácilmente disponible de costo accesible y con un tiempo de retención adecuado. El tiempo de retención del etilparabeno es de 5.8 minutos, existiendo una diferencia de 2.8 minutos con el tiempo de retención del sulfato de quinidina que es de 3 minutos, lo que permite una resolución óptima.

En una corrida normal se presentan tres picos en donde el primero es el pico del metanol, el segundo es el pico que corresponde al sulfato de quinidina (3 minutos),

se presenta como un pico agudo y bien definido aunque inicialmente presentó un ligero coleo, que se corrigió modificando el pH de la fase móvil de básico a ácido, el tercero es el pico correspondiente al estandar interno (5.8 minutos) que es también un pico agudo que inicia inmediatamente después de que se ha terminado de formar el pico de la quinidina. La identidad del pico del disolvente se comprobó inyectando este en forma única y/o haciendo una inyección simulada accionando la palanca del inyector.

Los tiempos de retención son adecuados, con un tiempo máximo de corrida de diez minutos.

Parámetros del método.

Para que un método pueda ser considerado válido se requiere que sea lineal, exacto y preciso, por lo que se analizan brevemente cada uno de estos parámetros.

La especificidad del método se demostró inyectando una muestra de placebo que se trató de la misma manera que la quinidina, obteniéndose como respuesta el pico del metanol, lo que demuestra que no hay interferencia del placebo en la determinación, de la exactitud y linealidad del método.

Linealidad del sistema. (Día 1) En la tabla no. 4.1 se muestran los resultados obtenidos de la prueba de linealidad del sistema efectuada en el día 1, se probó la conducta lineal del sistema elaborando una curva patrón, y determinando su pendiente, intercepto y coeficiente de correlación.

La respuesta se refiere a la relación que hay entre la altura del problema y la altura del estándar interno, observándose que existe una relación directa entre la concentración y la respuesta, es decir que la respuesta aumenta en proporción con la concentración.

Por lo anterior podemos decir que la respuesta es lineal en el intervalo de concentración de 16 a 40 mcg/ml, obteniéndose una pendiente de 0.074, un intercepto de 0,0596 y un coeficiente de correlación de 0.9994.

Se observó también que cuando la concentración aumenta en cuatro unidades la respuesta aumenta en tres, cuando aumenta en cuatro la respuesta se incrementa en seis; por lo que se pueden inferir puntos intermedios a lo largo de la curva.

Linealidad del sistema (Día 2). Los valores de los parámetros de linealidad obtenidos fueron: la pendiente promedio con un valor de 0.0644, el intercepto con 0.0403 y el coeficiente de correlación de 0.99969, por lo que se cumplen los criterios de linealidad del sistema.

Se observaron algunas diferencias del primer día y el segundo en los resultados de correlación, obteniéndose valores menores de intercepto y pendiente para el segundo día, pero aún así se mantuvo la respuesta lineal con coeficientes de 0.9994 y 0.9997 para el primer y segundo día respectivamente.

Precisión del sistema (Días 1 y 2). Se observa que los datos de coeficientes de variación son: para la concentración de 16 mcg/ml una variación de 1.80, para la de 20 5.91, la de 24 0.41, la de 32 1.45 y la de 40 1.86, cumpliendo con el criterio de que el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 2%, excepto para la concentración de 20 mcg/ml.

Analizando los resultados para las concentraciones de 32 y 16 mcg/ml con valores de por ciento de coeficiente de variación con 1.77 y 1.47 respectivamente, mientras que los valores menores de coeficiente de variación de 0.38 y 0.56 son para las concentraciones de 40 y 20 mcg/ml.

Linealidad del método. De los resultados de linealidad del método se obtuvo para la concentración de 14.4 mcg/ml una respuesta de 0.9025. Para la concentración de 19.2, 1.2030, en la concentración del punto medio se obtuvo una respuesta de 1.5092, para la concentración de 28.8, se obtuvo una respuesta de 1.8150 que es el doble de la concentración de 14.4 mcg/ml, para la concentración de 33.6 mcg/ml, se obtuvo una respuesta de 2.0961.

Analizando los datos de concentración vemos que la diferencia entre cada concentración y la siguiente es de 4.8 unidades, lo mismo sucede con las respuestas en las últimas concentraciones, vemos que la diferencia entre la respuesta de 1.2033 y 0.9025 es de 0.3008 unidades, para la respuesta de 1.5092 y 1.2033 es de 0.3059 unidades, lo mismo para las respuestas de 1.8150 y la de 1.5092, su diferencia es de 0.3058 unidades. Hubo poca diferencia en la respuesta de 2.0961 y la de 1.8150, obteniéndose una diferencia de 0.2811, sin embargo los parámetros de linealidad muestran muy buena correlación $r = 0.9997$, un intercepto de 0.0057 y una pendiente de 0.0624 que cumple con el criterio para linealidad del método.

Exactitud del método. Analizando los resultados de la tabla 4.5 de la exactitud del método, se adicionó al placebo de 33 mg, 12 mg de sulfato de quinidina, y se recuperaron 11.40 mg, el porcentaje de recuperación es de 95.13. Para el placebo

número dos se adicionaron 16 mg del principio activo, recuperándose 15.20 mg o sea el 95.08%. Para la siguiente mezcla de placebo se adicionaron 20 mg del antiarrítmico y se recuperaron 19.06 mg es decir el 95.36%. Para la mezcla siguiente, se cargaron 24 mg de quinidina y se recuperaron 22.93, que en por ciento es el 95.56%, para la última mezcla se adicionaron 28 mg de quinidina y se recuperaron 26.48 que corresponde al 94.59, que es el menor porcentaje de recuperación.

En todos los casos se obtiene un porcentaje de recuperación del 95 considerando que el método es bueno.

Observando la gráfica 4.5 de miligramos adicionados contra miligramos recuperados observamos que la gráfica es una línea recta con una pendiente de 0.9472, un intercepto de 0.069 y una correlación de 0.9998.

Precisión del método. Para la concentración de 14.4 mcg/ml se obtiene un coeficiente de variación de 1.43, para la de 19.2, un coeficiente de variación de 1.07, para la concentración de 24 mcg/ml una variación de 1.52, para la concentración de 28.8 se obtuvo un coeficiente de variación de 1.23 y para la última concentración un coeficiente de variación de 0.80, que es la variación menor para todos los casos, observando que en todos los casos el coeficiente de variación es menor al 2%, por lo que se cumple con el criterio de precisión.

Observamos que el coeficiente de variación es menor al 2% para todos los casos, siendo el mas pequeño para cuando se adicionó mas quinidina de 0.80 y siendo el mayor de 1.52 para la mezcla que incluye al 100% de quinidina.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

1. Se propone un método alternativo para la determinación de sulfato de quinidina que resulta más económico que el farmacopeico (USP XXII). Principalmente por reducir el costo de la fase móvil, porque emplea metanol y no acetonitrilo. El metanol tiene como ventaja adicional el presentar menores problemas de tipo ecológico.
2. El método por cromatografía de líquidos nos permitió cuantificar de una manera confiable el sulfato de quinidina en producto terminado comercial.
3. El método propuesto es lineal en un intervalo de concentración de 14.4 a 33.6 mcg/ml, encontrándose un coeficiente de correlación de 0.9998.
4. Por lo que respecta a la precisión se determinó este parámetro y se encontraron valores de coeficientes de variación menores a 2%.
4. De la exactitud del método se determinó un porcentaje de recuperación del 95% para el placebo usado.
5. Debido a que fue imposible obtener placebo de parte del fabricante se propone un estudio alternativo del método por el método de adición de estándar.
6. El método funciona exclusivamente para cuantificar sulfato de quinidina en producto terminado, no así en materia prima, porque no logra separar el contaminante natural de la quinidina que es la dihidroquinidina.

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFIA

- 1.. Morgan, P. H., Mathison I. W., Arrhythmias and Antiarrhythmic Drugs: Mechanism of Action and Structure-Activity Relationships I
J. Pharm. Sci. (1976), 65: 4,467-482.
2. Morgan, P. H., Mathison I. W., Arrhythmias and Antiarrhythmic Drugs: Mechanism of Action and Structure-Activity Relationships II.
J. Pharm. Sci. (1976), 65: 635-648.
3. Cutting Windsor. Handbook of Pharmacology. The actions and uses of drugs
4th ed. Appleton-Century Crafts. Educational Division Meredith Corporation,
1969. USA 221-223.
4. Greenblatt, David J., et. al., Pharmacokinetics of Quinidine in Humans After Intravenous, Intramuscular and Oral Administration.
J. Exp. Ther. (1977), 202: 365-378.
5. Rashid, S., Waterfall J. F., Effect of Anthiarrhythmic and Analgesic drug on the effective refractory, period of guinea-pig isolated atria and ventricular strips. J. Pharm. Pharmacol. (1979), 3: 411-412.
6. Agon, Philippe; et. al. Study with Positron Emission Tomography of the Osmotic Opening of the Dog Blood-Brain Barrier for Quinidine and Morphine.
J. Pharm. Pharmacol. (1988), 40: 539-543.

7. Carrol, F. I. et al., Carbon-13 Magnetic Resonance Study Structure of the Metabolites of Orally Administered Quinidine in Humans. J.Med. Chem. (1974), 17: 985-987.
8. Guentert, Theodor W., et al. Gastrointestinal Absorption of Quinidine from some Solutions and Comercial Tablets. J Pharmacokin. Biopharm. (1980), 8: 243-255.
9. Jaillon Patrice, and Kates Robert E. Phenytoin-Induced changes in Quinidine and 3-Hydroxyquinidine Pharmacokinetics in conscious dogs. J Pharmacol. Exp. Ther. (1980), 213: 33-37.
10. Iansmith, D. H., et al. A Microelectrophysiological Analysis of the Pharmacodynamic Basis for Quinidine-Propranolol Antiarrhythmic Potentiation. J Pharmacol. Exp. Ther. (1981), 219:651-658.
11. Bucci J. Arthur, et al. In vitro Interaction of Quinidine with Kaolin and Pectin. J Pharm. Sci. (1981),70: 999-1002.
12. Kim Dong-Hee, et al. Tissue Binding Sites Involved in Quinidine-Cardiac Glycoside Interactions. J.Pharmacol. Exp. Ther. (1981), 218: 357-362.
13. Berlin Joshua R., et al. Lack of Pharmacodynamic Interactions between Quinidine and Digoxin in Isolated Atrial Muscle of Guinea pig heart. J. Pharmacol. Exp. Ther.(1986), 238:632-641.
14. Hewick D. S. and Ostenfeld T., The effect of Digoxin Dosage on the Digoxin-quinidine Interaction in the Bile Duct-cannulated Rat. J. Pharm. Pharmacol. (1987), 39, 64-67.

15. Wilkerson Douglas R. and Beck Bornie, Increase in Serum Digoxin Concentration Produced by Quinidine does Not Increase The Potencial for Digoxin-induced Ventricular Arrhythmias in Dogs.
J. Pharmacol. Exp. Ther. (1987), 240: 548-553.
16. Guentert Theodor W. et. al. Factors influencing the Aparent Protein Binding of Quinidine.
J. Pharm. Sci. (1982) 71: 325-328.
17. Balazs Tibor, et. al. Comparison of effects of Quinidine and Dihydroquinidine on Canine Heart.
J. Pharm. Sci.(1978),67:1355-1357.
18. Doherty Ruth, et. al. Crystal and Molecular-Structure of Quinidine. .
J.Pharm. Sci.(1978) 67:1698-1700.
19. Woodward, R. B. et. al. Quinine.
J. Am. Chem. Soc. (1945), 67:1425-1430.
20. Grethe, Guenter, et. al. Reinvestigation of the Classical Syntesis of Cinchona Alkaloids.
Helv. Chem. Acta, (1973) 56: 1485-1503.
21. Smith Edward. Examination of Quinidine and Quinine and Their Pharmaceutical Preparations.
J. Pharm. Sci. (1973) 62:151-1155.
22. Huynh-Ngoc, et al. NMR Quantitative Analysis of Quinidine in Mixtures of Quinidine and Hidroquinidine.
J Pharm. Sci. (1973) 62: 1334-1336.
23. Huynh-Ngoc. et. al. Comparison of two Spectrofluorometric Procedures for Quinidine determination in Biological Fluids.
J. Pharm. Sci. (1977) 66:91-592.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

24. Kline, Berry J. Determination of Quinidine and Dihydroquinidine in Plasma by High Performance Liquid Chromatography.
Ann. Chem. (1979).51: 449-451.
25. Guentert Theodor, et al. Determination of Quinidine and its Major Metabolites by High Performance Liquid Chromatography.
J. Chromatogr. (1979) 162:59-70.
26. Dusci, Leon and Hackett Laurence. Simultaneous Determination of Lidocaine, Mexiletine, Disopyramide and Quinidine in Plasma by High Performance Liquid Chromatography.
J. Anal. Toxicol. (1985)9: 67-70.
27. Kates, Robert et al. Rapid High-Pressure Liquid Chromatographic Determination of Quinidine and Dihydroquinidine in plasma samples.
J. Pharm. Sci. (1978)67:269-270.
28. Johnston M. A. Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Cinchona Alkaloids in Pharmaceutical.
J Chromatogr. (1980)189: 241-247.
29. Popl Milan and Duy Ky Le. Reversed-Phase Liquid Chromatography of some Alkaloids.
J Chromatogr. Sci. (1985)23: 95-100.
30. Farmacología, Bases Bioquímicas y Patológicas. Bowman W. C., and Rand M. J. , 2a ed., Interamericana, México, 1985.
31. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Goodman Alfred et al. 7a. ed. Panamericana, 1985.
32. The United States Pharmacopeia XXII. Official from January. Rev.22, Mack printing company, Easton 1990.

33. The Merck Index.
19th ed. Merck Co. Inc. Rahway N. J. U.S.A: 1976.
34. Diccionario de Especialidades farmacéuticas.
39a. ed. Ediciones PLM, México, 1993.
35. Farmacopea de los Estados Unidos mexicanos.
5a ed., México., 1988.
36. Remington's Pharmaceutical Sciences.
16th ed. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1980.
37. Comité de Elaboración de guías oficiales de Validación.
Material elaborado por el colegio Nacional de Q:F:B; México A:C:

ABSORBANCE

ANEXO 1

