

4
2eje.
302927

LIBRO
30
1975
02/02

**“DESARROLLO Y VALIDACION DE LA METODOLOGIA
ANALITICA PARA LA CUANTIFICACION DE TRES
PRINCIPIOS ACTIVOS EN UN JARABE POR
ESPECTROSCOPIA UV”**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
MARIA ESTHER LOPEZ MARTINEZ

MEXICO, D. F.

1994

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.

**"DESARROLLO Y VALIDACION DE LA METODOLOGIA ANALITICA PARA LA
CUANTIFICACION DE TRES PRINCIPIOS ACTIVOS EN UN
JARABE POR ESPECTROSCOPIA UV"**

Jurado asignado según el tema

Presidente: Q.F.B. Esperanza Rodríguez Koeling

Vocal: Q.F.B. Antonio Muñoz Ariza

Secretario: M. en C. Verónica Rodríguez López

1er. Suplente: Q.F.B. Raúl Díaz Tagle

2o. Suplente: M. en C. Alma Miriam Novelo Torres

Lugar donde se desarrolló el tema: Industria Farmacéutica Andrómaco

Asesor Interno: M. en C. Verónica Rodríguez López

Sustentante: María Esther López Martínez

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por ser el que me dió la vida, el valor y todo lo necesario para ser lo que ahora soy.

A MIS PADRES GLORIA Y GUILLERMO:

Por darme su amor y su apoyo por siempre.

A MIS HERMANOS ROSANA Y JUAN CARLOS:

Por su confianza y apoyo

A MI AMIGA LAURA PATRICIA:

Por brindarme su amistad incondicional, por enseñarme a tener confianza en mí misma y por estar ahí alentándome a seguir adelante cada vez que tropezaba.

AL Q.F.B. MIGUEL SANCHEZ:

Por apoyarme como asesor externo en este trabajo.

AL DR. ENRIQUE RUBIO DIR. GRAL. DE "INDUSTRIA FARMACEUTICA ANDROMACO"

Por permitirme realizar la parte experimental de esta tesis.

**CAPITULOS****PAGINA**

I. INTRODUCCION.....	1
-----------------------------	----------

II. GENERALIDADES

2.1 Monografías.....	2
2.1.1 Bromohidrato de Dextrometorfano.....	2
2.1.2 Clorhidrato de Efedrina.....	9
2.1.3 Maleato de Clorfeniramina.....	17
2.2 Espectroscopía de Absorción Ultravioleta.....	24
2.2.1 Fundamentos.....	24
2.2.2 Definiciones.....	27
2.2.3 Aparatos.....	29
2.2.4 Disolventes Adecuados para la Región Ultravioleta.....	31
2.2.5 Cuantificación de Sustancias en la Región Ultravioleta.....	32

2.3 Validación de Métodos Analíticos.....	33
2.3.1 Introducción a la Validación.....	33
2.3.2 Definiciones.....	34

III. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1 Desarrollo del Método Espectrofotométrico.....	37
3.1.1 Material y Equipo.....	37
3.1.2 Reactivos.....	37
3.2. Determinación de Bromohidrato de Dextrometorfano.....	39
3.2.1 Formulación.....	39
3.2.2 Preparación de Soluciones.....	39
3.2.3 Procedimiento.....	40
3.2.4 Cálculos.....	40
3.2.5 Validación del Método Espectrofotométrico.....	41
3.3 Determinación de Clorhidrato de Efedrina.....	45
3.3.1 Preparación de Soluciones.....	45
3.3.2 Procedimiento.....	46
3.3.3 Cálculos.....	47
3.3.4 Validación del Método Espectrofotométrico.....	47

3.4 Determinación de Maleato de Clorfeniramina.....	48
3.4.1 Preparación de Soluciones.....	48
3.4.2 Procedimiento.....	48
3.4.3 Cálculos.....	49
3.4.4 Validación del Método Espectrofotométrico.....	50
IV. RESULTADOS.....	51
V. DISCUSION DE RESULTADOS.....	71
VI. CONCLUSIONES.....	74
VII. BIBLIOGRAFIA.....	75
VIII. ANEXOS.....	79

I. INTRODUCCION

Las formas farmacéuticas tanto de medicamentos nuevos, como de los ya existentes, ha hecho necesario el desarrollo de metodologías analíticas cuya especificidad, reproducibilidad y exactitud, permita efectuar, el análisis cuantitativo del(los) principio(s) activo(s).

Una vez desarrollada la metodología analítica, es necesario validarla para comprobar que ésta cumple con los requisitos para los cuales fué diseñada; para ello, es necesario calificar cada uno de los parámetros, que, a consideración del analista, deban efectuarse para la validación de dicha metodología analítica.

En el análisis de una forma farmacéutica que contenga dos o más principios activos, uno de los mayores problemas en el desarrollo de la metodología analítica, es lograr la separación de la sustancia de interés del resto de los componentes de la muestra.

El presente trabajo, tiene por objeto desarrollar una metodología analítica por espectroscopía UV, que permita separar y cuantificar Bromohidrato de Dextrometorfano, Clorhidrato de Efedrina y Maleato de Clorfeniramina presentes en un jarabe.

II. GENERALIDADES

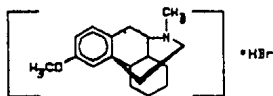
2.1 MONOGRAFÍAS

2.1.1 BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFANO.

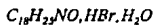
-NOMBRES QUÍMICOS Y SINÓNIMOS

Bromuro de dextrometorfano; Bromohidrato de dextrometorfano monohidratado; 3-metoxi-17-metilmorfinano. (6, 7, 20)

-FORMULA DESARROLLADA (5, 6, 7)



-FORMULA CONDENSADA (5, 6, 7)



-PESO MOLECULAR (5, 6, 7)

370.33 g/mol.

-DESCRIPCIÓN

Cristales o polvo cristalino blanco o casi blanco, inodoro o con ligero olor, sabor amargo. (5, 6, 7)

- SOLUBILIDAD

Soluble 1 parte en menos de una parte de cloroformo con separación de agua, 1 parte en 60 o 65 partes de agua, 1 parte en 10 partes de etanol (96 por ciento) a 20°C y 1 parte en más de 10000 partes de éter. (3,5,6,7,10,13,20)

-ENSAYOS DE IDENTIDAD

a) El espectro de absorción en la región infrarroja de una dispersión de la muestra, previamente secada al vacío sobre pentóxido de fósforo por 4 horas, exhibe máximos a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de referencia de Bromohidrato de dextrometorfano. (6,7,13)

b) El espectro de absorción en la región ultravioleta de una solución (1:10000) de la muestra en solución 0.1 N de ácido clorhídrico, exhibe máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que una solución similar de referencia de Bromohidrato de dextrometorfano, la máxima absorbancia es alrededor de 278 nm y las respectivas absorptividades calculadas en la sustancia anhidra no difieren en más de 3 por ciento. (5,6,7,13)

c) A 5 ml de una solución 1:200 de la muestra, agregar 5 gotas de solución 2 N de ácido nítrico y 2 ml de SR de nitrato de plata. (Ver Anexo I). Se forma un precipitado blanco amarillento. (6,7,13)

-TEMPERATURA DE FUSION

Funde alrededor de 120 °C y 125 °C con descomposición. (3,5,7,10)

-ENSAYOS DE PUREZA

Contiene no menos del 98 por ciento y no más del 101.0 por ciento de $C_{18}H_{23}NOHBr$, calculado en la sustancia anhidra. (6,7)

a) ROTACION OPTICA: Entre +28° y +30° en solución al 2 por ciento m/v de la muestra en solución 0.1 M de ácido clorhídrico. (5,7)

b) RESIDUO A LA IGNICION: No más de 0.1 por ciento. (6,7,13)

c) HUMEDAD: No más de 5.5 por ciento y no menos de 3.5 por ciento. (5,6,7)

d) COMPUESTOS FENOLICOS: Mezclar 5 mg de la muestra con una gota de solución 3N de ácido clorhídrico, 1 ml de agua y 2 gotas de SR de cloruro férrico. (Ver Anexo I). Agregar 2 gotas de ferrocianuro de potasio; después de dos minutos no se produce coloración verde-azul. (5,6,7,13)

e) N,N-DIMETILANILINA: Disolver por calentamiento 500 mg de la muestra en 20 ml de agua. Enfriar, agregar 2 ml de solución de ácido acético 1N y 1 ml de solución (1:100) de nitrito de sodio, aforar a 25 ml con agua. La solución no presenta más color que el que corresponde al de una solución preparada en forma similar, que contenga 5 mcg de N,N-dimetilanilina en 25 ml (10 ppm). (3,5,6,7,13)

f) CENIZAS SULFATADAS: No más de 0.1 por ciento. (3)

g) METALES PESADOS: Máximo 20 ppm. (13)

-pH

Entre 5.2 y 6.5. Determinar en una solución al 2 por ciento m/v de la muestra. (3,5,6,7,13,20)

-VALORACION

Disolver 700 mg de la muestra, en una mezcla de 50 ml de ácido acético glacial y 10 ml de SR de acetato mercuríco (Ver Anexo I), calentar ligeramente hasta disolución completa, agregar una gota de SI de cristal violeta (Ver Anexo I), y titular con solución 0.1 N de ácido perclórico. Efectuar una determinación en blanco y hacer la corrección necesaria. Cada ml de solución 0.1 N de ácido perclórico equivalen a 35.23 mg de $C_{18}H_{23}NOHBr$. (6,7,13)

-CONSERVACION

Conservese en recipientes bien cerrados. (5,6,7,10)

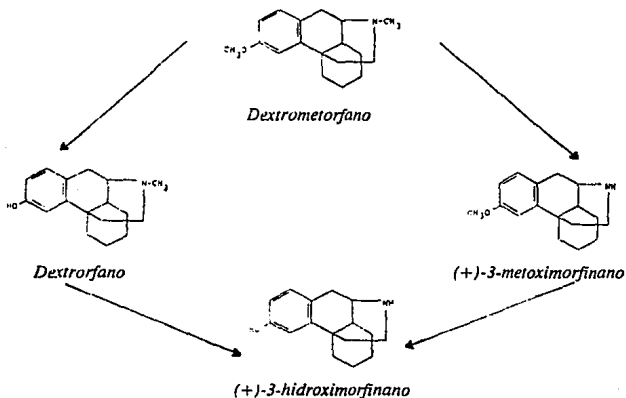
-FARMACODINAMIA

Su acción es central, suprime el reflejo de la tos por acción directa en el centro tusígeno bulbar (cerebro). (18,20)

Se han encontrado sitios que ligan al dextrometorfano con gran afinidad en membranas de diversas regiones del encéfalo. (16)

-FARMACOCINETICA

Se absorbe bien en el tracto gastrointestinal y por las vías parenterales. (18,20). Es metabolizado en el hígado y excretado en la orina como dextrometorfano inalterado y sus metabolitos dimetilados incluyendo el dextrorfanano con alguna actividad supresora de la tos. (20). La biotransformación del dextrometorfano puede ser representada gráficamente de la siguiente manera:



Los niveles plasmáticos del dextrometorfano no metabolizado usando las dosis terapéuticas, son muy bajas debido a la extensa biotransformación y distribución de los tejidos cuando el fármaco es removido rápidamente de la sangre. En el hombre, después de una ingestión de 50 a 180 mg del fármaco, se puede cuantificar por excreción urinaria, incluyendo sus metabolitos. (Ver cuadro No. 1 del Anexo II). (13)

-TOXICIDAD

El bromohidrato de dextrometorfano es poco tóxico y no provoca farmacodependencia. No obstante, es capaz de producir algunos trastornos gastrointestinales y nerviosos poco evidentes.

a) Manifestaciones gastrointestinales: siempre discretas, consisten en sequedad de boca, náuseas y disminución del apetito.

b) Manifestaciones nerviosas: se refieren a la aparición de mareos o somnolencia (18), y a dosis muy altas pueden producir depresión del Sistema Nervioso Central (11). Todas estas manifestaciones ceden al disminuir la dosis o suprimir la administración del medicamento (18). Su DL_{50} es de 165 mg/Kg. (3)

-INDICACIONES Y DOSIS

Se indica en la tos improductiva, inútil o seca, sin expectoración o con expectoración escasa, como en los casos de faringitis, traqueítis, bronquitis aguda en período inicial, tosferina, pleuritis, exacerbaciones agudas leves de la bronquitis crónica. Se puede asociar con expectorantes para aumentar y fluidificar las secreciones y transformar la tos inútil o

improductiva en útil o productiva. También se emplea en la tos peligrosa y en la tos seria.

(18)

Adultos: 10 a 20 mg cada 4 horas, o 30 mg de 6 a 8 horas. Máximo 120 mg por día.

Niños de 6 a 12 años: 5 a 10 mg cada 4 horas, o 15 mg cada 6 a 8 horas. Máximo: 60 mg por día.

Niños de 2 a 6 años: 2.5 a 5 mg cada 4 horas, o 7.5 mg cada 6 a 8 horas. Máximo: 30 mg por día. (2)

-CONTRAINDICACIONES

Está contraindicado en pacientes con deterioro de la ventilación ocasionada por enfermedades respiratorias crónicas, particularmente bronquitis crónica, enfisema y asma (13). No deberá usarse cuando la tos sea signo valioso para el diagnóstico, o benéfica (como después de cirugía torácica). (2)

-INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS

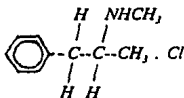
Contraindicado en pacientes que estén tomando inhibidores de la Monoaminoxidasa (2,11,18): ocurre hipotensión, coma, hiperpirexia y muerte (11). Posible interacción con sulfato de fenilzina. (20)

2.1.2 CLORHIDRATO DE EFEDRINA.

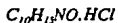
-NOMBRES QUIMICOS Y SINONIMOS

Clorhidrato de 1-fenil-2-metilaminopropanol (22); cloruro de efedrina. (20)

-FORMULA DESARROLLADA (9)



-FORMULA CONDENSADA (5,6,9,20)



-PESO MOLECULAR (5,6,9,20)

201.70 g/mol

-DESCRIPCION

Gránulos, fragmentos o cristales blancos o incoloros, inodoro, untuoso al tacto, higroscópico, se descompone gradualmente por exposición a la luz. (5,9,20)

-SOLUBILIDAD

Soluble 1 parte en 4 partes de agua, 1 parte en 17 partes de etanol (96 por ciento); 1 parte en 100 partes de cloroformo, 1 parte en 10000 partes de éter (5,9,20,22).

-ENSAYOS DE IDENTIDAD

a) Disolver 100 mg en 5 ml de agua, adicionar 1 ml de solución de carbonato de potasio (1:5) y extraer con 2 ml de cloroformo: El espectro de absorción IR del extracto clorofórmico obtenido exhibe un máximo a la misma longitud de onda que una solución de referencia preparada de manera similar. (6,9)

b) La solución de Clorhidrato de efedrina da positivas las pruebas de cloruros. (5,6)

c) El espectro de absorción ultravioleta en el rango de 230 a 350 nm, de una solución al 0.05 por ciento m/v, exhibe tres máximos: 251 nm, 257 nm y 263 nm. (5)

-TEMPERATURA DE FUSION

Funde alrededor de 217°C y 220°C. (5,6,9)

-pH

Es de 5.9. Determinado en una solución acuosa al 5 por ciento m/v. (9)

-CONSTANTE DE DISOCIACION

$pK_a_{20^\circ C} = 9.68$ (9)

-ENSAYOS DE PUREZA.

Contiene no menos del 98.0 por ciento y no más del 100.5 por ciento de $C_{10}H_{12}NO.HCl$ calculado en la sustancia anhidra. (9)

a) ROTACION OPTICA: Entre -33.0° y -35.5° , calculado en base anhidra determinada en una solución que contenga 500 mg por cada 10 ml. (5,6,9)

b) RESIDUO A LA IGNICION: No más del 0.1 por ciento. (6)

c) PERDIDA POR SECADO: Secar a $100-105^{\circ}C$ durante tres horas. No pierde más de 0.5 por ciento de su peso original. (5,6,9)

d) CLARIDAD Y COLOR DE LA SOLUCION: Una solución al 10 por ciento m/v, es clara o ligeramente opalescente. (5)

e) ACIDEZ O ALCALINIDAD: Disolver 1 g en 20 ml de agua, adicionar una gota de SI de rojo de metilo (Ver Anexo I). Si la solución es amarilla, ésta cambia a rojo con no más de 0.1 ml de solución 0.02 N de ácido sulfúrico, y si la solución es rosa, ésta cambia a amarillo con no más de 0.2 ml de solución 0.02 N de hidróxido de sodio. (5,6)

f) CENIZAS SULFATADAS: No más de 0.1 por ciento. (5,9)

g) SULFATOS: Una solución al 10 por ciento m/v cumple con los límites de la prueba de sulfatos, (10 ppm). (5,9)

-VALORACION

Disolver alrededor de 500 mg de la muestra exactamente pesados, en 25 ml de ácido acético glacial. Adicionar 10 ml de SR de acetato mercurico y 2 gotas de SI de cristal violeta (Ver Anexo I). Titular con una solución 0.1 N de ácido perclórico. Efectuar una determinación en blanco y hacer la corrección necesaria. Cada mililitro de solución 0.1 N de ácido perclórico es equivalente a 20.17 mg de $C_{10}H_{13}NO.HCl$ (6)

-CONSERVACION.

Conservese en recipientes bien cerrados resistentes a la luz. (6,20)

-FARMACODINAMIA.

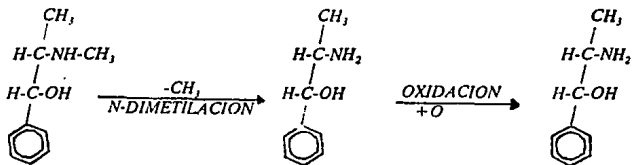
El Clorhidrato de efedrina es un agente simpaticomimético de acción directa e indirecta que estimula receptores adrenérgicos alfa y beta produciendo efectos estimulantes sobre el Sistema Nervioso Central y sobre el centro respiratorio aumentando el volumen minuto respiratorio (18). Tiene acción broncodilatadora, relajando la musculatura bronquial como en el caso del asma bronquial. (16)

-FARMACOCINETICA.

Se absorbe bien y completamente a lo largo del tracto gastrointestinal. Se absorbe fácilmente por las vías subcutánea e intramuscular y la absorción en éste caso es más rápida debido a que su acción vasoconstrictora no es tan potente. (18)

Es excretado inalterado en la orina, junto con pequeñas cantidades de metabolitos

producidos en el hígado (20). En el organismo sufre una N-dimetilación parcial, transformándose en norefedrina que posee una acción simpaticomimética semejante a la l-efedrina y que se oxida a su vez dando p-hidroxinorefedrina. (18)



l-efedrina

l-norefedrina

l-p-hidroxi-efedrina. (18)

La cinética de eliminación depende de la dosis; hasta el 95 por ciento de la dosis puede ser excretada en la orina en 24 horas, incluyendo al fármaco inalterado y sus metabolitos. (Ver cuadro No. 2 del Anexo II). (9) La concentración máxima es de 40 a 140 ng/ml después de una hora de ser administrados 33 mg de Clorhidrato de efedrina.

Su tiempo de vida media es de 3 a 6 horas dependiendo del pH urinario. (9,20)

-TOXICIDAD

Las dosis altas o las dosis terapéuticas en sujetos susceptibles son capaces de provocar trastornos en los sistemas:

a) *Manifestaciones nerviosas: Insomnio, excitación psíquica, temblores, vértigos, cefaleas*

(2,18), debilidad muscular, diaforesis, euforia, confusión, delirio. (2)

b) Manifestaciones cardiovasculares: Taquicardia, palpitaciones, hipertensión. (2,18)

c) Manifestaciones respiratorias: Resequedad de la nariz y garganta. (2)

d) Transtornos gastrointestinales: Náuseas, vómitos, anorexia. (2,18)

c) Manifestaciones genitourinarias: Retención urinaria, micción dolorosa debido a espasmos de esfínteres viscerales. (2)

Las reacciones adversas se tratan con la administración de fármacos sedantes o tranquilizantes, pero no conviene usarlas sistemáticamente en una medicación continua en pacientes broncopulmonares crónicos por el peligro de la depresión respiratoria. (18)

-INDICACIONES Y DOSIS.

Es formalmente usada en el tratamiento de la miastenia gravis (20), y en el asma (5). En pacientes con hipo durante la anestesia incluyendo mujeres embarazadas, ya que este fármaco no es teratogénico; también puede ser indicado para episodios de broncoespasmo en neonatos. Junto con otros agentes puede ser usado en el resfriado común, fiebre del heno, rinitis, sinusitis y algunas alergias. Ocasionalmente es usado en la narcolepsia. (20)

Para corregir estados hipotensivos: para apoyar la frecuencia ventricular en el Síndrome de Adams-Stokes:

Adultos: 25 a 20 mg por vía intramuscular o subcutánea; o 10 a 25 mg por vía intravenosa según se necesite, hasta un máximo de 150 mg/día.

Niños: 3 mg/Kg por vía intravenosa o subcutánea al día, divididos en 4 a 6 dosis.

Como broncodilatador o descongestionante nasal:

Adultos: 12.5 a 50 mg por vía oral, 2, 3 ó 4 veces al día. **Máxima:** 400 mg/día divididos en 6 a 8 dosis.

Niños: 2 a 3 mg/Kg al día por vía oral divididos en 4 a 6 dosis. (2)

-CONTRAINDICACIONES.

Está contraindicado en pacientes con porfiria, enfermedad coronaria grave, arritmias cardíacas, glaucoma de ángulo estrecho, psiconeurosis (2), dilatación prostática y asma. El uso continuo como descongestionante nasal puede provocar rinitis (20). No es sustituido para diferencias de volumen sanguíneo o de otros líquidos. Se debe identificar la hipoxia, hipercapnia y acidosis y corregirlas antes o durante la administración del clorhidrato de efedrina, ya que pueden reducir su eficacia o aumentar la frecuencia de los efectos secundarios. Para evitar el insomnio no deberá administrarse en las dos horas anteriores a las de dormir (2). No ha de utilizarse en los casos de hipertensión arterial severa, insuficiencia cardíaca, angina de pecho e hipertiroidismo grave (18)

-INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS.

a) Fármacos estimulantes centrales: como la teofilina con la que presenta sinergismo de potencialización en la acción estimulante central produciendo insomnio y excitación psíquica. (18)

b) Bloqueadores alfa adrenérgicos: dejan sin oposición a los efectos adrenérgicos beta, conduciendo a hipotensión.

c) Antihipertensores: reducen los efectos.

Bloqueadores beta adrenérgicos: dejan sin oposición a los efectos alfa conduciendo a hipertensión.

d) Inhibidores de la Monoaminoxidasa y antidepresores tricíclicos: pueden causar hipertensión grave (crisis hipertensiva), incluso la muerte.

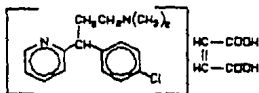
e) Metildopa: puede inhibir los efectos de la efedrina. Usar juntas con precaución. (2)

2.1.3 MALEATO DE CLORFENIRAMINA

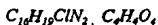
-NOMBRES QUIMICOS Y SINONIMOS

Maleato de clorfenpiridamina (3); maleato de clorfenamina (20); maleato de 1-(p-clorofenil)-1-(2-piridil)-3-dimetilaminopropano. (10)

-FORMULA DESARROLLADA (3,5,6,7,8)



-FORMULA CONDENSADA (3,5,6,7,8,20)



-PESO MOLECULAR (3,5,7,8,20)

390.87 g/mol

-DESCRIPCION

Cristales o polvo cristalino de color blanco, inodoro. (3,5,7,8,10,20)

-SOLUBILIDAD

Ig se disuelve en aproximadamente 4 ml de agua, 10 ml de etanol (96 por ciento), 10 ml de cloroformo y 10 ml de éter o benceno. (3,5,7,10,20)

-ENSAYOS DE IDENTIDAD

a) El espectro de absorción en la región infrarroja, de una dispersión en parafina líquida con la muestra, exhibe un máximo únicamente a la misma longitud de onda, que la de una preparación similar de la solución de referencia de maleato de clorfeniramina. (6,7)

b) Disolver 500 mg en 25 ml de agua, agregar 2 ml de SR concentrada de amoníaco. (Ver Anexo I). Extraer la mezcla 4 veces con 25 ml de cloroformo cada una y una porción de 50 ml de N-hexano. Descatar los Extractos. Acidificar la solución acuosa con ácido sulfúrico diluido a un pH entre 2 y 3. Enfriar y extraer con 50 ml de éter. Filtrar el extracto etéreo a través de sulfato de sodio anhidro y evaporar el éter en baño de vapor con corriente de aire hasta cerca de 5 ml. Evaporar los 5 ml restantes con corriente de aire y sin calor. Secar al vacío a 40°C durante 2 horas. El residuo de ácido maléico, así obtenido, funde entre 128°C y 133°C. (7)

c) El espectro de absorción ultravioleta en el rango de 230 nm a 350nm en celdas de 1 cm de una solución acuosa de la muestra al 0.003 por ciento m/v exhibe un máximo de absorción a 262 nm y un mínimo a 243 nm. (3,5)

-TEMPERATURA DE FUSION

De 130°C a 135°C. (3,6,7,10)

pH

En solución acuosa al 1 por ciento m/v, está comprendido entre 4 y 5. (3,5,7,20)

-CONSTANTE DE DISOCIACION.

$pka_1 = 9.2; pka_2 = 4.0. (9)$

-ENSAYOS DE PUREZA

Contiene no menos del 98.0 por ciento y no más del 100.5 por ciento de $C_{20}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, calculado sobre sustancia desecada a 105°C durante 3 horas. (6,7)

a) DISTINCION DE CROMOGENOS CON ACIDO SULFURICO: *Disolver 25 mg de la muestra en 5 ml de ácido sulfúrico. No debe producir coloración. (6,7)*

b) RESIDUO A LA IGNICION: *No más del 0.15 por ciento. (3,6,7)*

c) PERDIDA POR SECADO: *No más del 0.15 por ciento de su peso. Secar a 105°C durante tres horas. (3,5,6,7)*

d) SUSTANCIAS RELACIONADAS: *Por cromatografía de capa fina. Usar sílica gel GF254. Secar la placa a 105 °C durante 30 minutos. Usar como fase móvil una mezcla de acetato de etilo, metanol y solución de ácido acético 1M (5:3:2). Aplicar 2 µl de la solución de la muestra y de la solución de referencia a las siguientes concentraciones: (1) al 5.0 por ciento m/v y (2) al 0.01 por ciento m/v. Secar con corriente de aire. Revelar la cromatoplaça con una solución diluída de iodobismutato de potasio. La mancha obtenida con la solución (1) no es más intensa que la obtenida con la solución (2). (5)*

e) CENIZAS SULFATADAS: *No más del 1 por ciento. (5)*

-VALORACION

En 20 ml de ácido acético glacial, disolver cerca de 500 mg de la muestra de maleato de clorfeniramina, agregar dos gotas de SI de cristal violeta (Ver Anexo I) y valorar con solución 0.1 N de ácido perclórico. Efectuar una determinación en blanco y hacer la corrección necesaria. Cada ml de solución 0.1 N de ácido perclórico consumido, es equivalente a 19.54 mg de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_7H_6O_6$. (3,5,6,7)

-CONSERVACION

Conservese en recipientes bien cerrados, resistentes a la luz. (3,5,6,7,20)

-FARMACODINAMIA.

Es un antagonista competitivo de la histamina a nivel celular (3) en forma selectiva y referente a los receptores H_1 de la misma (2,18) contribuyendo a disminuir la secreción de las glándulas con inervación colinérgica en el árbol respiratorio (11) menos la de los sectores gástricos, produciendo únicamente un efecto antitusivo. (16) Apparently no actúa químicamente sobre la histamina. (3)

-FARMACOCINETICA.

Se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal -vía oral o rectal- y por las vías parenterales. La absorción es rápida por vía oral, la respuesta se observa 20 ó 30 minutos después de la ingestión, llega al máximo en 1 ó 2 horas y el efecto dura en general de 3 a 6 horas.

Su biotransformación no ha sido bien estudiada pero se sabe que se destruye casi totalmente en el intestino (18), probablemente se elimina por detoxificación en el hígado mediante una hidroxilación seguida por conjugación con el ácido glucorónico, (3) y sus metabolitos, no bien identificados, así como, una pequeña porción no transformada, se excretan en la orina. La excreción urinaria es del 0.3 por ciento al 26.0 por ciento. (Ver cuadro No. 3 del Anexo II).

En adultos, el rango de vida media es de 20.6 a 42.5 horas con una media de 30.3 horas después de administrar 8 mg por vía oral y en niños, el rango es de 6.3 a 23.1 horas con una media de 20 ± 5 horas después de administrar 120 mcg por Kg de peso por vía oral. (20)

-TOXICIDAD.

No es muy tóxico, pero las dosis terapéuticas son capaces de provocar reacciones adversas lo que sucede en el 20 a 25 por ciento de los casos. (18)

a) Manifestaciones nerviosas: Son las más frecuentes y consisten en sedación, somnolencia, astenia, visión borrosa, confusión, ataxia, mareos, disminución del estado de alerta, pérdida del reflejo, incoordinación y fatiga, otras veces puede presentarse excitación, insomnio, euforia, cefalea y temblores.

b) Transtornos gastrointestinales: consisten en anorexia, sequedad de la boca, ardor epigástrico, náuseas, vómitos y constipación o diarrea.

c) Manifestaciones cardiovasculares: Son la taquicardia, palpitaciones, elevación o descenso de la presión arterial, opresión torácica, hormigueo y debilidad en las manos.

d) Manifestaciones respiratorias: Secreciones respiratorias, a veces induciendo tos,

hiperpnea, disnea o bien, depresión respiratoria.

e) Manifestaciones genitourinarias: *Son la disuria, polaquiuria, y aún, retención urinaria, así como trastornos de erección.*

f) Manifestaciones cutáneas: *Puede desarrollarse alergia por administración por vía oral, exantema y urticaria.*

g) Trastornos hemáticos: *Las complicaciones hematológicas como la leucopenia, anemia hemolítica y agranulocitosis, son muy raras. (18)*

-INDICACIONES Y DOSIS.

Se emplea en el tratamiento sintomático de las alergias nasales, resfriados, dermatitis alérgicas, hipersensibilidad a la penicilina (3,11), procesos cutáneos no alérgicos, cinetosis, afecciones laberínticas y emésis, premedicación anestésica, síndrome parkinsoniano y como orexígeno. (16)

La vía oral es la de mayor eficacia y rapidez de acción. Las vías parenterales se utilizan en las reacciones alérgicas agudas y en la preanestesia, o bien, cuando es imposible administrar por vía oral -vómitos-, en cuyo caso también, puede emplearse la vía rectal. (18)

Para la rinitis y síntomas alérgicos las dosis serán las siguientes:

Adultos: *4 mg cada 4 a 6 horas, sin exceder de 24 mg/día; o (liberación programada) 8 a 12 mg por vía oral 2 ó 3 al día; ó 5 a 40 mg/día por vía intramuscular, intravenosa o subcutánea. Aplíquese la inyección por vía intravenosa durante 1 min.*

Niños de 6 a 12 años: *2 mg cada 4 a 6 horas, sin exceder de 12 mg/día. De manera alternativa, pueden administrarse 8 mg (liberación programada) a la hora de dormir.*

Niños de 2 a 6 años: 1 mg cada 4 ó 6 horas.

Niños menores de 1 año: 1 mg 2 veces al día.

No es recomendable en niños menores de 2 años (2)

-CONTRAINDICACIONES.

El maleato de clorfeniramina está contraindicado en ataque asmático agudo (2). Además, está contraindicada la aplicación local si se ha desarrollado hipersensibilidad (18). Evitese ingerir bebidas alcohólicas u otros depresores del SNC durante el tratamiento, conducir o realizar otras actividades que requieran de agudeza mental hasta determinar la respuesta del Sistema Nervioso Central al medicamento. (2)

-INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS.

a) Depresores del Sistema Nervioso Central: aumento de la sedación. Emplear juntos con precaución. (2)

b) Antibióticos aminoglucósidos. (18)

2.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ULTRAVIOLETA VISIBLE

2.2.1 FUNDAMENTOS.

La espectroscopía de absorción está basada en la medición e interpretación de la absorción de la luz, producida por la interacción entre las moléculas, átomos o iones de una sustancia química cuando se desplazan de un estado energético permisible a otro.
(5.6.7.15,23)

La radiación electromagnética está en función de las longitudes de onda, situadas en una banda definida y estrecha, especialmente monocromática, que se extienden desde las cortas longitudes de onda de la zona ultravioleta (de 190 nm a 380 nm) hasta la zona visible (de 380 nm a 780 nm) del espectro, obteniéndose como resultado la absorbancia de la solución.
(5.6.7)

Cuando una onda electromagnética de longitud de onda definida, pasa a través de una celda que contiene una sustancia absorbente en solución, sólo una pequeña parte de la radiación es absorbida, por lo que, la pérdida de la energía es menor, esto es, sin tomar en cuenta que, la dirección del haz de luz al propagarse, puede ser alterada por la reflexión, refracción o difracción y en algunos casos puede ser también alterada por la presencia de pequeñas partículas de materia suspendidas en el medio. La energía radiante puede ser total o parcialmente absorbida.

La intensidad del haz de luz depende de su poder radiante el cual es proporcional al número de fotones por segundo que son propagados en el haz y se puede determinar por

medio de detectores tales como fotoceldas o fototubos.

La velocidad a la cual es transportada la energía en un haz de energía radiante que pasa a través de una muestra testigo contenida en la misma celda que la muestra problema se define como I_0 y la cantidad remanente de la radiación no absorbida con respecto a la muestra testigo se define como I , por lo tanto, la transmitancia T , es la relación de las intensidades de la radiación no absorbida por la muestra y la radiación incidente y matemáticamente se expresa como:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

La absorbancia A , es el logaritmo decimal del inverso de la transmitancia y se expresa como:

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

por lo que:

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

(23)

Una de las más importantes leyes de la fotometría es la de Lambert - Beer. Esta ley, relaciona la absorbancia a la concentración de la especie absorbente y la longitud de la trayectoria de la solución a través de la cual la radiación debe pasar. A medida que aumenta la concentración de la especie absorbente, la absorbancia debe incrementarse. En forma semejante, también establece que, si aumenta la longitud de la trayectoria de la solución, la absorbancia debe incrementarse.

Si la concentración de una solución está dada en términos de molaridad, la ley de Lambert - Beer proporciona la relación:

$$A = \epsilon bc$$

en donde:

b = espesor de la celda (cm).

ϵ = constante de proporcionalidad de la absorptividad molar.

c = concentración de la solución (moles/litro).

Si la concentración está dada en otras unidades, la Ley de Lambert - Beer se expresa como:

$$A = abc$$

en donde:

a = constante de proporcionalidad de la absorptividad.

Las unidades de a dependen de la unidad de concentración empleada.

Si A se traza en función de c, el resultado habitual es una recta que pasa por el origen, y se dice que dicho sistema obedece la Ley de Lambert - Beer; si la línea se curva hacia arriba de algún punto, se dice que exhibe una desviación positiva de esta Ley, si se curva hacia abajo en algún punto, se dice que muestra una desviación negativa de la Ley. (21,23)

Las aplicaciones analíticas del comportamiento de absorción de las sustancias pueden ser cualitativas y cuantitativas. Las aplicaciones cualitativas de la espectroscopia de absorción dependen del hecho de que cierta especie molecular sólo absorbe luz en regiones específicas

del espectro de absorción de esa especie molecular y es la huella dactilar para propósitos de identificación. (23)

Las aplicaciones cuantitativas se tratan en el punto 2.2.5.

2.2.2 DEFINICIONES

ABSORBANCIA (A).- Logaritmo decimal del inverso de la Transmitancia (T). El término "densidad de transmisión interna" puede emplearse como sinónimo de absorbancia.

TRANSMITANCIA (T).- Relación entre el flujo de radiación transmitido por la sustancia problema y el flujo de radiación incidente.

ABSORTIVIDAD (A).- Cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración de la sustancia (c), expresada en g por litro, y el espesor atravesado por la energía luminosa (b) expresado en cm ($a = A/bc$).

EXTINCION ESPECIFICA (E 1% 1cm).- Es el cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración de la sustancia (c), expresada en g por 100 ml y el espesor atravesado (b) por la energía luminosa expresado en cm; es decir, $E\ 1\% \ 1cm = 10a$.

COEFICIENTE DE ABSORCION ESPECIFICA.- Es el cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración (c) y el espesor atravesado por la energía luminosa

(l); cuando se utiliza el símbolo AS_l para el coeficiente de absorción específica, que en el sistema internacional se expresa en m^2/Kg y la fórmula $AS_l = 100a$.

ABSORTIVIDAD MOLAR (E).- Cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración de la sustancia (c), expresada en moles por litro, y el espesor atravesado por la energía luminosa (b) expresado en cm. Es también el producto de la absorptividad (a) por el peso molecular de la sustancia. (7)

COEFICIENTE DE ABSORCION MOLAR (LINEAL).- Es una constante de proporcionalidad determinada por la naturaleza del soluto absorbente y la longitud de onda de la luz utilizada (19). Es el cociente de dividir la densidad de transmisión interna (absorbancia) de la sustancia entre el producto de la concentración de la sustancia y el espesor atravesado por la energía luminosa y, según el SI, debe expresarse en m^2 por mol. (7)

ESPECTRO DE ABSORCION ELECTROMAGNETICO.- Es la dispersión de los diferentes rayos electromagnéticos (1). Es la relación entre la absorbancia y la longitud de onda o cualesquiera función de éstas, representada en forma gráfica. (7)

2.2.3 APARATOS.

Básicamente todos los tipos de espectrofotómetros están diseñados de modo que permiten el paso de una radiación esencialmente monocromática a través de la sustancia problema, convenientemente preparada, que haga posible la medición de la fracción de radiación transmitida. (5,6,7)

El espectrofotómetro ultravioleta-visible consta de:

a) fuente de energía con un rango continuo de longitudes de onda en la región del espectro bajo estudio. Los dos tipos de lámparas más comunmente utilizados son:

-La lámpara de tungsteno para la región visible y cercano infrarrojo que cubre el rango de 350 nm a 2600 nm.

-La lámpara arco de Deuterio o Hidrógeno para la región ultravioleta en el rango de 200 nm a 360 nm.

b) Rejilla de entrada que controla el paso de la banda de luz, proveniente de la fuente.

c) Elemento dispersor, rejilla de difracción o monocromador, que dispersa la luz de la fuente, en las diferentes longitudes de onda que la componen.

d) Rejilla de salida que permite sólo el paso de un rango de bandas muy pequeño y en algunos instrumentos su abertura puede controlarse manualmente.

e) Celda de absorción en donde está contenida la muestra. La construcción de la celda de absorción depende del intervalo de longitud de onda que se usa, empleandose celdas de vidrio, sólo en la región visible y celdas de cuarzo en la región visible y ultravioleta.

f) Detector, es un mecanismo de conversión de energía que generalmente es un tubo fotomultiplicador que debe ser de sensibilidad uniforme y estable sobre el rango de energía

usado, produciendo una señal eléctrica que puede ser fácilmente relacionada a la intensidad de la energía radiante transmitida por la muestra.

g) Amplificador que aumenta la señal del detector a un voltaje lo suficientemente grande para impulsar un mecanismo registrador.

h) Registrador, que puede ser una unidad de observación en forma de escala o exposición digital y da las lecturas de absorbancia o transmitancia. Cuando se emplean instrumentos de registro de doble haz, la celda que contiene el disolvente sólo se coloca en el haz de referencia.

i) Graficador. En algunos aparatos, los dos tipos de registradores se encuentran trabajando simultáneamente, mientras que otros tienen una computadora integrada, que posee la capacidad de udicionar y almacenar espectros, realizando comparaciones espectrales y diferencia espectroscópica. Muchos espectrofotómetros están equipados con abastecimiento de doble haz, que reduce muchos de los errores potenciales y variaciones del instrumento. Funcionan igualmente que el instrumento descrito anteriormente y la diferencia principal en la operación, es que, en el instrumento de doble haz, la luz del monocromador es dividida en dos rayos paralelos, uno que pasa a través del blanco y posteriormente, los rayos son combinados nuevamente al chocar con el detector, que compara por diferencia en intensidad. (Ver Anexo III). (15)

2.2.4 DISOLVENTES ADECUADOS PARA LA REGION ULTRAVIOLETA.

Muchos disolventes pueden utilizarse para las pruebas y valoraciones en que se emplea la espectrofotometría en la región ultravioleta.

Con este fin pueden emplearse agua, alcoholes, cloroformo, hidrocarburos ligeros, éteres y soluciones diluidas de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido clorhídrico (7).

Los disolventes que se usan en la espectrofotometría deben cumplir con ciertos requisitos para lograr resultados exactos y reproducibles:

1° El disolvente seleccionado debe disolver la muestra y ser compatible con el material de las celdas.

2° El disolvente debe ser relativamente transparente en la región espectral que se va a estudiar.

3° Para evitar una mala resolución y dificultades en la interpretación de espectros, no debe emplearse un disolvente para mediciones que estén cercanas o debajo de su límite de corte ultravioleta; esto es, la longitud de onda para la cual la absorbancia del disolvente puro tiende a la unidad. En el Anexo IV se muestran los límites ultravioleta de algunos disolventes comunes.

Una vez que se ha seleccionado un disolvente con base en sus características físicas y espectrales, es necesario considerar su pureza. La curva de absorbancia de un disolvente debe ser "uniforme", esto es, sin exhibir picos de impurezas extrañas en la región espectral de interés. Algunos proveedores cuentan con disolventes especialmente purificados y certificados

para aplicaciones *espectrofotométricas* (23), pero sólo es preciso emplearlos cuando las *características espectrales* del tipo analítico usual del disolvente son adecuados para un fin determinado (7)

2.2.5 CUANTIFICACION DE SUSTANCIAS EN LA REGION ULTRAVIOLETA.

La absorción de radiación en moléculas, átomos o iones, a longitudes de onda específicas se usa con mucha frecuencia para análisis cuantitativos, debido a la relación directa entre la absorbancia y la concentración. La sensibilidad de un análisis espectrofotométrico depende de la magnitud de la absorbancia específica y de la absorbancia mínima que pueda medirse con el grado de certidumbre requerido. (23)

Las valoraciones espectrofotométricas requieren normalmente una comparación de la absorbancia producida por la solución de la sustancia problema (preparada según lo especificado en la monografía) con la absorbancia de una solución de referencia, haciendo primero la medición de la solución de referencia y después, lo más rápidamente posible la de la solución de la muestra, bajo las mismas condiciones de prueba. (7)

2.3 VALIDACION DE METODOS ANALITICOS

2.3.1 INTRODUCCION A LA VALIDACION

En la actualidad la Industria Farmacéutica se enfrenta a diversos problemas en el campo del análisis farmacéutico debido al gran incremento de nuevos productos, con principios activos nuevos y excipientes novedosos y que requieren de métodos de análisis apropiados.

Una vez que el método de análisis ha sido desarrollado, es necesaria su validación, para conocer si el método de análisis empleado nos va a proporcionar resultados confiables.

La validación de la metodología analítica es el proceso de establecer, por estudios de laboratorio, que las características de desempeño del método cumplen con los requerimientos para las aplicaciones analíticas para las que fué diseñada. (4,6)

El desarrollo y validación de metodologías analíticas, pueden variar de acuerdo a factores tales como las características del producto, la forma farmacéutica, las necesidades de cada laboratorio, la naturaleza y aplicación que tenga el método, los requerimientos oficiales y especialmente el criterio de la persona que la realiza, pero siempre apoyandose en bases científicas para que sea preciso, exacto, reproducible y lineal en las condiciones de trabajo escogido.

2.3.2 DEFINICIONES.

*Los parámetros mínimos que debe incluir la validación de una metodología analítica son:
(Ver Anexo V).*

-LINEARIDAD: La linealidad de un sistema o método analítico tiene la capacidad de producir resultados de prueba de manera directa o por medio de una transformación matemática bien definida, proporcionales a la concentración de la sustancia a analizar en las muestras en un rango dado. (4,6,12,14,17)

-INTERVALO: El intervalo de un método analítico está definido por los niveles superior e inferior de la concentración de la muestra por analizar (incluyendo estos niveles), los cuales han demostrado ser determinados con precisión, exactitud y linealidad usando el método elegido. (4,6)

-EXACTITUD: La exactitud de un método analítico nos evalúa que tan cercanos están los resultados de prueba obtenidos por el método con respecto al valor verdadero. Es frecuentemente expresada como el por ciento de recobro obtenido en el análisis de diferentes cantidades conocidas y adicionadas de la sustancia por analizar. (4,6,12,17)

-PRECISION: La precisión de un método analítico está referida al grado de convergencia entre los resultados obtenidos de pruebas individuales por aplicación repetitiva del método analítico a diferentes muestreos de la muestra homogénea por analizar. Es usualmente

expresada como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). Es la medida del grado de reproducibilidad o repetibilidad de un método analítico bajo condiciones normales de operación. (4,6,14,17)

a) REPETIBILIDAD O PRECISION DEL SISTEMA: *Es la precisión del método analítico expresada como el grado de convergencia entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparatos, laboratorios, días, etc). (4,6,12,17)*

b) REPRODUCIBILIDAD: *Es la precisión del método analítico expresada como el grado de convergencia de los resultados de prueba obtenidos para el análisis de muestras idénticas bajo condiciones de prueba diferentes a las normales tales como diferentes días, diferentes instrumentos, diferentes lotes de reactivos, diferentes transcurso de tiempo en el análisis, diferentes temperaturas, en el mismo y/o en diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos, etc. (4,6,12,17)*

-SENSIBILIDAD: *Se refiere a la respuesta obtenida para una cantidad dada de la sustancia a analizar. Dos factores analíticos: límite de detección y límite de cuantificación se agrupan dentro del término sensibilidad. (4,12)*

a) LIMITE DE DETECCION: *Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las*

condiciones de operación establecidas. (4,6,14)

b) LIMITE DE CUANTIFICACION: *Es la menor concentración de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas. (4,6)*

-ESPECIFICIDAD: *Es la habilidad de un método analítico para medir exacta y específicamente la respuesta de la sustancia a analizar en presencia de otros compuestos sin que éstos intervengan en la medición. (4,6,12,14)*

-TOLERANCIA: *La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación, tales como diferentes temperaturas, lotes de reactivos, columnas, sistemas de elución, tipos de empaque (soporte, fase estacionaria, etc.), condiciones ambientales, etc. (4)*

-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 (4,14)*

III. PART: EXPERIMENTAL

3.1. DESARROLLO DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO.

Se desarrollaron 3 métodos espectrofotométricos en la región ultravioleta para la cuantificación de:

- a) Bromohidrato de Dextrometorfano.*
- b) Clorhidrato de Efedrina.*
- c) Maleato de Clorfeniramina.*

3.1.1 MATERIAL Y EQUIPO.

El material y equipo que a continuación se describe, fué utilizado para los tres métodos.

- Embudos de separación*
- Matraces volumétricos*
- Pipetas volumétricas*
- Vasos de precipitados*
- Matraces erlenmeyer*
- Espectrofotómetro Beckmann modelo 35 con graficador.*

3.1.2 REACTIVOS.

Los reactivos utilizados para los tres métodos son los siguientes:

- Agua destilada*
- Hidróxido de amonio, R.A. Merck*

- Acido clorhídrico, R.A. Mallinckrodt*
- N-hexano, R.A. Merck*
- Bisulfuro de carbono, R.A. Merck*
- Piridina, R.A. Merck*
- Alcohol isopropilico, R.A. Merck*
- Cloruro cúprico, R.A. J. T. Baker*
- Acido acético, R.A. Merck*
- Cloroformo, R.A. Merck*
- Bromohidrato de dextrometorfano, sustancia de referencia o estándar de trabajo.*
- Clorhidrato de efedrina, sustancia de referencia o estándar de trabajo.*
- Maleato de clorfeniramina, sustancia de referencia o estándar de trabajo.*

3.2 DETERMINACION DE BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFANO

3.2.1 FORMULACION.

Cada 100 ml contienen:

<i>Bromohidrato de Dextrometorfano.....</i>	<i>300 mg</i>
<i>Clorhidrato de Efedrina.....</i>	<i>100 mg</i>
<i>Maleato de Clorfeniramina.....</i>	<i>20 mg</i>
<i>Vehículo c.b.p.</i>	<i>100 ml</i>

3.2.2 PREPARACION DE SOLUCIONES.

Solución de referencia

Pesar con exactitud alrededor de 30 mg de Bromohidrato de dextrometorfano sustancia de referencia o estándar de trabajo, transferir a un embudo de separación y disolver con 40 ml de agua destilada.

Solución problema

Tomar una alícuota de 10 ml del jarabe y transferir a un embudo de separación, adicionar 30 ml de agua destilada y agitar.

3.2.3 PROCEDIMIENTO.

A cada uno de los embudos de separación, adicionar 3 ml de solución de ácido clorhídrico 1N y agitar. Extraer con 3 porciones de N-hexano de 30 ml cada una. Descartar la fase orgánica. (Si se emulsiona, adicionar unas gotas de alcohol isopropílico para romper la emulsión). A cada embudo adicionar 10 ml de hidróxido de amonio concentrado, agitar. Extraer con 3 porciones de 30 ml cada una de N-hexano, coleccionar los extractos en otro embudo de separación. Lavar los extractos combinados con 2 porciones de 10 ml cada una de agua. Extraer de la fase orgánica el Bromohidrato de dextrometorfano con 4 porciones de 20 ml cada una de solución 0.1 N de ácido clorhídrico. Coleccionar la fase acuosa en matraces volumétricos de 100 ml y llevar a volumen con el mismo ácido. Tomar una alícuota de 10 ml de cada una de las soluciones anteriores y transferirlas a matraces volumétricos de 25 ml. Llevar a volumen con solución de ácido Clorhídrico 0.1 N.

Leer en un espectrofotómetro adecuado a 278 nm, en celdas de 1 cm, las soluciones de referencia y problema contra un blanco de solución de ácido clorhídrico 0.1N.

3.2.4 CALCULOS.

$$\% \text{ Bromohidrato de dextrometorfano} = \frac{A_m}{A_r} * \frac{B}{M}$$

Donde:

A_m = Absorbancia de la muestra

A_r = Absorbancia de la sustancia de referencia o estándar de trabajo.

B = Concentración de la sustancia de referencia o estándar de trabajo.

M = Concentración de la muestra.

3.2.5 VALIDACION DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO.

-LINEARIDAD DEL SISTEMA.

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

El intervalo entre las concentraciones a analizar dependerá del propósito del método; para control de calidad y de seguimiento de la estabilidad de un fármaco en una forma farmacéutica, deberá estar incluida la concentración seleccionada como 100 por ciento.

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

CRITERIO:

$$CV < 1.5\%$$

$$r > 0.99, r^2 > 0.98$$

-PRECISION DEL SISTEMA.

Se determina por el análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100 por ciento establecido en la linealidad del sistema.

CRITERIO:

$CV < 1.5\%$

-EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%.

Se determina de, cuando menos, 6 placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés para obtener la concentración del 100 por ciento, utilizando el método propuesto. Haciendo el análisis en las mismas condiciones y por el mismo analista.

CRITERIO:

$CV < 3\%$

% de recobro: 97 - 103%

-LINEARIDAD DEL METODO.

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

Las concentraciones de los placebos cargados deben ser las adecuadas para que, utilizando el método propuesto, las concentraciones de las soluciones finales a analizar estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema, incluyendo siempre la correspondiente al 100 por ciento.

La amplitud del estudio dependerá del uso y aplicaciones del método, (Control de Calidad, Estudios de Estabilidad, etc.) y deberá llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación.

CRITERIO:

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada: $m = 1$, $b = 0$,

$r^2 > 0.98$

$CV < 3\%$

% de recobro: 97 - 103%

-PRECISION (REPRODUCIBILIDAD).

Se determina de una muestra homogénea del producto cercana al 100 por ciento de la concentración teórica, analizada cuando menos por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

CRITERIO:

$CV < 3\%$

Dependiendo de la naturaleza de la muestra el CV puede incrementarse.

-ESPECIFICIDAD (CONTROL DE CALIDAD).

Con el método propuesto:

1. Analizar los placebos del producto.

2. Identificar la(s) respuesta(s) del(los) activo(s), y si procede, de los excipientes y/o de otras sustancias presentes.

CRITERIO:

Confirmar que el método desarrollado es capaz de cuantificar la sustancia de interés sin que exista interferencia de otras sustancias presentes.

-ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.

Se determina mediante la comparación de los resultados de los análisis iniciales de 3 muestras con los obtenidos de las mismas muestras después de permanecer por un tiempo determinado en diferentes condiciones.

Almacenar las muestras analizadas bajo distintas condiciones (por ejemplo: temperatura ambiente, refrigeración, protegidas de la luz, etc.), durante un tiempo preestablecido por el analista dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de la sustancia. Reanalizarlas bajo las mismas condiciones de operación, utilizando una solución de referencia recientemente preparada, para cada tiempo, de acuerdo a lo establecido en el método analítico. La determinación debe ser efectuada por un mismo analista.

CRITERIO:

La muestra es estable si el IC para la diferencia de la media de la muestra con respecto a la media del análisis inicial incluye el valor de cero y/o la magnitud del efecto no exceda al 3 por ciento. (4)

3. DETERMINACION DEL CLORHIDRATO DE EFEDRINA

3.3.1 PREPARACION DE SOLUCIONES.

Solución de referencia

Pesar con exactitud alrededor de 25 mg de Clorhidrato de efedrina sustancia de referencia o estándar de trabajo, transferir a un matraz volumétrico de 25 ml. Disolver y llevar al volumen con agua destilada. Tomar una alícuota de 1 ml y transferir a un embudo de separación. Adicionar 25 ml de agua destilada y agitar durante 1 minuto.

Solución problema

Tomar una alícuota de 5 ml del jarabe y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. Llevar a volumen con agua destilada. Tomar una alícuota de 2 ml y transferirla a un embudo de separación. Adicionar 24 ml de agua destilada y agitar durante 1 minuto.

Reactivo A

Mezclar 70 ml de Bisulfuro de carbono, 50 ml de Piridina y 130 ml de Alcohol Isopropílico.

Reactivo B

Disolver 50 mg de cloruro cúprico en 125 ml de agua destilada y posteriormente agregar 125 ml de Piridina.

Los reactivos A y B se preparan el día de su uso.

3.3.2 PROCEDIMIENTO.

Adicionar 2 ml de reactivo B a cada embudo y agitar durante un minuto. Adicionar 4 ml de reactivo A a cada embudo y agitar durante un minuto. Dejar reposar ambos durante 15 minutos. Adicionar a cada uno, 3 ml de ácido acético al 10 por ciento y agitar durante 3 minutos. Adicionar 3 ml de benceno, agitar durante 3 minutos. Dejar reposar hasta separación de fases, (si no la hay, adicionar 1 ml de benceno y agitar en forma circular). Decantar la fase acuosa. De la fase orgánica de la solución de referencia, tomar una alícuota de 1 ml y transferirla a un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a volumen con alcohol isopropílico. De la fase orgánica de la solución muestra, tomar una alícuota de 1 ml y transferirla a un matraz volumétrico de 10 ml y llevar a volumen con alcohol isopropílico. Tomar alícuotas de 1 ml de cada matraz volumétrico y transferirlas a matraces volumétricos de 25 ml, llevar al aforo con alcohol isopropílico.

Leer en un espectrofotómetro adecuado a 245 nm, en celdas de 1 cm, las soluciones estándar y problema contra un blanco de alcohol isopropílico.

3.3.3 CALCULOS.

$$\% \text{ Clorhidrato de efedrina} = \frac{A_m}{A_r} * \frac{B}{M}$$

Donde:

A_m = Absorbancia de la muestra.

A_r = Absorbancia de la sustancia de referencia o estándar de trabajo.

B = Concentración de la sustancia de referencia o estándar de trabajo.

M = Concentración de la solución problema.

3.3.4 VALIDACION DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO.

Los parámetros se realizaron de la misma forma que en el punto 3.2.5

~~DETERMINACIÓN DE MALEATO DE CLORFENIRAMINA~~

3.4.1 PREPARACION DE SOLUCIONES.

Solución de referencia

Pesar con exactitud alrededor de 40 mg de Maleato de clorfeniramina sustancia de referencia o estándar de trabajo, y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml, llevar a volumen con agua destilada. Tomar una alícuota de 10 ml y transferirla a un embudo de separación.

Solución problema

Tomar una alícuota de 20 ml del jarabe, medidos con exactitud y transferir a un embudo de separación.

3.4.2 PROCEDIMIENTO.

A cada uno de los embudos agregar 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1:10) y extraer con dos porciones de 50 ml cada una de N-hexano. Combinar los extractos en un segundo embudo de separación y lavarlos con 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1:250), descartar los lavados. Extraer con 2 porciones de 40 ml cada una de ácido clorhídrico (1:100) y coleccionar los extractos ácidos en matraces volumétricos de 100 ml y llevar a volumen con el mismo ácido. Tomar 50 ml de la solución de referencia, de la solución de

la muestra y de la solución de ácido clorhídrico (1:100) (para usarse como blanco) y transferirlas a tres diferentes embudos de separación. Lavar cada solución con 3 porciones de 30 ml cada una de cloroformo y luego con 1 porción de 50 ml de N-hexano. Descartar los lavados. Filtrar la fase ácida a través de papel filtro (Wattman No. 41) descartando los primeros dos o tres mililitros de cada filtrado. Leer en un espectrofotómetro adecuado a 264 nm la solución de referencia y la solución muestra, usando como blanco la solución de ácido clorhídrico (1:100) extraída con anterioridad.

3.4.3 CALCULOS.

$$\% \text{ Maleato de clorfeniramina} = \frac{A_m}{A_r} * \frac{B}{M}$$

Donde:

A_m = Absorbancia de la muestra.

A_r = Absorbancia de la sustancia de referencia o estándar de trabajo.

B = Concentración de la sustancia de referencia o estándar de trabajo.

M = Concentración de la solución problema.

3.4.4 VALIDACION DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO.

Los parámetros se realizaron de la misma forma que en el punto 3.2.5

IV. RESULTADOS

LINEARIDAD DEL SISTEMA.

A) BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFANO.

Concentración de la dilución de la solución patrón (mcg/ml)	Propiedad medida (Absorbancias)
48.635	0.238
72.067	0.353
96.206	0.471
119.804	0.586
144.578	0.708

RESULTADOS ESTADISTICOS

	TEORICOS	OBTENIDOS
Coefficiente de variación	$CV \leq 1.5\%$	1.47%
Coefficiente de correlación	$r \geq 0.99$	1.000
Coefficiente de determinación	$r^2 \geq 0.98$	1.000

Ya que $r \geq 0.99$, $r^2 \geq 0.98$ y $CV \leq 1.5\%$, se cumple con los criterios de aceptación para la linealidad del sistema.

LINEARIDAD DEL SISTEMA.

B) CLORHIDRATO DE EFEDRINA

Concentración de la dilución de la solución patrón (mcg/ml)	Propiedad medida (Absorbancias)
0.1527	0.532
0.2451	0.854
0.3316	1.156
0.4045	1.410
0.4728	1.648

RESULTADOS ESTADISTICOS

	TEORICOS	OBTENIDOS
<i>Coeficiente de variación</i>	$CV \leq 1.5\%$	0.33%
<i>Coeficiente de correlación</i>	$r \geq 0.99$	1.000
<i>Coeficiente de determinación</i>	$r^2 \geq 0.98$	1.000

Ya que $r \geq 0.99$, $r^2 \geq 0.98$ y $CV \leq 1.5\%$, se cumple con los criterios de aceptación para la linealidad del sistema.

LINEARIDAD DEL SISTEMA.**C) MILEATO DE CLORFENIRAMINA**

<i>Concentración de la dilución de la solución patrón (mcg/ml)</i>	<i>Propiedad medida (Absorbancias)</i>
821.615	0.318
1198.135	0.463
1569.480	0.616
1943.410	0.751
2397.565	0.927

RESULTADOS ESTADISTICOS

	TEORICOS	OBTENIDOS
<i>Coefficiente de variación</i>	$CV \leq 1.5\%$	1.38%
<i>Coefficiente de correlación</i>	$r \geq 0.99$	0.9998
<i>Coefficiente de determinación</i>	$r^2 \geq 0.98$	0.9997

Ya que $r \geq 0.99$, $r^2 \geq 0.98$ y $CV \leq 1.5\%$, se cumple con los criterios de aceptación para la linealidad del sistema.

PRECISION DEL SISTEMA.

A) BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFAN

<i>No. de muestra</i>	<i>Absorbancia</i>
1	0.571
2	0.590
3	0.571
4	0.586
5	0.584
6	0.570

Media Y = 0.5787

Desviación estándar DE = 0.0090

Coefficiente de variación CV = 1.55%

Ya que $CV \leq 1.5\%$, cumple con el criterio para la precisión del sistema.

PRECISION DEL SISTEMA.

B) CLORHIDRATO DE EFEDRINA

<i>No. de muestra</i>	<i>Absorbancia</i>
<i>1</i>	<i>1.410</i>
<i>2</i>	<i>1.360</i>
<i>3</i>	<i>1.412</i>
<i>4</i>	<i>1.417</i>
<i>5</i>	<i>1.408</i>
<i>6</i>	<i>1.402</i>

Media Y = 1.4015

Desviación estándar DE = 0.0209

Coefficiente de variación CV = 1.49%

Ya que CV \leq 1.5%, cumple con el criterio para la precisión del sistema.

PRECISION DEL SISTEMA.

C) MALEATO DE CLORFENINARIMA

<i>No. de muestra</i>	<i>Absorbancia</i>
1	0.715
2	0.722
3	0.704
4	0.729
5	0.730
6	0.710

Media Y = 0.7183

Desviación estándar DE = 0.0105

Coefficiente de variación CV = 1.46%

Ya que $CV \leq 1.5\%$, cumple con el criterio para la precisión del sistema.

LINEARIDAD DEL METODO.**A) BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFANO**

Cantidad adicionada (mg/ml)			Cantidad recuperada (mg/ml)		
No. de muestras/concentración			No. de muestras/concentración		
1	2	3	1	2	3
18	18	18	18.52	18.20	18.68
30	30	30	30.71	30.35	30.95
36	36	36	37.04	36.66	36.27

RESULTADOS ESTADISTICOS

PARAMETROS	TEORICOS	OBTENIDOS
Pendiente	$m \approx 1$	1.0115
Intercepto	$b \approx 0$	0.2767
Coefficiente de correlación	$r \geq 0.99$	0.9994
Coefficiente de determinación	$r^2 \geq 0.98$	0.9988
Promedio de recobro	97%-103%	102.21%
Coefficiente de variación	$CV \leq 3.0\%$	1.07%

Ya que el promedio del por ciento de recobro está entre 97% - 103%, $m \approx 1$, $b \approx 0$, $r^2 \geq 0.98$ y el $CV \leq 3.0\%$, cumple con los criterios para la de linealidad del método

LINEARIDAD DEL METODO.**B) CLORHIDRATO DE EFEDRINA**

Cantidad adicionada (mg/ml)			Cantidad recuperada (mg/ml)		
No. de muestras/concentración			No. de muestras/concentración		
1	2	3	1	2	3
3	3	3	3.1463	3.1125	3.0788
5	5	5	5.0013	5.0050	5.0125
6	6	6	6.0688	6.0675	6.0950

RESULTADOS ESTADISTICOS

PARAMETROS	TEORICOS	OBTENIDOS
Pendiente	$m = 1$	0.9823
Intercepto	$b = 0$	0.1480
Coefficiente de correlación	$r \geq 0.99$	0.9994
Coefficiente de determinación	$r^2 \geq 0.98$	0.9988
Promedio de recobro	97%-103%	101.72%
Coefficiente de variación	$CV \leq 3.0\%$	1.64%

Ya que el promedio del por ciento de recobro está entre 97% - 103%, $m = 1$, $b = 0$, $r^2 \geq 0.98$ y el $CV \leq 3.0\%$, cumple con los criterios para de linealidad del método.

LINEARIDAD DEL METODO.**C) MALEATO DE CLORFENIRAMINA**

Cantidad adicionada (mg)			Cantidad recuperada (mg)		
No. de muestra/concentración			No. de muestra/concentración		
1	2	3	1	2	3
24	24	24	24.25	24.00	24.57
40	40	40	41.21	40.41	40.64
48	48	48	48.79	48.50	48.10

RESULTADOS ESTADISTICOS

PARAMETROS	TEORICOS	OBTENIDOS
Pendiente	$m \approx 1$	1.0111
Intercepto	$b \approx 0$	0.0833
Coefficiente de correlación	$r \geq 0.99$	0.9995
Coefficiente de determinación	$r^2 \geq 0.98$	0.9989
Promedio de recobro	97%-103%	101.32%
Coefficiente de variación	$CV \leq 3.0\%$	0.9483%

Ya que el promedio del por ciento de recobro está entre 97% - 103%, $m \approx 1$, $b \approx 0$, $r^2 \geq 0.98$ y el $CV \leq 3.0\%$, cumple con los criterios para la de linealidad del método.

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%.**A) BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFANO.**

<i>Muestra</i>	<i>Cantidad recuperada (mcg/ml)</i>	<i>% de recobro R</i>
<i>1</i>	<i>0.1218</i>	<i>102.35</i>
<i>2</i>	<i>0.1214</i>	<i>101.16</i>
<i>3</i>	<i>0.1238</i>	<i>103.17</i>
<i>4</i>	<i>0.1234</i>	<i>102.80</i>
<i>5</i>	<i>0.1235</i>	<i>102.94</i>
<i>6</i>	<i>0.1224</i>	<i>101.97</i>

Promedio del por ciento recuperado (R) = 102.40

Desviación estándar (DE) = 0.7442

Coefficiente de variación (CV) = 0.73%

Ya que el promedio del por ciento de recobro está entre 97%-103%, y el CV \leq 3.0%, se cumple con los criterios de aceptación para la exactitud y repetibilidad al 100 por ciento del método.

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%.

B) CLORHIDRATO DE EFEDRINA

<i>Muestra</i>	<i>Cantidad recuperada (mcg/ml)</i>	<i>% de recobro R</i>
1	0.4001	100.03
2	0.4004	100.10
3	0.4010	100.25
4	0.4006	100.14
5	0.4009	100.22
6	0.4026	100.66

Promedio del por ciento recuperado (R) = 100.23%

Desviación estándar (DE) = 0.2238

Coefficiente de variación (CV) = 0.22%

Ya que el promedio del por ciento de recobro está entre 97%-103%, y el CV \leq 3.0%, se cumple con los criterios de aceptación para la prueba de exactitud y repetibilidad al 100 por ciento del método.

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%.

C) MILEATO DE CLORFENIRAMINA

<i>Muestra</i>	<i>Cantidad recuperada (mcg/ml)</i>	<i>% de recobro R</i>
<i>1</i>	<i>2.06039</i>	<i>103.02</i>
<i>2</i>	<i>2.02041</i>	<i>101.02</i>
<i>3</i>	<i>2.03189</i>	<i>101.60</i>
<i>4</i>	<i>2.01320</i>	<i>100.66</i>
<i>5</i>	<i>2.03520</i>	<i>101.76</i>
<i>6</i>	<i>2.04280</i>	<i>102.14</i>

Promedio del por ciento recuperado = 101.70%

Desviación estándar (DE) = 0.8359

Coefficiente de variación (CV) = 0.82%

Ya que el promedio del por ciento de recobro está entre 97%-103%, y el CV \leq 3.0%, se cumple con los criterios de aceptación para la exactitud y repetibilidad al 100 por ciento del método. al 100 por ciento del método.

PRECISION (REPRODUCIBILIDAD).

A) BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFANO

		ANALISTA	
		UNO	DOS
D I A	U	108.95	108.26
	N	114.89	108.95
	O	113.47	112.80
	D	113.60	106.78
	O	109.00	108.31
	S	109.17	112.58

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA (ANADEV).

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F _{cal}	F _{0.05} *
Analista	1	10.8300	10.8300	3.5933	38.51
Día	2	6.0279	3.0140	0.3834	6.06
Error	8	62.8940	7.8618	----	----

Interpretación de los resultados:

Como $F_a < F_{gl/gld}; 0.05$ el método analítico es reproducible por los analistas.

Como $F_d < F_{gl/d}; 0.05$ el método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista.

PRECISION (REPRODUCIBILIDAD).**B) CLORHIDRATO DE EFEDRINA**

		ANALISTA	
		UNO	DOS
D	U	104.65	101.98
	N	102.63	103.13
I	O	104.90	103.38
	D	104.08	101.75
A	O	103.90	104.20
	S	103.98	101.65

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA (ANADEVA).

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	Fcal	F_{0.05}*
Analista	1	5.40023	5.40020	9.4730	38.51
Día	2	0.14012	0.57006	0.5428	6.06
Error	8	8.40154	1.05019	----	----

Interpretación de los resultados:

Como $F_a < F_{gl/gd}; 0.05$ el método analítico es reproducible por los analistas.

Como $F_d < F_{gl/gle}; 0.05$ el método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista.

PRECISION (REPRODUCIBILIDAD).

C) MALEATO DE CLORFENIRAMINA

		ANALISTA		
		UNO	DOS	
D I A	U	93.81	91.78	
	N	97.30	95.97	
	O	93.68	94.83	
	D	D	95.96	98.36
		O	91.89	96.83
		S	96.98	92.34

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA (ANAEVA).

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	Fcal	F _{0.05} *
Analista	1	0.01893	0.01893	0.0093	38.51
Día	2	4.08500	2.04250	0.3148	6.06
Error	8	51.9000	6.48750	-----	-----

Interpretación de los resultados:

Como $F_a < F_{gla/gld}; 0.05$ el método analítico es reproducible por los analistas.

Como $F_d < F_{gld/gle}; 0.05$ el método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analista.

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA.

Se determinó la estabilidad de la muestra bajo las siguientes condiciones:

a) Temperatura ambiente durante 24 horas.

b) Temperatura ambiente durante 24 horas, protegida de la luz.

Se utilizó una solución de referencia recientemente preparada a cada tiempo de reanálisis y las determinaciones se efectuaron por un mismo analista.

A) BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFANO.

CONDICION/TIEMPO (%)		
INICIAL	T.A./24 HORAS	T.A./24 HORAS PROTEGIDA DE LA LUZ
102.96	102.52	102.82
103.11	102.91	103.38
102.67	102.71	102.31

B) CLOROHIDRATO DE EFEDRINA

CONDICION/TIEMPO (%)		
INICIAL	T.A./24 HORAS	T.A./24 HORAS PROTEGIDA DE LA LUZ
101.72	100.18	101.28
102.29	100.99	102.42
102.76	101.11	102.70

C) MALEATO DE CLORFENIRAMINA

CONDICION/TIEMPO (%)		
INICIAL	T.A./24 HORAS	T.A./24 HORAS PROTEGIDA DE LA LUZ
101.46	99.98	101.00
102.18	100.88	102.32
103.21	101.58	103.18

RESULTADOS

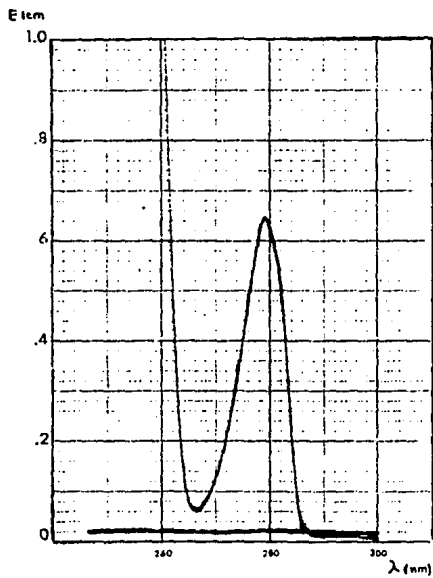
INTERVALO DE CONFIANZA		
PRINCIPIO ACTIVO	T.A./ 24 HORAS	T.A./24 HORAS SIN LUZ
<i>Bromohidrato de dextrometorfano</i>	-0.6004 a 0.2004	-0.8522 a 0.7122
<i>Clorhidrato de efedrina</i>	-2.4791 a -0.5209	-1.3637 a 1.1037
<i>Maleato de clorfeniramina</i>	-2.9638 a 0.0238	-1.9710 a 1.7510

FACTOR I		
PRINCIPIO ACTIVO	T.A./ 24 HORAS	T.A./24 HORAS SIN LUZ
<i>Bromohidrato de dextrometorfano</i>	99.81%	99.92%
<i>Clorhidrato de efedrina</i>	98.54%	99.88%
<i>Maleato de clorfeniramina</i>	98.56%	99.89%

Ya que en el IC se incluye el valor cero y/o el valor de la media para el factor I se encuentra entre 97 - 103 por ciento, la muestra es estable por 24 horas en condiciones ambientales y también lo es protegida de la luz.

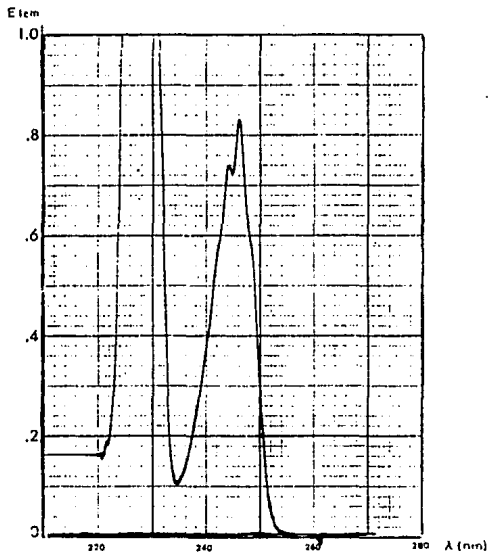
ESPECIFICIDAD DE LA MUESTRA.

A) BROMOHIDRATO DE DEXTROMETORFANO.



Espectro UV del Bromohidrato de Dextrometorfano.

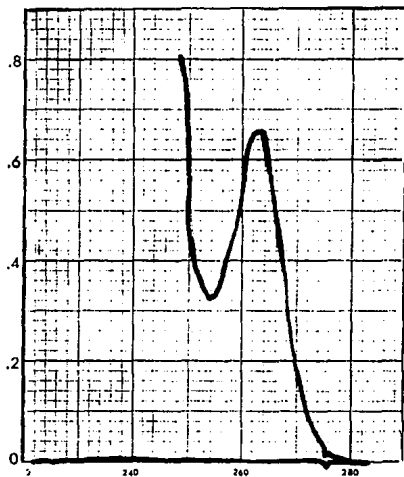
B) CLORHIDRATO DE EFEDRINA.



Espectro UV del Clorhidrato de Efedrina.

ESPECIFICIDAD DE LA MUESTRA.

C) MALEATO DE CLORFENIRAMINA.



Espectro UV del Maleato de Clorfeniramina.

El método desarrollado es capaz de cuantificar los principios activos de interés, sin que exista interferencia de las demás sustancias presentes en el jarabe.

DISK STORAGE BY DOS

Este estudio se realizó con el objeto de desarrollar un método de análisis para la determinación de Bromohidrato de Dextrometorfano, Clorhidrato de Efedrina y Maleato de Clorfeniramina presentes en un jarabe que resultara reproducible, específico, exacto y confiable.

De acuerdo a los resultados obtenidos se observa lo siguiente:

LINEARIDAD DEL SISTEMA:

La linealidad de la respuesta medida vs. la concentración de la sustancia se probó para asegurar la directa proporcionalidad para el rango de trabajo aceptado, para los tres principios activos, demostrándose que los métodos establecidos tienen un comportamiento lineal

PRECISION DEL SISTEMA:

La precisión nos da la distribución de los resultados de pruebas individuales de una solución de referencia alrededor de su promedio y en base a los resultados obtenidos en esta prueba, podemos decir que el método es preciso ya que cumple con los criterios para la precisión del sistema.

LINEARIDAD DEL METODO:

Los por cientos recuperados y los CV a cada nivel y los globales de todo el intervalo de linealidad, así como los coeficientes de correlación y de determinación están dentro de los

criterios de aceptación para la linealidad del método, por lo cual podemos decir que la respuesta es lineal en todo el rango de concentración establecido incluyendo al 100 por ciento.

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%:

La exactitud es la cercanía entre el valor del resultado de la prueba individual y el valor real del resultado de la prueba. Los resultados obtenidos en este estudio para la exactitud y repetibilidad en los tres principios activos analizados cumplen con los criterios de aceptación para esta prueba.

PRECISION (REPRODUCIBILIDAD):

La precisión del método es una medida de la reproducibilidad del método. En este trabajo se evaluó la reproducibilidad para conocer el efecto del analista sobre el método en diferentes días para cada principio activo. Con los resultados obtenidos, el método analítico es reproducible por los analistas y reproducible en distintos días por un mismo analista para cada uno de los tres principios activos.

ESPECIFICIDAD PARA METODOS DE CONTROL DE CALIDAD:

Se probó la especificidad del método para cada uno de los principios activos, dandonos como resultado que el método desarrollado es capaz de cuantificar solamente a los principios activos de interés, sin que exista interferencia alguna con cualquier otra sustancia presente.

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA ANALITICA PARA CONTROL DE CALIDAD:

Para realizar esta prueba se almacenaron las soluciones a temperatura ambiente por 24 horas y a temperatura ambiente protegidas de la luz por 24 horas, se corrieron para cada tiempo y condición soluciones de referencia recién preparadas para cada uno, y las determinaciones se hicieron por un mismo analista. Los resultados obtenidos demuestran que las muestras preparadas para la cuantificación de cada uno de los principios activos conservan su integridad fisicoquímica y su concentración, por lo tanto, la muestra analítica es estable después de almacenarse bajo condiciones ya establecidas.

VI. CONCLUSIONS

Validar un método analítico significa documentar con alto grado de seguridad, todas aquellas variables críticas que ocurren durante un estudio de determinación cuantitativa, para asegurar que los resultados obtenidos sean confiables.

Considerando la variedad de ensayos es lógico que los diferentes métodos analíticos requieran diferentes esquemas de validación. La validación es única para cada método y debe ser consistente con el propósito del método.

Por lo cual en este trabajo se presentó el desarrollo de un método analítico que permite separar y cuantificar Bromohidrato de dextrometorfano, Clorhidrato de Efedrina y Maleato de Clorfeniramina presentes en un jarabe. Posteriormente se procedió a la validación del método analítico, con ello se demostró que la metodología analítica es específica, reproducible y exacta bajo las condiciones de operación establecidas.

VIROLOGIA

1.- *Ander Paul y Anthony J. Sonnessa. Principios de Química. Introducción a los conceptos teóricos. Primera Edición, 1973. Séptima reimpresión, 1982. Ed. Limusa. México, D. F. p.p.*

81

2.- *Carsolio Pacheco, Ma. del Rosario. Gula Profesional de Medicamentos. Manual de Consulta para Médicos. Odontólogos y Farmacéuticos. Tercera Edición. Ed. El Manual Moderno S. A. de C. V. México, 1989. Pág: 274, 301, 302,*

308.

3.- *Comisión Técnico-Consultiva. Fármacos 1973. Comité Editor de Fármacos. México, D. F. 1973. Pág: 69 - 71, 82 - 84.*

4.- *Comité de Elaboración de Gulas Oficiales de Validación de la Dirección General de Insumos para la Salud, S.S.A. Validación de Métodos Analíticos. Pág: 1 - 71.*

5.- *Farmacopea Británica. Volumen I y volumen II. Londres, Inglaterra 1990. pág: 105, 106, 143, 173, 174*

6.- *Farmacopea de los Estados Unidos. Formulario Nacional. Vigésimo segunda revisión. Washington, D. C. 1990. Pág: 290, 499, 1710 - 1712.*

7.- *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Quinta edición. México, 1988. pág: 151 -*

154, 595, 623, 624, 1088, 1125, 1126.

8.- Florey Klaus. Procedimientos Analíticos de los Fármacos. Volumen 7. Primera Edición.

Ed. Prensa Académica. USA, 1978. Pág: 45 - 75.

9.- Florey Klaus. Procedimientos Analíticos de los Fármacos. Volumen 15. Primera Edición.

Ed. Prensa Académica. USA, 1983. Pág: 234 - 272.

10.- Gessner G. Hawley. Diccionario de Química y de Productos Químicos. Segunda Edición.

Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España, 1985. Pág: 271, 339.

11.- Goodman Gilman Alfred, Rall W. Theodore, Nies S. Alan, Taylor Palmer. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Octava Edición. Ed. Médica Panamericana. México, D.

F., 1991. Pág: 198, 221, 490, 496, 508, 509, 571, 573, 574, 576, 16|4.

12.- Guerra Johnny. Validación de Métodos Analíticos por los Laboratorios de la FDA.

Tecnología Farmacéutica. Vol. 10. No. 1 - 3. Publicaciones Aster.

Springfield, Oregon USA. Marzo, 1986. Pág: 74, 77.

13.- Hüni, J. E. S. Ph.d. Salkeld, R. M., B. A., B. M., B. CH. Bromohidrato de Dextrometorfano. Segunda Edición. División Química de Vitaminas. Departamento de

Industrias Farmacéuticas. Compañía F. Hoffmann - La Roche & CO. Basle, Switzerland.

Julio, 1978.

14.- Inman L. Eugene, et. al. Eli Lilly and Company. Métodos Generales de Validación. Guías para Productos Farmacéuticos. Revista de Ciencias Cromatográficas. Vol. 25. Indianapolis, Indiana, Junio, 1987. Pág: 252 - 256.

15.- Instituto Mexicano del Seguro Social. Subdirección General de Obras y Abastecimientos. Jefatura de Control de Calidad. Norma IMSS JCC 01/MS.360. Espectrofotometría de Absorción Ultravioleta Visible. México, julio de 1982.

16.- Katzung, B. G. Farmacología Básica y Clínica. Tercera Edición. Ed. El Manual Moderno. México, 1987. Pág: 2, 91, 95, 196, 197, 236, 237, 361, 818, 820.

17.- Larry, W. and Paul PhD. Perspectivas de la Validación de Métodos Analíticos de la Farmacopea de los Estados Unidos. Tecnología Farmacéutica. Vol. 15. No. 1 - 4. Publicaciones Aster. Springfield, Oregon USA. Marzo, 1991. Pág: 136 - 138.

18.- Litter, Manuel. Farmacología Experimental y Clínica. Séptima Edición. Ed. Limisa. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. febrero, 1988. Pág: 474, 496 -499, 573 - 582, 847 - 851.

19.- Maron H. Samuel y Prutton, F. Carl. Fundamentos de Fisicoquímica. Primera Edición 1968, Decimotercera reimpresión, 1982. Ed. Limusa. México, D. F. Pág: 724.

20.- Reynolds, E. F. James. Martindale. Extrafarmacopea. Vigésimo novena Edición. Londres, Inglaterra, 1989. Pág: 448, 908, 1462, 1463.

21.- Schenk, H. George and Hahn B: Richard. Química Analítica Cuantitativa, 1984. Pág: 307, 308, 316, 317.

22.- The Merck Index. (Enciclopedia de Químicos, Fármacos y Biológicos). Décimo novena Edición. Editado por Susan Budavari. Merck & CO., Inc. Rahway, N. J., USA, 1989. Pág: 565.

23.- Willard, H. H., Merritt, L. L. Jr., Dean, A. J., Settle, A. F. Jr. Métodos Instrumentales de Análisis. Segunda Edición en español de la sexta en inglés: Ed. C. E. C. S. A. México, octubre de 1986. Pág: 29, 30, 47, 48, 49, 82, 83, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 104, 105.

VII ANEXOS

ANEXO I.

PREPARACION DE SOLUCIONES DE PRUEBA Y SOLUCIONES INDICADORAS

SOLUCIONES DE PRUEBA:

A) SOLUCION DE NITRATO DE PLATA.

En un matraz volumétrico de 100 ml, disolver aproximadamente 17.5 g de nitrato de plata y llevar al aforo con agua. Estandarizar la solución como se indica a continuación: pasar a un matraz cónico alrededor de 100 mg exactamente pesados de cloruro de sodio grado reactivo, previamente secado a 110 °C durante dos horas, disolver en 5 ml de agua y agregar 5 ml de ácido acético, 50 ml de metanol y 3 gotas de solución indicadora de eosina Y, agitar con agitador magnético y titular con la solución de nitrato de plata. Calcular la normalidad, considerando que cada mililitro de nitrato de plata 0.1 N, es equivalente a 5.843 mg de cloruro de sodio.

B) SOLUCION DE CLORURO FERRICO.

Disolver 9 g de cloruro férrico en agua y llevar a 100 ml.

C) SOLUCION DE ACETATO MERCURICO.

Disolver 6.0 g de acetato mercurico en ácido acético glacial y aforar a 100 ml. Guardar en recipientes cerrados herméticamente, protegidos de la luz.

D) SOLUCION CONCENTRADA DE AMONIACO.

Usar grado reactivo. Es una solución saturada de amoniaco en agua que tiene una concentración entre 28 y 30 por ciento.

SOLUCIONES INDICADORAS:

A) ANARANJADO DE METILO.

Disolver 100 mg de anaranjado de metilo en 100 ml de agua y filtrar si es necesario.

B) CRISTAL VIOLETA.

Disolver 100 mg de cristal violeta en 10 ml de ácido acético glacial.

C) EOSINA Y.

Disolver 50 mg de eosina Y, en 10 ml de agua.

ANEXO II.

BIODISPONIBILIDAD DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS

METABOLITOS	RANGO (%)
<i>Dextrometorfano</i>	0.0 - 1.85
<i>Dextroorfano</i>	2.9 - 30.60
<i>(3)-hidroximorfano</i>	2.9 - 21.50
<i>(+)-metoximorfano</i>	0.0 - 2.46

CUADRO No. 1. Biodisponibilidad del Bromohidrato de Dextrometorfano y sus metabolitos.

METABOLITOS	RANGO (%)
<i>Clorhidrato de efedrina</i>	55 - 75
<i>l-Norefedrina</i>	8 - 20
<i>l-p-hidroxinorefedrina, ac.benzoico y 1-fenil-propano-1,2-diol.</i>	4 - 13

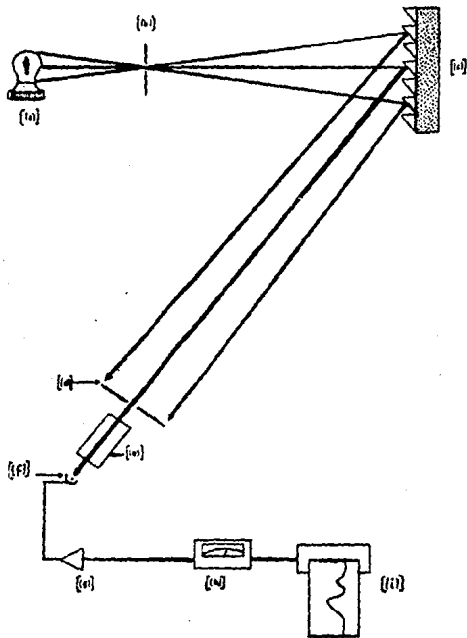
CUADRO No. 2 Biodisponibilidad del Clorhidrato de Efedrina y sus metabolitos.

METABOLITOS	RANGO (%)
<i>Maleato de Clorfeniramina despues de dosis oral unica.</i>	21
<i>Maleato de Clorfeniramina despues de varias dosis por via oral.</i>	34
<i>Metabolito desmetilado.</i>	22
<i>Metabolito bidesmetilado.</i>	2

CUADRO No. 3. Biodisponibilidad del Maleato de Clorfeniramina y sus metabolitos.

ANEXO III.

ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA VISIBLE.



Emisión de luz blanca o ultravioleta.

ANEXO IV.

<i>Disolvente</i>		<i>Disolvente</i>	
Acetato de n-butilo	254	Glicerol	207
Acetato de etilo	255	Hexadecano	200
Acetato de pentilo	212	Hexano	210
Acetona	330	Metanol	210
Acetonitrilo	190	Metilciclohexano	210
Acido acético	260	Metilacetona	330
Agua	191	Metilisobutilcetona	335
Benceno	280	2-metil-propanol	230
1-Butanol	210	N-metilpirrolidona	285
2-Butanol	260	Piridina	330
Ciclohexano	210	1-propanol	210
1-clorobutano	220	2-propanol	210
Cloroformo (estabi-		Sulfóxido de dimetilo	265
lizado con etanol	245	Tetracloroetileno (es-	
Cloruro de etileno	228	tabilizado con timol)	290
1,2-Dicloroetano	226	Tetracloruro de carbono	265
1,2 Dimetoxietano	240	Tetrahidrofurano	220
N,N-Dimetilacetamida	268	Tolueno	286
N,N-Dimetilformamida	270	1,1,2-Tricloro-1,2-	
1,4-Dioxano	215	trifluoroetano	321
Disulfuro de carbono	380	2,2,4-Trimetilpentano	215
Etanol	210	o-xileno	290
Eter dietílico	218		

Límites ultravioletas de disolventes de grado espectral (trayecto de 10 nm con respecto a agua destilada).

ANEXO V.

PARAMETROS A EVALUAR DEPENDIENDO DE LA APLICACION DEL METODO.

PARAMETROS	CONTROL DE CALIDAD	INDICADORES DE ESTABILIDAD		BIODISPONIBILIDAD	REVALIDACION DEL METODO	
		B.C.	A.C.		S.C.C.O.	C.C.C.O.
LINEARIDAD Y PRECISION DEL SISTEMA	X	X	X	X	X	X
LIMITE DE DETECCION		X		X		
LIMITE DE CUANTIFICACION		X		X		
EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%	X	X	X	X	X	X
LINEARIDAD DEL METODO	X	X	X	X	X	X
PRECISION (REPRODUCIBILIDAD)	X	X	X	X		X
ESPECIFICIDAD (C.C.)	X	X	X	X	X	X
ESPECIFICIDAD (ESTABILIDAD)		X	X			
TOLERANCIA DEL SISTEMA		X	X	X		X
ESTABILIDAD DE LA MUESTRA	X	X	X	X		

B.C. = **BAJAS CONCENTRACIONES**

A.C. = **ALTAS CONCENTRACIONES**

S.C.C.O. = **SIN CAMBIO EN CONDICIONES DE OPERACION**

C.C.C.O. = **CON CAMBIO EN CONDICIONES DE OPERACION**

ANEXO VI.

G. S. A. N. O.

- b* = Ordenada al origen o intercepto
- r* = Coeficiente de Correlación
- r*² = Coeficiente de Determinación
- CV* = Coeficiente de Variación
- IC* = Intervalo de Confianza al 95 por ciento
- m* = Pendiente
- Y* = Media aritmética
- N* = Numero total de determinaciones
- DE* = Desviación Estandar
- R* = Por ciento recuperado
- t* = Valor de la Distribucion *t* de Dunnet con una probabilidad acumulada de
0.975
- F* = Valor de la distribucion *F* de Fisher con una probabilidad acumulada de
0.975
- gl* = Grados de libertad
- I* = Factor para calculos en la Estabilidad de la muestra

ANEXO VII.

TABLA I. VALORES DE LA DISTRIBUCION t DE STUDENT

	.00	.25	.10	.05	.025*	.01	.005	.0015	.001	.0005
1	.325	1.000	3.078	6.314	12.705	31.821	63.657	127.32	318.31	636.62
2	.289	.816	1.866	2.920	4.303	6.965	9.925	14.089	23.326	31.598
3	.277	.765	1.638	2.353	3.182	4.541	5.811	7.453	10.213	12.924
4	.271	.741	1.533	2.132	2.776	3.747	4.601	5.598	7.173	8.610
5	.267	.727	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	4.773	5.893	6.869
6	.265	.727	1.440	1.943	2.467	3.143	3.707	4.317	5.200	5.959
7	.263	.711	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.019	4.725	5.408
8	.262	.704	1.397	1.860	2.304	2.896	3.335	3.833	4.501	5.041
9	.261	.703	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	3.690	4.297	4.781
10	.260	.700	1.372	1.812	2.228	2.764	3.189	3.581	4.144	4.587
11	.260	.697	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	3.497	4.025	4.437
12	.259	.695	1.356	1.782	2.179	2.681	3.053	3.428	3.930	4.318
13	.259	.694	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.372	3.852	4.221
14	.258	.692	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.326	3.787	4.140
15	.258	.691	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.286	3.733	4.073
16	.258	.690	1.337	1.746	2.12	2.583	2.921	3.252	3.686	4.015
17	.257	.689	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.22	3.646	3.963
18	.257	.688	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.197	3.610	3.922
19	.257	.688	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.174	3.579	3.883
20	.257	.687	1.325	1.725	2.085	2.528	2.845	3.153	3.552	3.850
21	.257	.686	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.135	3.527	3.819
22	.256	.686	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.119	3.505	3.792
23	.256	.685	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.104	3.485	3.767
24	.256	.685	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.091	3.467	3.745
25	.256	.684	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.078	3.450	3.723
26	.256	.684	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.067	3.435	3.707
27	.256	.684	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.057	3.421	3.690
28	.256	.683	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.047	3.408	3.674
29	.256	.683	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.038	3.396	3.659
30	.256	.683	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.030	3.385	3.646
40	.253	.681	1.303	1.684	2.021	2.423	2.724	2.971	3.307	3.551
60	.254	.679	1.296	1.671	2.000	2.390	2.680	2.915	3.232	3.460
120	.254	.677	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617	2.860	3.168	3.373
	.253	.674	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	2.807	3.090	3.291

Probabilidad acumulada de 0.975

TABLA II.

VALORES DE LA DISTRIBUCION F DE DUNNETT
CON UNA PROBABILIDAD ACUMULADA DE 0.975

COMPARACIONES									
<i>f</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	2.57	3.03	3.29	3.48	3.62	3.73	3.82	3.90	3.97
6	2.45	2.86	3.10	3.26	3.39	3.49	3.57	3.64	3.71
7	2.36	2.75	2.97	3.12	3.24	3.33	3.41	3.47	3.53
8	2.31	2.67	2.88	3.02	3.13	3.22	3.29	3.35	3.41
9	2.26	2.61	2.81	2.95	3.05	3.14	3.20	3.26	3.32
10	2.23	2.57	2.76	2.89	2.99	3.07	3.14	3.19	3.24
11	2.20	2.53	2.72	2.84	2.94	3.02	3.08	3.14	3.19
12	2.18	2.50	2.68	2.81	2.90	2.98	3.04	3.09	3.14
13	2.16	2.48	2.65	2.78	2.87	2.94	3.00	3.06	3.10
14	2.14	2.46	2.63	2.75	2.84	2.91	2.97	3.02	3.07
15	2.13	2.44	2.61	2.73	2.82	2.89	2.95	3.00	3.04
16	2.12	2.42	2.59	2.71	2.80	2.87	2.92	2.97	3.02
17	2.11	2.41	2.58	2.69	2.78	2.85	2.90	2.95	3.00
18	2.10	2.40	2.56	2.68	2.76	2.83	2.89	2.94	2.98
19	2.09	2.39	2.55	2.66	2.75	2.81	2.87	2.92	2.96
20	2.09	2.38	2.54	2.65	2.73	2.80	2.86	2.90	2.95
24	2.06	2.35	2.51	2.61	2.70	2.76	2.81	2.86	2.90
30	2.04	2.32	2.47	2.58	2.66	2.72	2.77	2.82	2.86
40	2.02	2.29	2.44	2.54	2.62	2.68	2.73	2.77	2.81
60	2.00	2.27	2.41	2.51	2.58	2.64	2.69	2.73	2.77
120	1.98	2.24	2.38	2.47	2.55	2.60	2.65	2.69	2.73
	1.96	2.21	2.35	2.44	2.51	2.57	2.61	2.65	2.69

f = Grados de libertad.