

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

2  
24

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"

"APLICACIÓN DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE  
MANUFACTURA EN FARMOQUÍMICOS  
UTILIZANDO COMO MODELO LA FENITOÍNA".

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

SUSTENTA:  
LUCÍA AGUILAR FERNÁNDEZ

ASESOR: M. en C. CARLOS LARIOS CÁRDENAS

SEPTIEMBRE DE 1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

Todo el material contenido en esta tesis esta 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.

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

2  
24

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"

"APLICACIÓN DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE  
MANUFACTURA EN FARMOQUÍMICOS  
UTILIZANDO COMO MODELO LA FENITOÍNA".

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

SUSTENTA:  
LUCÍA AGUILAR FERNÁNDEZ

ASESOR: M. en C. CARLOS LARIOS CÁRDENAS

SEPTIEMBRE DE 1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
I. ANTECEDENTES.....	4
A. GENERALIDADES.....	4
1. SISTEMA DE GARANTÍA DE CALIDAD.....	5
2. AUDITORIA.....	6
3. PROPIEDADES FÍSICAS DE LA FENITOINA.....	6
a) ESPECTRO INFRARROJO.....	6
b) RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.....	8
c) ESPECTRO ULTRAVIOLETA.....	9
d) PROPIEDADES CRISTALINAS.....	10
e) INTERVALO DE FUSIÓN.....	10
4. SOLUBILIDAD.....	10
5. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS DE LA FENITOINA.....	10
a) USOS.....	10
b) REACCIONES ADVERSAS.....	11
(1) SOBREDOSIS.....	13
(2) INTERACCIONES.....	13
c) CONTRAINDICACIONES.....	13
d) VÍAS DE ADMINISTRACIÓN.....	14
e) FORMAS FARMACÉUTICAS Y PRESENTACIONES.....	14
f) FARMACOCINÉTICA.....	15
g) METABOLISMO.....	15
B. DOCUMENTACIÓN.....	16
1. REQUISITOS GENERALES DE UN DOCUMENTO.....	17
2. REGISTROS.....	18
a) REGISTROS DE USO DE EQUIPO.....	19
b) REGISTROS DE USO DE REACTIVOS.....	19
c) REGISTROS DE TRABAJO.....	20
C. EQUIPO E INSTRUMENTOS.....	21
1. DEFINICIONES.....	21
2. GENERALIDADES.....	21
3. CALIBRACIÓN.....	23
a) COMPONENTES DEL PROGRAMA DE CALIBRACIÓN.....	25
4. CALIFICACIÓN.....	26
D. INSTALACIONES.....	27
1. CARACTERÍSTICAS DE LAS INSTALACIONES.....	27
2. CONDICIONES AMBIENTALES.....	27
3. ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS.....	28
II. OBJETIVOS.....	30
III. HIPÓTESIS.....	31
IV. MATERIAL Y MÉTODO.....	32
V. RESULTADOS.....	43
VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	68
VII. CONCLUSIONES.....	69
ANEXOS.....	70
BIBLIOGRAFÍA.....	84

*A mis padres  
Rosa y Enrique  
Gracias por ser mis guías y por  
permitirme llegar a ser lo que ahora soy  
este logro es más de ustedes que mío.  
Nuevamente gracias*

*A mi hermana Luz María  
Por el cariño y apoyo que  
siempre he recibido*

*A Juan Pablo  
Por que su pequeña presencia  
ilumina mi vida*

*A Carlos Larios  
Gracias por su apoyo incondicional,  
por su paciencia y disposición en  
todo momento.*

*A Angélica Díaz  
Por su invaluable amistad y  
cooperación, gracias por  
ser a cada momento mi  
apoyo y compañera.*

*Al jurado*

*M. en C. Carlos Larios Cárdenas*  
*Q. Ma. Guadalupe Miranda Jimeno*  
*Q.F.B. Ma. de los Ángeles Torres*  
*Castellanos*  
*Q. Jorge Rivas Montes*  
*Q. Martha Oliveros García*

*Gracias por sus valiosas*  
*aportaciones en la realización de este*  
*trabajo.*

## RESUMEN

Se realizó la síntesis de la Fenitoína en el Laboratorio de Materias Primas y Síntesis de Medicamentos II (Orgánica) de la Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza (FES-Z) tratando de seguir los lineamientos de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), aplicando el término de BPM en docencia en el área de obtención de insumos para la salud.

En dicha síntesis se evaluaron dos métodos de preparación y después se optimizó el tiempo de reacción y rendimiento bajo el rubro de BPM.

Por medio de este laboratorio el alumno aprende haciendo, por un lado la preparación de un fármaco con actividad terapéutica, esto le permite conocer y evaluar la importancia de este módulo en semestres posteriores de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo (QFB) y por otro lado la utilización de las BPM, bajo el concepto de "hacerlo bien desde la primera vez y con calidad".

Se seleccionó a la fenitoína debido a la disponibilidad de reactivos y materiales para su síntesis, el cual servirá como modelo de la utilización de los factores de documentación, instalaciones, equipo e instrumentos implicados en la manufactura de un producto de acuerdo a los lineamientos establecidos en las guías ya mencionadas.

Los resultados obtenidos muestran que se puede obtener un farmoquímico de alto rendimiento y pureza, asimismo se logró abatir el tiempo de reflujo sin afectar el rendimiento y la calidad del producto obtenido.

De acuerdo con los datos obtenidos en este trabajo, se concluye que se deben de aplicar las BPM en el laboratorio evaluando cada uno de los fármacos propuestos en los manuales del Laboratorio de Materias Primas y Síntesis de Medicamentos II (Orgánica).

## INTRODUCCIÓN

Los farmacéuticos son los responsables de la producción de los bienes e insumos para la salud, dentro de éstos se encuentran los fármacos.

Los fármacos tienen que cumplir con las normas especificadas en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Tales normas establecen las características de calidad, así como los métodos de prueba y análisis que se tienen que realizar para determinar si el fármaco cumple o no con los requerimientos. Las características de calidad se clasifican en físicas, biológicas y químicas, para las pruebas químicas se aplican métodos analíticos que permiten determinar la concentración del fármaco o de un contaminante como pueden ser las sustancias relacionadas.

La preparación de medicamentos debe realizarse siguiendo los procedimientos de buenas prácticas de manufactura reconocidos, por personal debidamente capacitado y bajo estricto control, empleando materias primas con la calidad necesaria para que al final de la fabricación y durante la vida útil, la especialidad farmacéutica o preparado farmacéutico cumpla con las pruebas de identidad, pureza, actividad o potencia y los requisitos de acuerdo a la forma farmacéutica y vía de administración que se definen en la monografía del producto o en cualquier otro capítulo de la Farmacopea o disposiciones reglamentarias aplicables.<sup>1</sup>

Para garantizar la calidad de un fármaco es necesario fabricarlo de acuerdo a ciertos lineamientos, los cuales se han establecido a nivel internacional, a este conjunto de lineamientos se les denomina Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) y las Buenas Prácticas de Manufactura de Farmoquímicos (BPMF), a éstas últimas son a las que nos vamos a referir en particular.

El farmoquímico es una sustancia que se pretende utilizar como principio activo en los productos farmacéuticos, sustancia que es fabricada por medio de síntesis química, biotecnología o por extracción a partir de materiales naturales. Como se puede notar, el farmoquímico es la parte fundamental de un medicamento y es necesario fabricarlo de tal



manera que se logre asegurar que los métodos y controles utilizados en su producción sean operados de tal manera que aseguren la calidad que deben tener.

## **I. ANTECEDENTES**

### **A. Generalidades**

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) son el conjunto de lineamientos, actividades y documentación relacionadas entre sí destinadas a garantizar que los productos tengan y mantengan la identidad, pureza, concentración, potencia e inocuidad requerida para su uso. Dichos lineamientos se dieron a conocer en la década de los 80, en la actualidad las BPM se aplican en todas las áreas de la industria farmacéutica como son: producción, control de calidad, desarrollo farmacéutico, y validación entre otros.

En relación a las Buenas Prácticas de Manufactura las actividades a desarrollar son:

#### Sistemas de control de calidad

1. Control de materia prima y material de empaque
2. Control de acondicionamiento
3. Control en proceso

La documentación que debe tener un producto farmacéutico es:

1. Orden de fabricación
2. Procedimiento de Manufactura
3. Expediente legal
4. Expediente maestro
5. Procedimientos normalizados de operación.

Recordando que la validación es la evidencia documentada de que un sistema es capaz de reproducir consistentemente productos de calidad, tenemos entonces que es muy importante tener sistemas validados de calidad en torno a la Manufactura de farmoquímicos, a su vez respaldado por un sistema de garantía de calidad el cual se describirá brevemente.

## **1. Sistema de Garantía de Calidad**

Es un conjunto de actividades con las cuales se detecta que los Procedimientos Adecuados de Manufactura se estén llevando a cabo en la forma correcta, de acuerdo a los requerimientos y especificaciones de calidad establecidos, más que enfatizar la inspección de productos y la creación de controles finales, dirige sus esfuerzos a la prevención y resolución de los problemas de calidad.

Un sistema de garantía de calidad debe vigilar que:

1. Los procedimientos estándar de operación de las actividades llevadas a cabo en el laboratorio estén en concordancia con los lineamientos de BPM.
2. Verificar los controles internos de los procesos y de la calidad de los productos intermedios.
3. Controlar las condiciones de almacenamiento y envasado de productos intermedios y terminado.
4. Efectuar los muestreos de materias primas, productos intermedios y terminados, su análisis y aprobación, basándose en las especificaciones oficiales y generando el certificado correspondiente.
5. Revisar y aprobar la documentación generada para cada producto, entre ellos los procedimientos estándar de operación.
6. Mantener un museo de muestras de producto terminado.

## **2. Auditoría**

La auditoría es el examen y la verificación del desempeño de procesos y sistemas en comparación con un estándar, se basa en la revisión de la documentación datos y resultados (estática) y la implementación de cada proceso o sistema (dinámica).

La auditoría debe cubrir los sistemas que intervienen en la calidad del producto, su efectividad y formas de evaluación. Para ello existen dos aspectos principales de este plan.

### **1. Calificación:**

- ◇ De equipo
- ◇ De instalaciones
- ◇ De operación

### **2. Sistemas continuos:**

- ◇ Calibración
- ◇ Mantenimiento
- ◇ Capacitación
- ◇ Documentación

## **3. Propiedades Físicas de la Fenitoína.**

### **a. Espectro Infrarrojo.**

El espectro infrarrojo de la fenitoína se muestra en la figura 1. Las bandas de asignación se describen a continuación:

NÚMERO DE ONDA ( $\text{cm}^{-1}$ )	ASIGNACIÓN
3275, 3205	enlace N-H
3064	enlace aromático C-H
1774, 1740, 1719	vibración del enlace carbonilo del anillo de hidantoína
1719, 1599, 1496 1450	vibración del anillo de fenilo
1403	vibración del enlace C-N
747, 690	vibración fuera de plano C-H del fenilo monosustituido

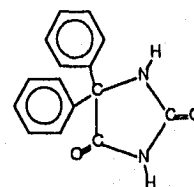


Tabla 1. Asignación de las bandas de absorción en el espectro infrarrojo de la fenitoina.

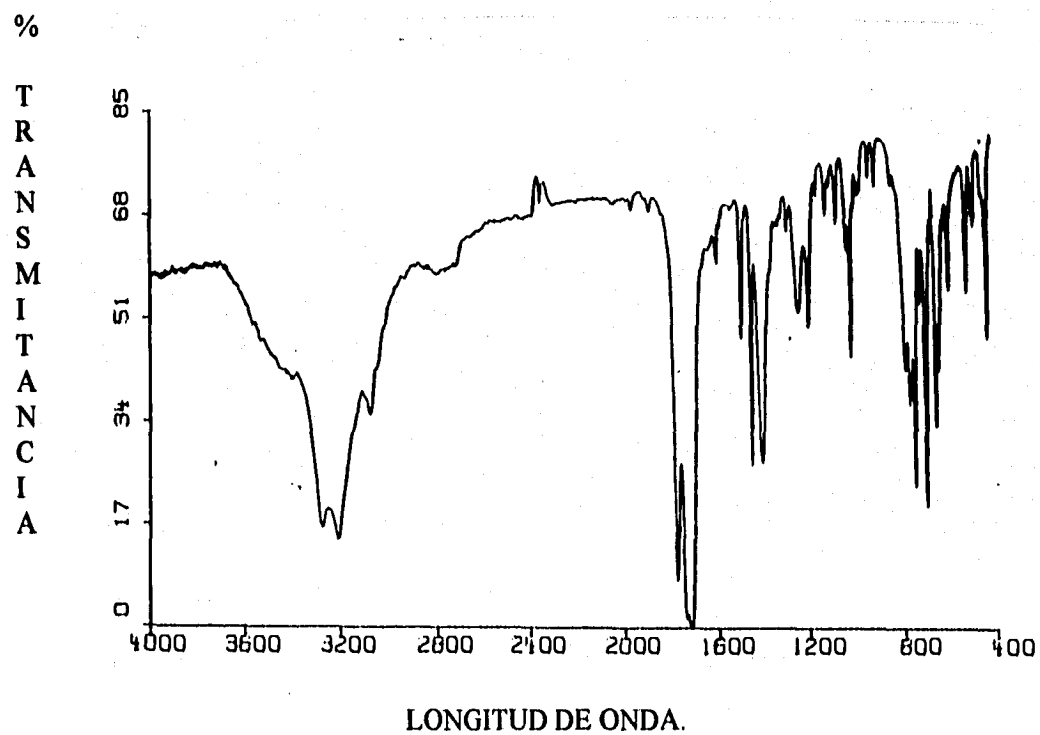


Figura 1. Espectro Infrarrojo de Fenitoina en Kbr.<sup>2</sup>

**b. Resonancia Magnética Nuclear.**

El espectro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de la fenitoína se muestra en la figura 2 y la asignación en la tabla siguiente.

<i>RESONANCIA PPM</i>	<i>MULTIPLICIDAD</i>	<i>INTEGRACIÓN</i>	<i>ASIGNACIÓN</i>
7.3	singlete	10	protones de fenilo
9.2	singlete	1	
10.9	singlete ancho	1	protones de amida

Tabla 2. Espectro de RMN de Fenitoína.

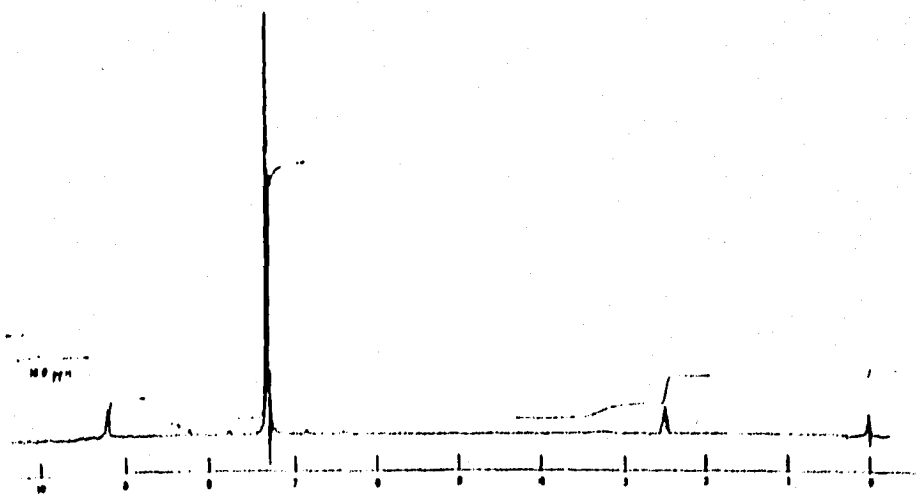
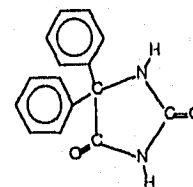


Figura 2. Espectro de RMN de Fenitoína en DMSO.<sup>2</sup>

**c. Espectro Ultravioleta.**

El espectro ultravioleta en metanol de la fenitoína se observa en la figura 3. La absorbancia a 258 nm es 0.293.

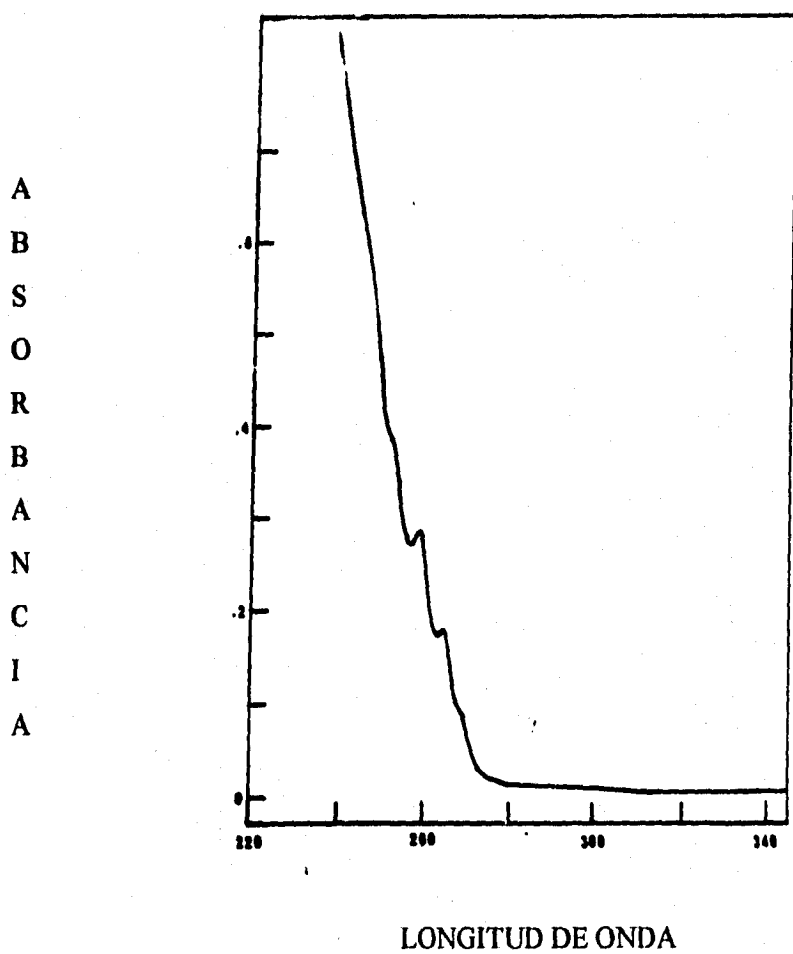


Figura 3. Espectro UV de fenitoína en metanol.<sup>2</sup>

#### **d. Propiedades Cristalinas**

##### **Morfología Cristalina.**

Las características microcristalográficas de la fenitoína se determinaron y reportaron por G. L. Keenan<sup>2</sup>. Al examinar las hojuelas y agujas finas de Fenitoína con un microscopio de polarización, en luz polarizada en paralelo la extinción es negativa, en luz convergente polarizada no se observan interferencias.

Los índices de refracción son:

$$\alpha=1.600 \pm 0.002;$$

$$\beta=1.635 \pm 0.002$$

##### **e. Intervalo de Fusión.**

La fenitoína funde a 295°C-298°C<sup>17</sup>.

##### **f. Solubilidad.**

La fenitoína es prácticamente insoluble en agua, 1 g se disuelve en aproximadamente 60 ml de alcohol, 30 ml de acetona. Es soluble en hidróxidos.

#### **4. Propiedades Farmacológicas de la Fenitoína.**

##### **a. Usos.**

La fenitoína es el fármaco de elección para el manejo de trastornos generalizados tónico-clónicos (gran mal) en adultos y niños mayores.



También es útil en trastornos psicomotores. La fenitoína administrada por vía parenteral se utiliza para el control de estados epilépticos ocurridos durante la neurocirugía. Las investigaciones indican que se puede utilizar también en arritmias cardíacas, trastornos de la conducta y en grandes dosis en el manejo de neuralgia trigeminal, aunque es menos efectiva en este caso en comparación con la carbamazepina.

La introducción del electroencefalograma (EEG) demuestra que las convulsiones epilépticas son caracterizadas por una descarga excesiva de electricidad, aparentemente desde las dendritas de las células piramidales de las neuronas de la corteza cerebral. La naturaleza de las reacciones químicas que ocasionan estas descargas es desconocida.<sup>39</sup>

La fenitoína actúa en la corteza motora, estabiliza la membrana neuronal e inhibe la amplitud de la descarga de ataque. Se cree que el mecanismo es el aumento del flujo de sodio hacia las neuronas, restableciendo la normalidad e incrementando la excitabilidad neuronal normalizándola, se obtiene una reducción en la actividad máxima del área del cerebro responsable de la fase tónica de las crisis tónico-clónicas generalizadas y del efecto excitatorio en el cerebelo y corteza motora. La fenitoína tiene la capacidad de limitar el desarrollo de la actividad máxima, la amplitud del trastorno del foco activo. Ambas características están indudablemente relacionadas con su utilidad clínica.

#### **b. Reacciones Adversas.**

La fenitoína es un anticonvulsivo relativamente seguro, aunque se han observado efectos adversos, el nistagmo puede aparecer a concentraciones séricas de 8 a 20  $\mu\text{g/ml}$ , y siempre se presenta a niveles altos. A concentraciones mayores a 30  $\mu\text{g/ml}$  comúnmente se presenta ataxia y anartria. La hiperplasia gingival y el hirsutismo que se presentan particularmente en los jóvenes son tolerables. Una erupción morbiliforme puede aparecer en los primeros 10 días de tratamiento, y raramente dermatitis exfoliativa o Síndrome de Stevens-Johnson, el fármaco puede suspenderse si esto se presenta. También existen reportes de neuropatía periférica, síndrome de lupus eritematoso, hepatitis, linfadenopatía, anemia

megaloblástica, raquitismo y osteomalasia debida a interferencia con el metabolismo de la vitamina D. El ácido fólico sérico y los niveles de la vitamina K también disminuyen y se han reportado transtornos en el sangrado en recién nacidos de madres que tomaron el fármaco, la sobredosis causa un agudo síndrome cerebelar, delirio y raramente coma.

Las reacciones adversas de la fenitoína sódica ocurren con bastante frecuencia e incluyen náusea, vómito, constipación, ataxia, comerse sílabas al hablar, diplopia, nistagmo y confusión mental junto con dolor de cabeza, vértigo, nerviosismo pasajero e insomnio. Algunos de estos efectos pueden desaparecer al continuar el tratamiento o reducir la dosis.

La sensibilidad e hiperplasia de las encías ocurre frecuentemente, y en particular en pacientes jóvenes, el hirsutismo es un efecto menos frecuente, pero es más perceptible en mujeres jóvenes.

Hay un gran número de reportes de raquitismo, ya que reduce la densidad del hueso, y osteomalasia en pacientes que toman fenitoína, probablemente debido a la inducción por parte de la fenitoína de enzimas del hígado involucradas en el metabolismo de la vitamina D. Ocasionalmente pueden presentarse: poliartropatía, fiebre, hepatitis y linfadenopatía así como hiperglicemia.

En algunos lugares se han descrito casos de leucopenia, trombocitopenia, pancitopenia, granulocitopenia y agranulocitosis. La anemia megaloblástica debida a un uso prolongado que usualmente responde con un tratamiento de ácido fólico.

El riesgo de que el feto pueda desarrollar labio leporino, paladar hendido o lesiones congénitas del corazón se incrementa 2 a 3 veces si la madre es tratada durante el embarazo con fenitoína, sola o en asociación con fenobarbitona, primidona o carbamazepina.<sup>4</sup>

### **1) Sobredosis.**

La sobredosis de fenitoína puede provocar hipotensión, coma y depresión respiratoria. La administración intravenosa de fenitoína sódica es irritante y puede ocasionar flebitis, depresión de la conducción cardíaca, fibrilación ventricular y obstrucción al corazón. La administración rápida causa hipotensión y depresión del sistema nervioso central.

### **2) Interacciones.**

El alcohol acelera el metabolismo de la fenitoína y disminuye su acción, la acetazolamida puede provocar un aumento en la frecuencia de osteomalasia producida por la fenitoína. Puede aumentar el metabolismo de la quinidina y lidocaína reduciendo los efectos antiarrítmicos.

Interacciona con los estrógenos acelerando el metabolismo y favoreciendo el embarazo. El ácido fólico aumenta el metabolismo de la fenitoína disminuyendo los niveles plásmaticos, al disminuir su acción aparecen crisis catalépticas. Es incompatible con sulfato de amikacina, cefapirina sódica y fosfato de clindamicina entre otros.

### **c. Contraindicaciones.**

La fenitoína está contraindicada en pacientes con historia de sensibilidad a hidantoínas. La retirada abrupta de este medicamento puede precipitar estados epilépticos, cuando la dosis necesita reducirse o sustituirse por otro antiepiléptico, esta alteración en la terapia debe hacerse gradualmente. Reportes recientes<sup>4</sup> sugieren una asociación en el uso de anticonvulsivos en mujeres epilépticas y un incremento en la incidencia de defectos del nacimiento en los niños nacidos de estas mujeres. El médico que prescriba debe pensar en el riesgo-beneficio potencial de los agentes antiepilépticos en el tratamiento de mujeres epilépticas con niños pequeños.

**d. Vías de Administración.**

<i>Oral</i>	<i>Intravenosa</i>	<i>Intramuscular</i>
Dosis: 200 a 600 mg diariamente 100 mg 4 veces al día	150 a 250 mg seguida si es necesario de 100 a 150 mg 30 min. después. (La administración intravenosa no debe exceder de 50 mg/min.).	100 a 200 mg cada 6 a 8 hrs hasta un total de 3 ó 4 inyecciones.

*Tabla 3. Vías de Administración de Fenitoína.*

La dosis pediátrica es 1.5 a 4 g/kg. de peso ó 125 mg/m<sup>2</sup> de superficie corporal 2 veces al día, no excediendo de 300 mg al día administrados oral, intravenosa o preferiblemente intramuscular.

**e. Formas Farmacéuticas y Presentaciones.**

- ◇ Cápsulas de liberación rápida de 30 y 100 mg
- ◇ Cápsulas de liberación prolongada de 300 mg
- ◇ Tabletas masticables de 50 mg
- ◇ Frasco ampula de 50 mg/ml y ampolletas de 2 y 5 ml.

Existen dos formas distintas de cápsulas de fenitoína sódica: de liberación rápida y de liberación prolongada. La primera tiene una velocidad de disolución de no menos de 85 % en 30 minutos y la dosis es de 3 a 4 veces al día; mientras que la segunda tiene una velocidad de disolución de 15 a 35 % en 30 minutos, 45 a 65 % en 1 hora y no menos del 85 % en 2 horas y debe usarse 1 vez al día. Estudios comparativos de dosis de 100 mg 3 veces al día de cápsulas de fenitoína de liberación rápida contra una sola dosis diaria de 300 mg de cápsulas de fenitoína

de liberación prolongada indican que la absorción, los niveles plásmaticos máximos, la vida media biológica, los valores entre el pico máximo y mínimo y el recobro urinario son equivalentes. Debido a las diferencias en la velocidad de disolución entre varias marcas, los médicos deben tener precaución al administrarlos a sus pacientes.

#### **f. Farmacocinética.**

La fenitoína se absorbe bien en el tracto digestivo. Es muy soluble en agua pero sus soluciones son demasiado alcalinas (pH 11.0) para poder administrarse por vía parenteral -salvo la intravenosa-, y es bastante irritante para el estómago cuando es ingerida.<sup>3</sup>

Una vez absorbida, la fenitoína pasa a torrente sanguíneo donde se encuentra combinada con las proteínas plasmáticas, especialmente albúmina, alrededor del 90%. Es importante la determinación de la fenitoína en el plasma como guía del tratamiento; los niveles terapéuticos útiles son de 10 a 20  $\mu\text{g/ml}$  (1 a 2  $\text{mg/dl}$ ) de plasma y los niveles tóxicos 20 a 50  $\mu\text{g/ml}$  (2 a 5  $\text{mg/dl}$ ) que se consiguen en 5 a 15 días de administración oral y en pocos minutos por vía intravenosa.

El volumen aparente de distribución es de 0.5 a 0.8 l/kg, la fenitoína se distribuye en el líquido extracelular e intracelular, pasa al líquido cefalorraquídeo en su porción no combinada con las proteínas, alrededor del 10 %, también atraviesa la barrera placentaria; en la leche materna se encuentra en concentración inferior a la del plasma materno.

#### **g. Metabolismo.**

La fenitoína se metaboliza por dos rutas:

- a) Experimenta hidroxilación aromática a 5-p-hidroxifenil-5-fenilhidantoína.
- b) Hidrólisis del anillo de hidantoína a ácido  $\alpha$ -aminoacético.

Se metaboliza en su mayor parte en el hígado, en los microsomas hepáticos, y se oxida a nivel de uno de los grupos fenilo (para-hidroxilación), para conjugarse luego con el ácido glucorónico. El fármaco libre y los metabolitos son eliminados con la bilis en el intestino, desde donde vuelven a absorberse para ser finalmente excretados por el riñón. Una pequeña porción se excreta por la saliva.

Después de un período de 3 días aproximadamente el 4 % de la dosis es excretada intacta en la orina y casi 10.5 % en las heces.

El metabolismo de la fenitoína puede alterarse significativamente por el uso concomitante de otros fármacos. Los barbituratos pueden aumentar el metabolismo de la fenitoína no obstante que su efecto es invariable e impredecible. Los anticoagulantes: disulfiram, fenilbutazona y sulfafenazol, pueden inhibir el metabolismo de la fenitoína de tal modo que se incrementan los niveles séricos del fármaco. Esto puede llevar a un incremento en la incidencia de nistagmo, ataxia y otros efectos tóxicos. La isoniazida inhibe el metabolismo de la fenitoína de modo que la terapia combinada de estos fármacos puede causar toxicidad. Los antidepresivos tricíclicos en altas dosis pueden precipitar trastornos, por lo cual debe ajustarse la dosis de fenitoína. También se sabe que suprime el enlace a proteínas del yodo pero no se han reportado casos de hipotiroidismo.

### **B. Documentación**

La documentación debe usarse como prueba de que un proceso, sistema o equipo ha seguido las BPM y es apropiado para su uso. Puede probar la efectividad de las mediciones realizadas así como ser usada como base para programas de revalidación a intervalos periódicos.

La documentación debe incluir evidencia de:

- Calidad de materiales

- Desempeño y confiabilidad de equipo y sistemas
- Características del área o instalación
- Capacitación del personal

Es necesario establecer para cualquier documento:

- La finalidad que tiene
- Información que debe contener para lograr su finalidad
- Personas que participan en su elaboración
- Personas que lo aplican o departamentos
- A quienes servirá el contenido de la información
- Con que otros documentos se interrelaciona

#### **1. Requisitos Generales de un Documento:**

- ◇ Escritura clara
- ◇ Vocabulario sencillo
- ◇ Definición del tipo, naturaleza, propósito y uso del documento
- ◇ Secuencia lógica
- ◇ Espacios adecuados cuando deba completarse alguna información
- ◇ Revisado por una persona competente y autorizada, firmado y con fecha
- ◇ Emitido vía un sistema de copiado que evite cualquier posibilidad de error en la transcripción

Los documentos se deben:

- \* Colocar donde se necesitan
- \* Usar por quién los requiere
- \* Usar sin modificaciones no autorizadas
- \* Llenar veraz y oportunamente y no alterar los datos obtenidos

- \* Llenar con tinta negra indeleble, nunca con lápiz

No deben enmendarse ni usar corrector, pero si puede corregirse un dato anotado erróneamente tachándolo con una raya y escribiendo el dato correcto, con la fecha e identificación de quién lo corrigió.

Los procedimientos deben incluir instrucciones de trabajo escritas que definan la forma de fabricar e instalar los productos, siempre que la ausencia de tales instrucciones tenga un efecto negativo sobre la calidad, los equipos de producción e instalación, las condiciones ambientales y sobre el cumplimiento de los productos a las normas y programas de aseguramiento de la calidad.

Para una apropiada documentación de las instrucciones y procedimientos de proceso, procedimientos de control estadístico de proceso, hojas de proceso, cartas de ruta y dibujos, es necesario definir todas las actividades de Manufactura y servicio que incluyan:

- \* Secuencia de operaciones
- \* Tipos de trabajo
- \* Condiciones de trabajo
- \* Métodos de trabajo
- \* Almacenamiento de productos en proceso
- \* Materiales
- \* Características y tolerancias
- \* Punto de control, prueba e inspección
- \* Estándares de trabajo
- \* Almacenamiento y conservación

## **2. Registros.**

Es necesario contar con cuadernos especiales en los que se lleven a cabo los registros de las actividades que se desarrollan con el equipo, instrumentos y reactivos , así como también la



síntesis del farmoquímico. Todo ello con el fin de llevar un control documentado de tales actividades y administrar mejor el uso de equipo y reactivos para los usuarios.

**a. Registros de Uso de Equipo.**

Junto a cada aparato se tendrá un cuaderno donde se llevará un registro en el que se anotarán los siguientes datos:

- \* Fecha de utilización
- \* Tiempo empleado
- \* Persona que lo utilizó
- \* Etapa del producto
- \* Producto analizado
- \* Número de lote (en su caso)
- \* Reporte de anomalías si las hubiera
- \* Firma de la persona que lo utilizó

Todos estos datos deben anotarse por el usuario al momento de utilizar el aparato.

**b. Registros de Uso de Reactivos.**

Los reactivos químicos deberán estar debidamente etiquetados con los siguientes datos:

- Nombre químico
- Calidad (RA Reactivo Analítico, QP Químicamente Puro, USP United States Pharmacopoeia, BP Bacteriológicamente Puro).
- Número progresivo de adquisición
- Fecha de adquisición

Es importante que la etiqueta se encuentre en buen estado y sea completamente legible.

Para cada reactivo se deberá llevar un registro en el que se anote:

- \* Identificación del reactivo
- \* Fecha de entrada
- \* Salidas
- \* Saldo
- \* Persona que utilizó el reactivo
- \* Para que producto se utilizó

### **c. Registro de Trabajo.**

Debe ser un documento claro y específico, de tal manera que indique por sí mismo y de una forma ordenada y limpia el registro de parámetros, datos, cálculos y resultados del proceso, siempre debe escribirse con tinta negra.

Debe incluir los datos suficientes que identifiquen y aclaren plenamente el fármaco que se sintetiza:

- Nombre del producto
- Lote
- Fecha de fabricación
- Materias primas utilizadas
  - Proveedor
  - Lote de proveedor
- Precauciones

También es importante no omitir el registro de los datos de estándares y sus especificaciones, referencias bibliográficas de los procedimientos de síntesis. Asimismo deberán registrarse las pesadas, lecturas obtenidas, y los resultados observados para una mejor interpretación del reporte del producto, todo ello deberá estar supervisado.

## **C. Equipo e Instrumentos.**

### **1. Definiciones.**

#### **a. Equipo**

Se consideran como equipos todos aquellos aparatos que son necesarios para realizar los procesos analíticos, pero que no proporcionan resultados cuantitativos para los mismos como son autoclaves, hornos, estufas, campanas de extracción de gases, campanas de flujo laminar, bombas de vacío.<sup>6</sup>

#### **b. Instrumentos.**

Se consideran instrumentos todos aquellos aparatos que se utilizan en los diferentes métodos analíticos y que proporcionan resultados cuantitativos (medibles) como por ejemplo el aparato de Fisher-Johns.<sup>6</sup>

### **2. Generalidades.**

Los equipos e instrumentos se deben instalar en zonas delimitadas que los separen del resto del área, donde no estén sujetos a la acción de reactivos, de la humedad, de altas temperaturas y de todo aquello que pueda afectar su mantenimiento y conservación.

Todos los equipos e instrumentos deben mantenerse adecuadamente y estar disponibles los detalles sobre los procedimientos de mantenimiento, así como la vigencia de calibración que debe tenerse en tarjeta anexa al equipo.

Cualquier equipo o instrumento que haya sufrido una sobrecarga, haya sido objeto de uso inadecuado, proporcione resultados dudosos o resulte defectuoso al realizar su calibración debe ser puesto fuera de servicio, etiquetado claramente con esta circunstancia y almacenado

en un lugar específico hasta que haya sido reparado y reconocido como apto mediante prueba o calibración para realizar su función de manera satisfactoria.

El mantenimiento puede ser preventivo o correctivo. El mantenimiento preventivo debe sujetarse a un programa establecido bien por sugerencia del fabricante o por la experiencia obtenida en el laboratorio.

Todos los instrumentos se someterán a una revisión periódica de calibración y mantenimiento para verificar su exactitud, sensibilidad y reproducibilidad.

Se debe conservar un registro de cada equipo e instrumento en el que se encuentre:

- ◆ Nombre y marca del equipo o instrumento
- ◆ Modelo y serie
- ◆ Número de inventario
- ◆ Nombre del fabricante
- ◆ Descripción resumida
- ◆ Compañía que proporciona el servicio

A la información general se adjuntan los manuales que proporciona el fabricante que debe comprender:

- Instructivo de instalación
- Instructivo de operación
- Instructivo de reparaciones de urgencia que puedan efectuarse por personal no especializado
- Instructivo de mantenimiento
- Instructivo de calibración o verificación de parámetros
- Lista de accesorios de repuesto sugeridos
- Copia del instructivo de operación de preferencia en español
- Diagrama descriptivo

Esta información debe estar accesible a todo el personal y cerca del lugar donde se opere el equipo o instrumento.

### **3. Calibración.**

Es la verificación periódica de la exactitud funcional de un instrumento por comparación de un estándar de referencia, para confirmar, detectar, correlacionar, reportar o eliminar mediante un ajuste cualquier variación en la exactitud del instrumento. El instrumento calibrado no debe ser desde luego de menor precisión que el instrumento estándar o de referencia. Todos los instrumentos serán sometidos a una calibración periódica empleando métodos reportados en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, métodos proporcionados por el fabricante o métodos desarrollados por el laboratorio.

Se llevará un registro de calibración en el que se anote:

- ◆ Nombre del instrumento o equipo
- ◆ Número de serie
- ◆ Fecha de calibración o verificación
- ◆ Persona o compañía que efectuó la calibración
- ◆ Fecha de la próxima calibración
- ◆ Observaciones

Para demostrar que los fármacos cumplen con las especificaciones farmacopeicas debemos identificar, verificar, calibrar y realizar el mantenimiento de los equipos de medición.

El personal debe asegurarse de que la incertidumbre introducida a la medición por los equipos e instrumentos sea conocida y consistente con la capacidad requerida para las mediciones que se efectúen.

Se debe:

- ⇒ Identificar las mediciones a realizar, definir la precisión requerida y seleccionar los instrumentos de medición.
- ⇒ Determinar los instrumentos y dispositivos de inspección, medición y prueba que puedan afectar la calidad del fármaco, calibrarlos y ajustarlos a intervalos establecidos antes de su utilización. La calibración se efectuará por medio de equipos certificados que tengan una relación válida y directa con patrones nacionales o internacionales reconocidos. Cuando no existan tales patrones, se documentarán las bases empleadas para su calibración.
- ⇒ Establecer y documentar los procedimientos de calibración incluyendo la información del equipo o instrumento:
  - \* Número de identificación
  - \* Localización
  - \* Frecuencia de verificaciones
  - \* Métodos de verificación
  - \* Criterios de aceptación
  - \* Acciones correctivas que deban efectuarse cuando los resultados no sean satisfactorios.
- ⇒ Asegurar que los equipos de inspección, medición y prueba tengan la exactitud y precisión necesaria.
- ⇒ Identificar los equipos de medición y prueba con una marca o certificado correspondiente que indique su estado de calibración.
- ⇒ Mantener vigentes los registros e informes de calibración del equipo.

⇒ Cuando se haya encontrado equipos de medición fuera de calibración, será necesario evaluar y documentar la validez de los resultados obtenidos con ellos.

⇒ Asegurarse de que las calibraciones y mediciones se realizan en condiciones ambientales adecuadas.

⇒ Asegurarse de que el manejo, preservación y almacenamiento del equipo de medición y prueba no alteran su exactitud y ajuste.

**a. Componentes del Programa de Calibración:**

⇒ Selección del instrumento

⇒ Instalación del instrumento

⇒ Estándares primarios y secundarios

⇒ Calibración de instrumentos

⇒ Documentación

⇒ Control del programa que incluye:

- políticas y procedimientos
- agenda e intervalos entre calibraciones
- medición de desempeño
- agenda externa de calibración
- auditoria
- acciones correctivas a respuestas fuera de tolerancia

#### **4. Calificación.**

La calificación es la evaluación de las cualidades o características del personal, materiales, equipos y sistemas con referencia a exigencias previamente establecidas y demostración de que funcionan para el propósito a que se destina.

Al hablar de validación se debe tener cuidado, ya que en ocasiones aparece como término asociado y utilizado indistintamente con el de certificación. El proceso de certificación asegura que los componentes del programa de producción han sido cumplidos y los sistemas que existen son adecuados para mantener en forma continua la calidad del producto.

La validación de un proceso requiere la calificación de cada uno de sus elementos más importantes. La importancia relativa de un elemento puede variar de un proceso a otro. Algunos de los componentes considerados comúnmente en un estudio de validación de proceso son:

- \* Procedimientos analíticos
- \* Calibración de instrumentos
- \* Sistema de apoyo crítico
- \* Calificación del personal
- \* Materias primas y material de empaque
- \* Equipo
- \* Instalaciones
- \* Etapas de fabricación

Calificación de instalaciones. Son aquellas pruebas que nos permiten establecer que el equipo de proceso y los sistemas auxiliares son capaces de operar consistentemente dentro de límites establecidos.



Calificación de desempeño de proceso. Son aquellas pruebas que proporcionan la confianza de que el proceso es efectivo y reproducible.

Calificación de desempeño de producto. Aquella que establece la confianza a través de pruebas apropiadas de que el producto producido mediante un proceso específico cumple con todos los atributos de calidad, funcionalidad y seguridad.

#### **D. Instalaciones.**

##### **1. Características de las Instalaciones.**

El laboratorio deberá tener terminados lisos sin interrupciones de continuidad para paredes techos y pisos. Las uniones de techos-paredes, pisos-paredes y paredes-paredes serán redondeadas, de acabado sanitario, para evitar la acumulación de materiales o polvos y mantener las condiciones de higiene y seguridad necesarias. Debe contar con los espacios necesarios para la manufactura de farmoquímicos.

Las mesas de trabajo tendrán una cubierta que pueda limpiarse fácilmente y que resista la acción de los reactivos y sanitizantes empleados.

##### **2. Condiciones Ambientales.**

Las condiciones ambientales en que se llevan a cabo los procesos no deben invalidar los resultados de éstas ni comprometer la exactitud requerida de las mediciones. El laboratorio en el que se realice la síntesis del farmoquímico deberá estar protegido según se requiera de excesos de calor, polvo, humedad, vapor, ruido, vibraciones, perturbaciones o interferencias electromagnéticas, y debe ser objeto de un mantenimiento apropiado. El laboratorio debe ser lo suficientemente espacioso para limitar los riesgos de daño o de peligro y para permitir al personal facilidad y precisión en sus movimientos.

El laboratorio debe disponer de los equipos y de las fuentes de energía necesarias para la síntesis del farmoquímico, de manera que se evite el uso de clavijas múltiples; así como contar con áreas lo suficientemente ventiladas mediante accesos de aire colocados estratégicamente.

Las áreas de trabajo deberán tener iluminación adecuada para el correcto desempeño del trabajo. La iluminación natural deberá completarse con un sistema de alumbrado artificial que permita al personal trabajar cómodamente.

El acceso a las áreas del laboratorio y su utilización deben controlarse de manera adecuada a los fines previstos y establecerse condiciones para la entrada de personas ajenas al laboratorio.

Deben tomarse las medidas adecuadas para asegurar el buen mantenimiento y conservación del laboratorio de síntesis de farmoquímicos.

Las instalaciones deben contar con los elementos adecuados que garanticen la seguridad del personal y protección del medio ambiente.

### **3. Almacenamiento de Reactivos.**

Los reactivos deben almacenarse en estantes abiertos, en un lugar ventilado y fresco, separados de aquellos cuya evaporación o sublimación pueda resultar contaminante para los demás reactivos o dañar la etiqueta de los frascos que los contienen.

Los disolventes, especialmente aquellos que son flamables, se deben almacenar en lugares frescos, separados del resto de los reactivos y alejados de mecheros, contactos eléctricos y en general de todo aquello que pueda provocar su ignición.

Así también el control de temperatura y humedad es determinante en el almacén de disolventes. Las tuberías deben estar debidamente identificadas de acuerdo al código de colores, y construidas con materiales adecuados para proteger al fluido que conduzcan.

## **II. OBJETIVOS**

### **A. Objetivo General**

Emplear los lineamientos de Buenas Prácticas de Manufactura y las Buenas Prácticas de Laboratorio en el proceso de elaboración de un farmoquímico utilizando como modelo la Fenitoína.

### **B. Objetivos Específicos.**

Elaborar lotes piloto del fármaco fenitoína por dos métodos diferentes controlando los parámetros claves del producto.

Diseñar los límites de operación y las especificaciones del producto en proceso.

Diseñar y realizar los experimentos que controlen los pasos críticos.

Definir los procedimientos de manufactura tentativos y completar la documentación de la síntesis del farmoquímico.

Establecer los métodos de prueba y análisis para ser empleados en la síntesis del farmoquímico.

### **III. HIPÓTESIS.**

Al aplicar adecuadamente las Buenas Practicas de Manufactura de Farmoquímicos, se podrán controlar y minimizar los errores inherentes a la producción y asimismo se obtendrá un farmoquímico de calidad farmacopeica.

#### **IV. MATERIAL Y MÉTODO**

Al realizar la síntesis de la fenitoína se evaluaron dos rutas de síntesis diferentes, una de las cuales fue de menor duración, de menor peligro en cuanto a los reactivos utilizados y más sencilla en el manejo del equipo e instrumentos, se trata de la síntesis por medio de bencilo, urea e hidróxido de sodio.

La metodología se dividió en dos partes; una se refiere a la síntesis del farmoquímico, los procedimientos de manufactura, y los equipos, reactivos e instrumentos utilizados; la segunda se refiere a la comparación teórico-práctica de los lineamientos de la Buenas Prácticas de Manufactura y el laboratorio de Materias Primas y Síntesis de Medicamentos II (Orgánica) de la FES-Zaragoza.

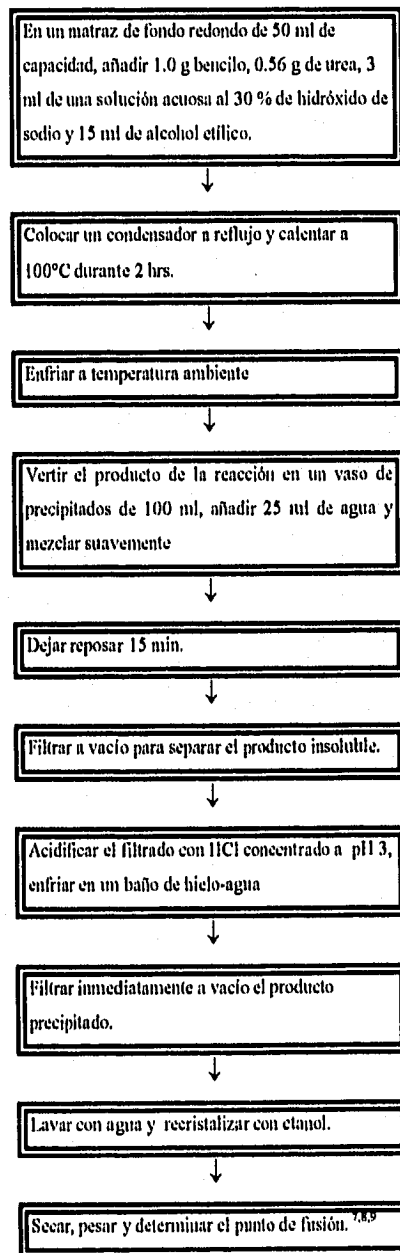
## MATERIAL Y MÉTODO

A. FENITOÍNA .....	33
1. MÉTODOS DE SÍNTESIS.....	33
a) TÉCNICA 1 PARA SÍNTESIS DE FENITOÍNA.....	33
b) TÉCNICA 2 PARA SÍNTESIS DE FENITOÍNA.....	34
2. COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE SÍNTESIS.....	35
a) PESOS DE MATERIAS PRIMAS.....	36
3. MATERIAL .....	38
a) TÉCNICA 1 .....	38
b) TÉCNICA 2 .....	40
B. BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA DE FARMOQUÍMICOS .....	42

## A. Fenitoína

### 1. Métodos de Síntesis.

#### a. Técnica 1 para Síntesis de Fenitoína





**b. Técnica 2 para Síntesis de Fenitoína.**

En un matraz bola con condensador a reflujo se adicionan 10 g de benzoferona, 4 g de cianuro de potasio y 16 g de carbonato de amonio en 100 ml de etanol al 60 %.



La solución se concentra a dos terceras partes del volumen original



Se acidifica con HCl o con  $H_2SO_4$ .



Al producto se adiciona NaOH diluido precipitando la fenitoína



Secar, pesar y determinar el punto de fusión.

Con base en que reacciona un 7 % del producto aislado, el último valor puede incrementarse hasta un 60 % calentando 60 hrs y un 67 % calentando 90 hrs

## 2. Comparación de métodos de síntesis.

Se investigaron dos métodos de síntesis para la elaboración del farmoquímico, se realizó sólo uno de ellos debido a que representa un mayor rendimiento, el manejo de reactivos es más fácil y es de menor tiempo de manufactura. En la tabla A se hace una referencia de las técnicas anteriormente señaladas.

TÉCNICA UTILIZADA	MATERIAS PRIMAS	TIEMPO DE REALIZACIÓN	TEMPERATURA DE PROCESO	PUNTO DE FUSIÓN	RENDIMIENTO
TÉCNICA 1	UREA BENCILO HIDRÓXIDO DE SODIO	4hrs	99°C-100°C	298°C	97%
TÉCNICA 2	BENZOFENONA CIANURO DE POTASIO CARBONATO DE AMONIO	40 hrs (98 hrs)	58°C-62°C	293°C-296°C	95%

Tabla A. Comparación de Técnicas 1 y 2.

La tabla B contiene los datos referentes a los pesos de las materias primas utilizadas durante el proceso de síntesis de los tres lotes sintetizados del farmoquímico.

⇒ En un matraz bola de 50 ml se añadieron 1.0 g. de bencilo, 0.56 g. de urea; 3 ml de una solución de hidróxido de sodio al 30 % y 15 ml de alcohol etílico.

<i>peso/materia prima</i>	<i>bencilo (g)</i>	<i>urea (g)</i>	<i>NaOH (g)</i>
tara	12.87	12.83	17.77
peso bruto	13.89	13.49	19.29
peso real	1.02	0.66	1.52

*Tabla B. Pesos de las materias primas del Lote 1*

<i>peso/materia prima</i>	<i>bencilo (g)</i>	<i>urea (g)</i>	<i>NaOH (g)</i>
tara	11.32	11.31	12.34
peso bruto	12.32	11.88	13.89
peso real	1.0	0.57	1.55

*Tabla B 1. Pesos de las materias primas del Lote 2.*

<i>peso/materia prima</i>	<i>bencilo (g)</i>	<i>urea (g)</i>	<i>NaOH (g)</i>
tara	14.47	12.69	13.56
peso bruto	15.48	13.27	15.07
peso real	1.01	0.58	1.51

*Tabla B 2. Pesos de las materias primas del Lote 3.*

Se colocó un condensador en posición vertical y se calentó a reflujo a 100°C durante 2 horas.

<i>Hora de:</i>	<i>lote 1</i>	<i>lote 2</i>	<i>lote 3</i>
inicio	18:40	18:50	18:20
término	20:40	20:50	20:20

*Tabla B 3. Tiempo de reflujo de los lotes 1, 2 y 3 de Fenitoína.*

⇒ temperatura 99°C 100°C

⇒ Se enfrió a temperatura ambiente y se vertió el producto de la reacción en un vaso de precipitados de 100 ml, se añadieron 25 ml de agua y se mezcló suavemente.

⇒ Se dejó reposar 15 min.

<i>LOTE</i>	<i>hora de inicio</i>	<i>hora de término</i>
1	20:55	21:10
2	21:05	21:20
3	20:25	21:40

*Tabla B 4. Tiempo de reposo de los lotes 1, 2 y 3 de Fenitoína.*

⇒ Se filtró a vacío para separar el producto insoluble (difenilacetilendiureína).

⇒ Se acidificó el filtrado con ácido clorhídrico concentrado a pH 3.

⇒ Se enfrió en un baño de hielo agua.

⇒ Se filtró inmediatamente a vacío el producto precipitado

⇒ Se lavó con agua y se recristalizó con etanol.

### **3. MATERIAL:**

#### **a. Técnica 1.**

#### *EQUIPO*

- ◇ Mantilla eléctrica
- ◇ Bomba de vacío
- ◇ Reóstato

#### *INSTRUMENTOS*

- ◇ Fisher Johns
- ◇ Balanza analítica Mettler PB 300

*REACTIVOS*

- ◇ Bencilo Merck, Lote 801632, Reactivo para síntesis MM 210.23 g/mol
- ◇ Urea QP: Lote N1010 Reactivo analítico MM 60.06 g/mol
- ◇ Hidróxido de sodio Productos Químicos Monterrey QP MM 40.00 g/mol
- ◇ Alcohol etílico Merck QP.
- ◇ Ácido Clorhídrico concentrado Merck QP.

*MATERIAL*

- ◇ 1 Matraz bola de 50 ml
- ◇ 4 Vasos de precipitados de 100 ml
- ◇ 3 pipetas graduadas de 10 ml
- ◇ 1 condensador 24/40
- ◇ 1 termómetro hasta 150°C
- ◇ 1 adaptador para termómetro 24/40
- ◇ 2 matraz kitazato de 125 ml
- ◇ 1 matraz erlenmeyer de 125 ml
- ◇ 1 embudo büchner
- ◇ 1 varilla de vidrio
- ◇ 4 vidrio de reloj
- ◇ 1 espátula
- ◇ 1 probeta de 50 ml
- ◇ 2 soportes universales
- ◇ 2 pinzas de tres dedos con nuez
- ◇ 1 tapón horadado
- ◇ 3 mangueras para la bomba de vacío
- ◇ perlas de ebullición

**b. Técnica 2.*****EQUIPO***

- ◇ Mantilla eléctrica
- ◇ Bomba de vacío
- ◇ Reóstato

***INSTRUMENTOS***

- ◇ Fisher Johns
- ◇ Balanza analítica Mettler PB 300

***REACTIVOS***

- Benzofenona
- Cianuro de potasio
- Carbonato de amonio
- Alcohol etílico
- Ácido Clorhídrico concentrado
- Hidróxido de sodio

***MATERIAL***

- 1 Matraz bola de 50 ml
- 4 Vasos de precipitados de 100 ml
- 3 pipetas graduadas de 10 ml
- 1 condensador 24/40
- 1 termómetro hasta 150°C

- 1 adaptador para termómetro 24/40
- 2 matraz kitazato de 125 ml
- 1 matraz erlenmeyer de 125 ml
- 1 embudo büchner
- 1 varilla de vidrio
- 4 vidrios de reloj
- 1 espátula
- 1 probeta de 50 ml
- 2 soporte universal
- 2 pinzas de tres dedos con nuez
- 1 tapón horadado
- 3 mangueras para la bomba de vacío
- perlas de ebullición



### **B. Buenas Prácticas de Manufactura de Farmoquímicos.**

Se elaboró una comparación entre los lineamientos de BPMF y lo que se realiza en el laboratorio de MPSM II (Orgánica) a fin de que se puedan implementar posteriormente, estos lineamientos fueron los referentes a:

- 1) Equipo
- 2) Laboratorio
- 3) Instalaciones
- 4) Materias primas
- 5) Producto
- 6) Registros de uso de equipo e instrumentos.

## RESULTADOS

A. RENDIMIENTO .....	43
B. OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA I .....	44
C. CONTROL ESTADÍSTICO .....	45
1. MÉTODOS ESTADÍSTICOS Y SU APLICACIÓN.....	45
2. ANÁLISIS DE VARIANZA.....	46
D. TABLAS COMPARATIVAS ENTRE BPM Y LAS CONDICIONES DEL LABORATORIO DE MPSM II (ORGÁNICA) .....	47
1. EQUIPO .....	47
2. LABORATORIO.....	48
3. INSTALACIONES.....	48
4. MATERIAS PRIMAS.....	50
5. PRODUCTO.....	51
E. PROCEDIMIENTO DE MANUFACTURA .....	52
F. REGISTROS DE USO DE PRODUCTOS Y EQUIPO.....	54
G. PROCEDIMIENTOS DE OPERACIÓN .....	60
1. PROCEDIMIENTO PARA LA OPERACIÓN DEL APARATO PARA PUNTO DE FUSIÓN.....	60
2. VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DEL APARATO DE FISHER-JOHNS .....	65

## V. RESULTADOS

Se elaboraron lotes por triplicado del farmoquímico obteniéndose los siguientes resultados enlistados en la tabla C.

### A. Rendimiento.

<i>Lote</i>	<i>Rendimiento</i>
1	97.38 %
2	97.65 %
3	96.46 %

*Tabla C. Resultados del Rendimiento de los lotes 1, 2 y 3.*

⇒ El punto de fusión de los lotes obtenidos fue:

<i>Lote</i>	<i>Punto de Fusión</i>
1	297-298 °C
2	297-298 °C
3	296-297 °C

*Tabla C 1. Resultados del Pmto de Fusión de los lotes 1, 2 y 3.*

**B. Optimización de la Técnica 1.****CONTROL DE PROCESO****OPTIMIZACIÓN DE TIEMPO DE REFLUJO**

Una vez evaluado el método más idóneo se procedió a optimizar el método de síntesis probando los dos parámetros críticos que son el tiempo y la temperatura de reflujo, controlando adecuadamente estas variables, se ve que al reducir el tiempo de reflujo a un óptimo no se afecta la pureza y el rendimiento del farmoquímico en estudio.

Se sintetizaron tres lotes de fenitoína los cuales se denominaron A B y C (los cuales se realizaron por triplicado) en los que se varió el tiempo de reflujo para evaluar si existía una disminución en el rendimiento del producto al disminuir el tiempo de reacción obteniéndose los siguientes resultados:

<i>LOTE</i>	<i>TIEMPO DE REFLUJO (hr)</i>	<i>TEMPERATURA DE REFLUJO (°C)</i>	<i>PUNTO DE FUSIÓN (°C)</i>	<i>RENDIMIENTO (%)</i>
A	2.0	99-100	297-298	98
B	1.5	99-100	296-297	97
C	1.0	99-100	296-297	97

*Tabla D. Optimización de la Técnica 1*

### **C. Control Estadístico.**

Una vez obtenidos y recolectados los resultados se evaluaron estadísticamente. En la tabla E, se indican los métodos estadísticos más comunes y su aplicación, en este caso se realizó el análisis de varianza por ser el más adecuado.

#### **1. Métodos estadísticos y su aplicación.**

<i>Método Estadístico</i>	<i>Uso más frecuente</i>
Cartas de Control	Causas de variación y corrección Establecimiento de Límites Resultados Históricos
Análisis de Regresión	Relación entre causa y efecto
Análisis de Varianza	Comparación entre lotes
Límite de Tolerancia (Histogramas)	Cumplimiento histórico de especificaciones Ajuste de especificaciones.

Tabla E. Métodos Estadísticos y su Aplicación.

**2. Tabla de ANADEVa de un factor.**

**DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIO (POR COLUMNAS).**

TIEMPO (hrs)	RENDIMIENTO		
	(%)		
2.0	97.38	97.65	96.46
1.5	97.16	98.01	97.13
1.0	96.98	97.49	97.05

*Tabla F. Tiempo y Rendimiento de 9 lotes de Fenitoína.*

FUENTE DE VARIACIÓN	GL	SC	VARIANZA	ESTADÍGRAFO
ENTRE	J-1	$SC_E = (X_j - X_{..})^2$	$S^2_E = SS_E / J - 1$	$F = S^2_E / S^2_D$
DENTRO	N-J	$SC_D = X^2_{.j} - X^2_{..} / N_j$	$S^2_D = SS_D / N - J$	
TOTAL	N-1	$(X_{ij} - X_{..})^2$		

*Tabla G. ANADEVa de un factor diseño completamente aleatorio (por columnas).*

$$J=3$$

$$N=9$$

$$F_{0.95, 2, 6} = 5.14$$

*Conclusión:*

No existe diferencia significativa en el rendimiento por efecto del tiempo de reflujo.

**D. Tablas comparativas entre los requerimientos de BPM y las condiciones del Laboratorio de MPSM II.**

A continuación se indica por medio de tablas los resultados obtenidos del comparativo entre las especificaciones de las BPM y lo encontrado en el laboratorio de MPSM II (Orgánica) L-311.

**1. Equipo**

REQUERIMIENTOS DE LAS BPF	TIPO, MARCA MODELO, SERIE	CAPACIDAD MÍNIMA Y MÁXIMA	PROGRAMA DE CALIBRACIÓN	PROCEDIMIENTOS DE LIMPIEZA, FUNCIONAMIENTO MANTENIMIENTO Y CALIBRACIÓN
CONDICIONES DEL LAB. DE MPSM	CUMPLE	NO CUMPLE	NO CUMPLE	NO CUMPLE

*Tabla H. Comparación entre los requerimientos de BPM y las condiciones del Laboratorio de MPSM II en cuanto a equipo.*

Se observa que no se cuenta con los registros de uso de equipo y reactivos, ni con los manuales de operación y calibración del equipo. Tampoco se cuenta con manuales de limpieza y mantenimiento de los equipos a utilizar, ni las tarjetas de vigencia de calibración correspondientes a cada uno.

## 2. Laboratorio.

REQUERIMIENTOS DE LAS BPF	UBICACIÓN	REGISTRO DE CONTROL DE TEMPERATURA Y HUMEDAD	SERVICIOS (AGUA, AIRE, EXTRACCIÓN)	PROCEDIMIENTOS DE USO Y VERIFICACION	AISLAMIENTO ESPACIO ADECUADO FLUJO DE MATERIALES Y DE PERSONAL	CONTROL MICROBIOLOGICO AMBIENTAL
CONDICIONES DEL LAB DE MPSM	CUMPLE	NO CUMPLE	CUMPLE	NO CUMPLE	CUMPLE	NO CUMPLE

*Tabla I. Comparación entre los requerimientos de BPM y las condiciones del Laboratorio de MPSM II en cuanto a Laboratorio.*

## 3. Instalaciones.

REQUERIMIENTOS DE LAS BPF	TERMINADO LISO ACABADO SANITARIO	MESAS DE TRABAJO CON CUBIERTA RESISTENTE A ÁLCALIS Y REACTIVOS	MANTENIMIENTO Y CONSERVACIÓN DE INSTALACIONES
CONDICIONES DEL LAB DE MPSM	NO CUMPLE	CUMPLE	NO CUMPLE

*Tabla J. Comparación entre los requerimientos de BPM y las condiciones del Laboratorio de MPSM II en cuanto a instalaciones.*



Los disolventes están separados del resto de los reactivos y de mecheros, las tuberías están identificadas de acuerdo al código de colores, se observa que no se cuenta con los registros de control de temperatura y humedad del laboratorio, así como que las campanas extractoras de gases tienen un servicio deficiente. En el caso de los reactivos, estos si cuentan con su identificación respectiva y se almacenan en lugar fresco y seco, alejados del peligro de ignición.

REQUERIMIENTOS DE LAS BPF	ILUMINACIÓN ADECUADA	EQUIPOS Y FUENTES DE ENERGÍA NECESARIOS	SEGURIDAD AL PERSONAL Y PROTECCIÓN AL MEDIO AMBIENTE
CONDICIONES DEL LAB DE MPSM	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE

*Tabla J 1. Comparación entre los requerimientos de BPM y las condiciones del Laboratorio de MPSM II en cuanto a instalaciones..*

Las condiciones ambientales del laboratorio se adecuan al desarrollo de las actividades que se realizan en él, aún cuando no son las idóneas, ya que no se cuenta con el acabado sanitario que requiere una instalación de este tipo.

**4. Materias primas.**

REQUERIMIENTOS DE LAS BPF	PROCEDIMIENTOS DE ALMACENAMIENTO, MANEJO Y SURTIDO	MÉTODOS DE MUESTREO Y ACEPTACIÓN	POTENCIA DE INGREDIENTES ACTIVOS
CONDICIONES DEL LAB. DE MPSM	NO CUMPLE	NO CUMPLE	CUMPLE

*Tabla K. Comparación entre los requerimientos de BPM y las condiciones del Laboratorio de MPSM II en cuanto a materias primas.*

En este aspecto se hace notar que no se cuenta con la documentación necesaria para cumplir con los lineamientos establecidos en las BPM y que las materias primas se aceptan por el grado de pureza que establece el fabricante.

**5. Producto.**

REQUERIMIENTOS DE LAS BPF	CONTROLES EN PROCESO	PROCESO DE FABRICACIÓN	ATRIBUTOS Y ESPECIFICACIONES	TAMAÑO DE LOTE
CONDICIONES DEL LAB. DE MPSM	NO CUMPLE	NO CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE

REQUERIMIENTOS DE LAS BPF	ACONDICIONAMIENTO	MUESTRAS DE RETENCIÓN	MÉTODO DE MUESTREO	SISTEMA DE ALMACENAMIENTO A GRANEL
CONDICIONES DEL LAB. DE MPSM	NO CUMPLE	NO CUMPLE	NO CUMPLE	NO CUMPLE

*Tabla L. Comparación entre los requerimientos de BPM y las condiciones del Laboratorio de MPSM II en cuanto a producto.*

### **E. Procedimiento de Manufactura.**

Como se observa en la tabla L en el laboratorio de MPSM no se cumple con el proceso de fabricación por lo que se adecua el siguiente para la fenitoína.

⇒ En un matraz bola de 50 ml colocar 1.0 g. de bencilo, 0.56 g. de urea; 3 ml de una solución de hidróxido de sodio al 30 % y 15 ml de alcohol etílico.

<i>Peso/Materia</i>	<i>Bencilo</i>	<i>Urea</i>	<i>NaOH</i>
<i>Prima</i>			
tara			
peso bruto			
peso real			

⇒ Colocar un condensador y calentar a reflujo a 100°C durante 2 horas.

hora de inicio \_\_\_\_\_

hora de término \_\_\_\_\_

temperatura \_\_\_\_\_

⇒ Enfriar a temperatura ambiente y añadir el producto de la reacción en un vaso de precipitados de 100 ml, añadir 25 ml de agua y mezclar suavemente.

⇒ Dejar reposar 15 min.

⇒ Filtrar a vacío para separar el producto insoluble (difenilacetilendiureína).

⇒ Acidificar el filtrado con ácido clorhídrico concentrado a pH 3.

⇒ Enfriar en un baño de hielo-agua y filtrar inmediatamente el producto precipitado a vacío.

⇒ Lavar con agua y recristalizar con etanol.

⇒ Se obtienen 0.7-0.8 g de fenitoina.

⇒ Peso del producto obtenido \_\_\_\_\_

⇒ Rendimiento \_\_\_\_\_

⇒ El punto de fusión teórico es de 297°C-298°C.

⇒ Punto de fusión obtenido. \_\_\_\_\_

**F. Registros de uso de Productos y Equipo.**

Con respecto a la documentación con la que se cuenta en el laboratorio de MPSM II para la correcta manufactura de los fármacos se cuenta con los registros de trabajo de los alumnos las cuales incluyen la secuencia de operaciones, condiciones de trabajo y los métodos de síntesis, así como las propiedades de los reactivos utilizados y los productos obtenidos en el proceso, así como de los equipos e instrumentos a utilizar.

Se deben implantar los registros de uso de equipo e instrumentos, así como los de uso de reactivos. Los programas de calibración y mantenimiento del equipo son muy importantes para el mejor cumplimiento de las BPM dentro del laboratorio y de la confiabilidad de los resultados obtenidos con ellos, por lo que a continuación se enlista una forma de elaboración de los registros de uso de equipo y reactivos.

**REGISTRO DE USO DE PRODUCTO**

UNAM

FES-ZARAGOZA

MPSM II ORGÁNICA

NOMBRE DEL REACTIVO: UREA  
MASA MOLECULAR: 60.06 g/mol  
NÚMERO DE LOTE: U 1010  
GRADO DE PUREZA: Q.P.

FECHA	SALIDA	SALDO	PRODUCTO SINTETIZADO	PERSONA QUE UTILIZA EL REACTIVO	OBSERVA- CIONES	FIRMA

**REGISTRO DE USO DE PRODUCTO**

UNAM

FES-ZARAGOZA

MPSM II ORGÁNICA

NOMBRE DEL REACTIVO: **BENCILO**  
MASA MOLECULAR: **210.23 g/mol**  
NÚMERO DE LOTE: **AL 801632**  
GRADO DE PUREZA: **Grado Reactivo.**

FECHA	SALIDA	SALDO	PRODUCTO SINTETIZADO	PERSONA QUE UTILIZA EL REACTIVO	OBSERVA- CIONES	FIRMA



**REGISTRO DE USO DE PRODUCTO**

UNAM

FES-ZARAGOZA

MPSM II ORGÁNICA

**NOMBRE DEL REACTIVO:** **HIDRÓXIDO DE SODIO**  
**MASA MOLECULAR:** **40.0 g/mol**  
**PROVEEDOR:** **PRODUCTOS QUÍMICOS MONTERREY**  
**GRADO DE PUREZA:** **Q.P.**

FECHA	SALIDA	SALDO	PRODUCTO SINTETIZADO	PERSONA QUE UTILIZA EL REACTIVO	OBS.	FIRMA

**REGISTRO DE USO DE EQUIPO**

UNAM

FES-ZARAGOZA

MPSM II ORGÁNICA

NOMBRE DEL EQUIPO:

**BALANZA SEMIANALITICA**

MODELO:

**METTLER PB 300**

FECHA	TIEMPO UTILIZADO	PRODUCTO SINTETIZADO	PERSONA QUE UTILIZA EL EQUIPO	OBS.	FIRMA

**REGISTRO DE USO DE EQUIPO**

UNAM

FES-ZARAGOZA

MPSM II ORGÁNICA

NOMBRE DEL EQUIPO:

APARATO DE FISHER-JOHNS

MODELO:

L-311

FECHA	TIEMPO UTILIZADO	PRODUCTO SINTETIZADO	PERSONA QUE UTILIZA EL EQUIPO	OBS.	FIRMA

### **G. Procedimientos de Operación.**

En cuanto a la calibración se refiere, se observa que no se lleva a cabo este sistema aunque los equipos se encuentran identificados y con número de serie, se debe realizar de acuerdo al siguiente formato con el que se da solución a este rubro.

ÁREA: Control de Calidad	PROCEDIMIENTO: Operación del aparato para punto de fusión Fisher-Johns.	
Departamentos involucrados:	Control de Calidad	Validación
Fecha de elaboración		
Fecha de Aprobación		

#### **1. PROCEDIMIENTO PARA LA OPERACIÓN DEL APARATO PARA PUNTO DE FUSIÓN**

##### **OBJETIVO**

Conocer el manejo del aparato para la determinación del punto de fusión para asegurar su buen funcionamiento y tener mediciones confiables.

##### **GENERALIDADES**

La temperatura de punto de fusión es el intervalo de temperatura en el cual una sustancia sólida se colapsa y se funde completamente.

El aparato para punto de fusión de Fisher-Johns facilita las determinaciones de punto de fusión de compuestos químicos sólidos. Consta básicamente de un cartucho calentado electrónicamente y de una platina de fusión la cual está conectada a un termómetro, a una lente de aumento y a una lámpara de iluminación. El poder del calentador es controlado por un transformador variable que tiene una escala graduada en porcentaje del voltaje total, de manera

que las temperaturas fijadas pueden producirse fácilmente. Se pueden alcanzar temperaturas desde 20°C a 300°C con una exactitud de uno o dos grados del intervalo total.

<b>BOTÓN DE ENCENDIDO</b>	Cuando se encuentre en la posición ON (hacia arriba) se encenderá la lámpara de iluminación y se suministra corriente al transformador variable y al circuito del calentador.
<b>TRANSFORMADOR VARIABLE</b>	Controla la corriente del calentador. El control dial está graduado desde 0 a 100 % del poder total del calentador en incrementos de 10%.
<b>LENTE DE AUMENTO</b>	Permite una visión clara y aumentada de la sustancia en la platina.
<b>LAMPARA DE ILUMINACIÓN</b>	Es un sistema de lámpara y lente que ilumina la platina de fusión. La lámpara se enciende cuando es encendido el apagador.
<b>TERMÓMETRO</b>	Es un termómetro de mercurio graduado de 20°C a 300°C en incrementos de 1°C, que mide continuamente la temperatura de la platina de fusión, va insertado a la placa de calentamiento de aluminio o platina, provista de una depresión circular en el centro donde se coloca la sustancia. El termómetro se lee cuando la muestra funde.

*Tabla M. Controles e indicadores del aparato de Fisher Johns.*

## OPERACIÓN

La operación del aparato de punto de fusión es un procedimiento simple. La muestra necesita solamente ser colocada entre dos cubreobjetos y colocarse sobre la platina de fusión. Se enciende la fuente de calor y la muestra se observa a través del lente de aumento; cuando la temperatura se incrementa el punto de fusión se aprecia por la aparición de pequeñas gotas de líquido entre las cubiertas de vidrio. La temperatura del punto de fusión se lee en el termómetro

Para operar el aparato se realiza lo siguiente:

1. Estando apagado el aparato, poner en cero el transformador variable.
2. Clasificar las muestras a analizar en grupos de intervalos de puntos de fusión. Determinar primero las muestras con puntos de fusión más bajos.
3. Encender el aparato y de ser necesario, ajustar la lente de aumento para una visión más clara de la platina.
4. Colocar una cantidad de la muestra finamente pulverizada entre los dos cubreobjetos, presionar firmemente y colocar en la depresión de la platina.
5. Incrementar el valor del transformador variable y permitir que se caliente la unidad.
6. Cuando la muestra comience a fundir, visualizada como la aparición de las primeras y las últimas gotas de líquido entre los dos cubreobjetos, representa el intervalo de fusión.
7. Repetir 2 veces más la determinación para asegurarse que éste intervalo es correcto.
8. Colocar en un valor mas bajo el transformador variable y quitar la muestra de la platina.

Para enfriar más rápidamente la platina puede colocarse un bloque de metal encima, o bien un vaso de vidrio o metálico que contenga hielo.

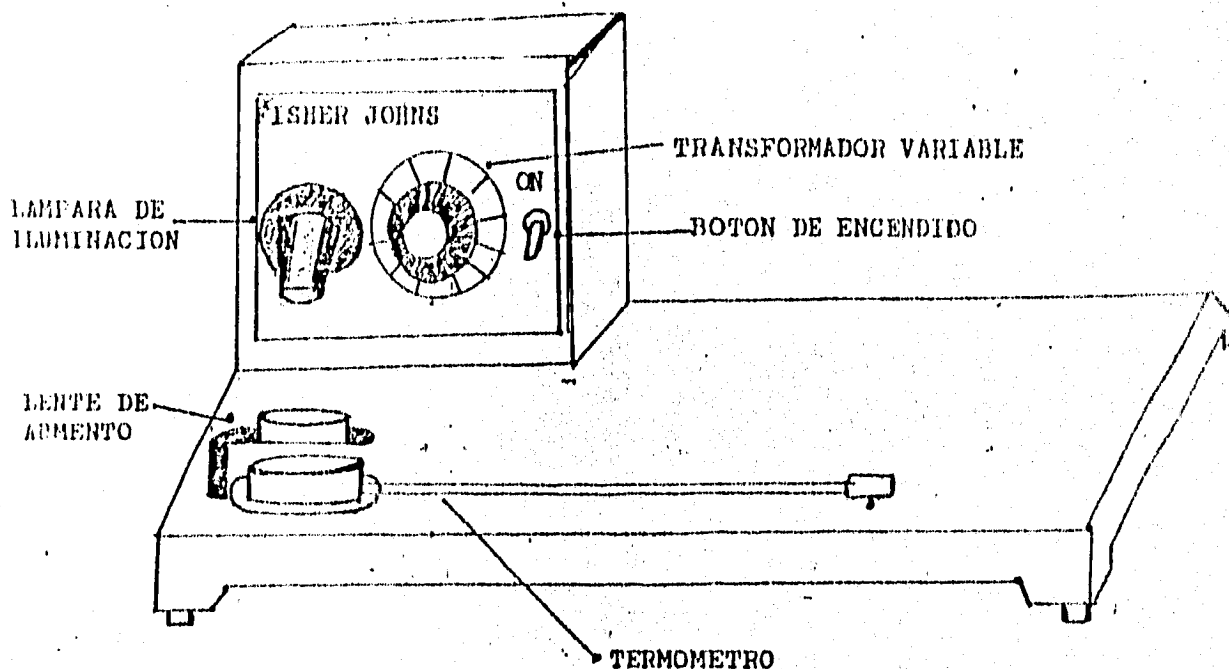


Figura 4. Aparato de Fisher Johns.

Un aspecto importante dentro de la determinación del punto de fusión es la gráfica de velocidad de calentamiento, la cual representa el tiempo requerido para llegar a una determinada temperatura, según el porcentaje de potencia de calentamiento que se fije.

Se utiliza para calcular el tiempo en el que el aparato alcanza la temperatura adecuada para fundir a la sustancia.

Para economizar tiempo se interpola la temperatura de fusión y se observa, por ejemplo que, para una velocidad de calentamiento de 10 % se necesitaría más de media hora para alcanzar una temperatura de cien grados, en cambio en los demás porcentajes entre 3 y 14 min.

El procedimiento a seguir es el siguiente:

Colocar la muestra en la depresión de la placa de calentamiento y accionar el interruptor de corriente.

Girar la perilla hasta la graduación de 100, regresando esta al 40 cuando la temperatura sea de 60 grados, con esto se logra que el intervalo de 60 a 90 grados se regule la velocidad de calentamiento en forma tal que al llegar al punto de fusión se tenga una velocidad de calentamiento de aproximadamente 2 grados por minuto.

Es útil cuando se desconoce el punto de fusión, en estos casos se recomienda primero realizar una determinación "rápida" para saber aproximadamente el punto de fusión y después hacer otra "lenta" una vez conocido el punto de fusión anterior.

tiempo	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	90	100%
0	24	24	24	24	24	24	24	24	24
5	46	57	68	85	103	117	137	165	178
10	60	69	108	140	164	193	222	270	294
15	76	104	137	171	204	239	271		
20	83	110	156	197	232	268	290		
25	88	120	168	212	248	282			
30	93	136	178	222	260	293			
velocidad	2.3	3.7	5.1	6.6	7.8	8.9	13.7	24.6	27 en °C/min

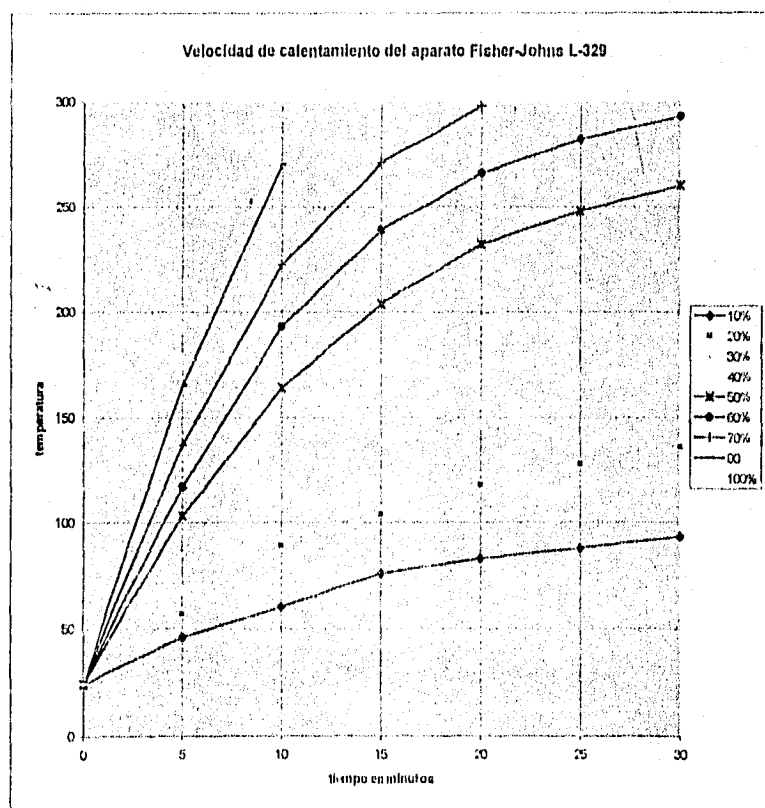


Figura 5. Gráfica de velocidad de calentamiento<sup>41</sup>



AREA: Control de Calidad.	DOCUMENTO: Verificación de la calibración del aparato para punto de fusión Fisher-Johns.
Departamentos involucrados:	Validación
Fecha de elaboración	
Fecha de Aprobación	

## **2. VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DEL APARATO DE FISHER-JOHNS**

### **OBJETIVO:**

Comprobar regularmente la exactitud de ajuste del aparato de punto de fusión para tener confiabilidad en las lecturas obtenidas con el instrumento.

### **CALIBRACIÓN**

El aparato a emplearse deberá producir resultados precisos.

El aparato debe ser calibrado periódicamente utilizando una o más sustancias de referencia para temperatura de fusión, de preferencia aquella cuya temperatura de fusión sea aproximada a la de la sustancia por ensayar.

<i>SUSTANCIAS</i>	<i>TEMPERATURA DE FUSIÓN (°C)</i>
vainillina	81.0-83.0
acetanilida	113.0-115.0
fenacetina	134.0-137.0
sulfanilamida	164.5-166.5
sulfapirina	190.0-193.0

*Tabla N. Sustancias de referencia para puntos de fusión.*

**PROCEDIMIENTO:**

1. Pulverizar la muestra finamente. Si la muestra contiene agua de hidratación, deshidratar a la temperatura requerida, según el producto.

Si la sustancia no tiene agua de hidratación, secar la muestra en un desecador adecuado por lo menos 15 horas.

2. Estando apagado el aparato, poner en cero el transformador variable.

3. Clasificar las muestras a analizar en grupos de intervalos de puntos de fusión. Determinar primero las muestras con puntos de fusión más bajos.

4. Encender el aparato y de ser necesario, ajustar la lente de aumento para una visión más clara de la platina.

5. Incrementar el valor del transformador variable y permitir que se caliente la unidad hasta una temperatura aproximada de 30°C abajo de la temperatura de fusión estimada.

6. Calentar de manera que el ascenso de temperatura sea de 3°C/min.

7. Cuando la temperatura llegue hasta cerca de  $3^{\circ}\text{C}$  abajo del límite inferior del intervalo de fusión esperado, reducir la velocidad del calentamiento a 1 ó  $2^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ , continuando así hasta que la fusión sea completa.

8. Colocar en un valor más bajo el transformador variable y quitar la muestra de la platina.

### INTERPRETACIÓN

Las temperaturas de principio a fin de la fusión deben quedar dentro de los límites aceptados de fusión, para la muestra que se esté usando.

### REPRODUCIBILIDAD

Efectuar el procedimiento utilizando una sola sustancia de referencia ensayándola varias veces en dos días diferentes. Realizar un análisis estadístico de los datos obtenidos (análisis de varianza). Utilizar para cada tratamiento al menos tres repeticiones.

Evaluar la repetibilidad en un mismo día, con un mismo analista, ensayando una sustancia de referencia cuando menos seis veces. Realizar un análisis estadístico con la prueba de Xi cuadrada.

Elaborar una gráfica para la calibración del instrumento usando cuando menos tres sustancias de referencia diferentes y calcular regresión lineal, incluyendo pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación.

## VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Al realizar la síntesis de la fenitoína esta puede hacerse por dos rutas diferentes, el evaluar ambas es de gran utilidad para el alumno ya que puede desde el primer momento darse cuenta de la forma de optimizar recursos, tiempo y hacerlo de la forma más segura.

Al optimizar la técnica se puede notar que el farmoquímico en estudio tiene un alto rendimiento, por ser una técnica corta es fácil hacer un estudio estadístico representativo en el que se observa que no existe una diferencia significativa en el rendimiento por efecto del tiempo de reflujo.

Al efectuar el comparativo entre los requerimientos de BPM y lo existente en el laboratorio de MPSM II, se perciben las diferencias entre laboratorio y los lineamientos y que se pueden ofrecer alternativas que puedan implementarse a corto plazo para mejorar estas condiciones, se trata lo referente a la documentación: registros de uso de equipo y productos, los procesos de manufactura y los procedimientos de uso y calibración de equipo.

Aunque las instalaciones del laboratorio no cumplen con los requerimientos de las BPM, en el caso de los farmoquímicos se trata de sistemas cerrados en los que la temperatura y humedad se mantiene controlada y esto no es un factor que determine la pureza del producto obtenido, sin embargo se debe llevar un registro del control de temperatura y humedad, así como que las campanas de extracción y las regaderas tienen un mantenimiento deficiente por lo que se recomienda darles servicio, ya que también se observa que los anaqueles donde se guardan los reactivos son inadecuados.

La calificación del personal es importante desde el punto de vista de que mientras mejor manejo se haga de las BPMF el alumno hará un mejor uso de ellas a lo largo de su carrera, es por ello el énfasis en este sentido.

## **VII. CONCLUSIONES.**

Los factores de producción , instalaciones, equipo y documentación que inciden en la síntesis del farmoquímico hacen de este insumo un producto con calidad, cuando éstos se aplican de acuerdo con la Buenas Prácticas de Manufactura.

El caso de la Fenitoína debe hacerse extensivo a todos los demás farmoquímicos que se sintetizan en el laboratorio de Materias Primas y Síntesis de Medicamentos II (Orgánica).

En el caso de este laboratorio se examinó que no cumple con todos los requerimientos de BPM, sin embargo al tratarse de procesos en sistemas cerrados puede obtenerse un producto satisfactorio aún cuando las condiciones ambientales externas no sean controladas ni monitoreadas.

Se deben implementar las registros de uso de equipo e instrumentos , así como las de uso de reactivos. Los programas de calibración y mantenimiento del equipo son muy importantes para el mejor cumplimiento de las BPM dentro del laboratorio y de la confiabilidad de los resultados obtenidos con ellos.

Se debe contar además con muestras de retención de los productos elaborados debidamente identificadas.

Se deberá identificar por medio de un letrero el nombre del fármaco que se está sintetizando, el número de lote asignado, etapa de proceso y fecha de fabricación.

Otro aspecto importante es el dejar bien organizado el museo de muestras de producto terminado de los farmoquímicos sintetizados durante el semestre ya que puede servir para comparaciones entre productos o para ser analizados en los semestres posteriores, deben identificarse con una etiqueta que contenga los datos de número de lote, fecha de fabricación y el recipiente debe ser hermético.

## **ANEXOS**

<b>1. MECANISMO DE REACCIÓN.....</b>	<b>70</b>
<b>a) TÉCNICA 1.....</b>	<b>70</b>
<b>b) TÉCNICA 2.....</b>	<b>72</b>
<b>2. PROPIEDADES DE REACTIVOS Y PRODUCTOS....</b>	<b>73</b>
<b>3. MONOGRAFÍA DE LA FENITOÍNA.....</b>	<b>76</b>
<b>4. SEGURIDAD EN EL LABORATORIO .....</b>	<b>78</b>

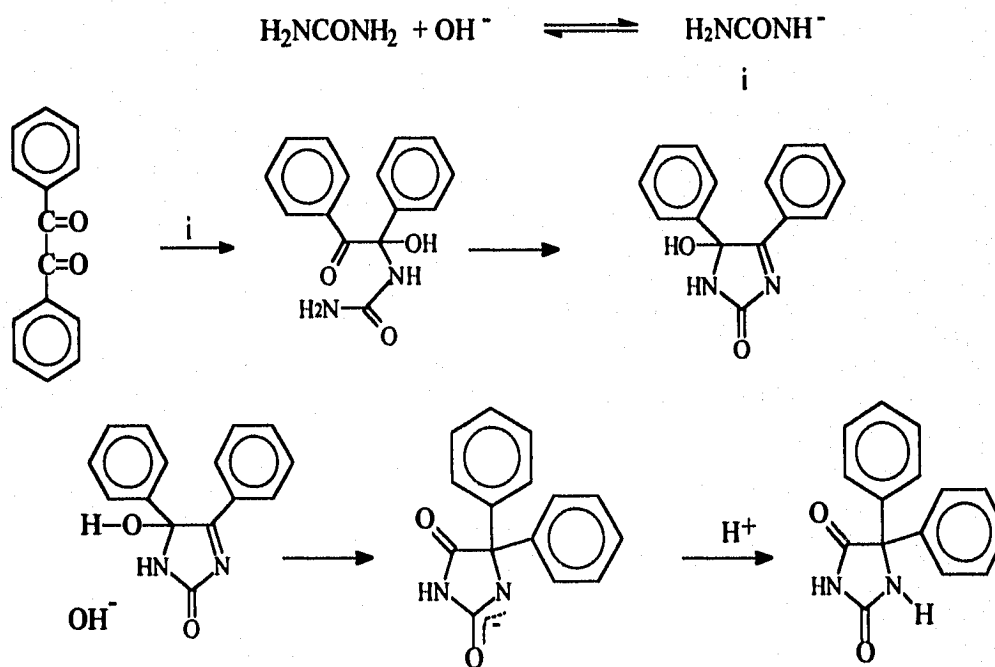
## IX. ANEXOS

### 1. Mecanismo de Reacción.

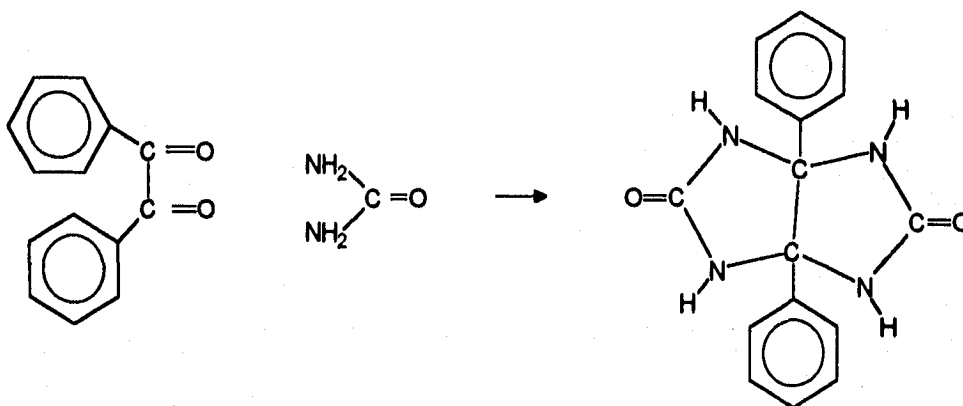
#### a. Técnica 1.

Biltz<sup>39</sup> reportó que el reflujo de urea con bencilo en etanol que contenga hidróxido de sodio, da como resultado la formación de 5,5-difenilhidantoína.

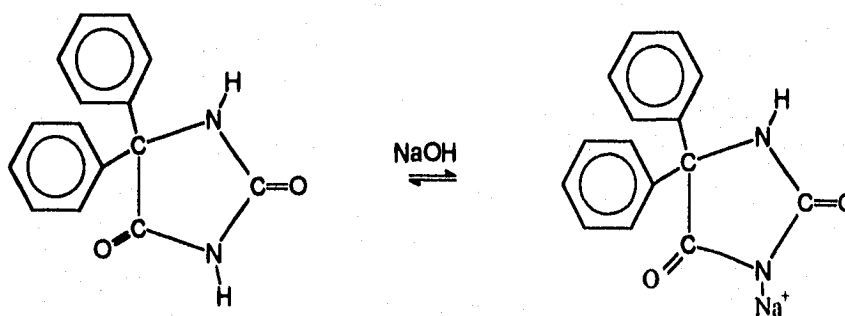
Hayward<sup>31</sup> indica que el mecanismo de reacción involucra el nucleófilo de urea en medio alcalino y transposición bencílica.



Como el producto secundario de la reacción se forma la difenilacetilendiureína, al condensarse 2 moles de urea con 1 mol de bencilo antes de que este tenga tiempo de transponerse.



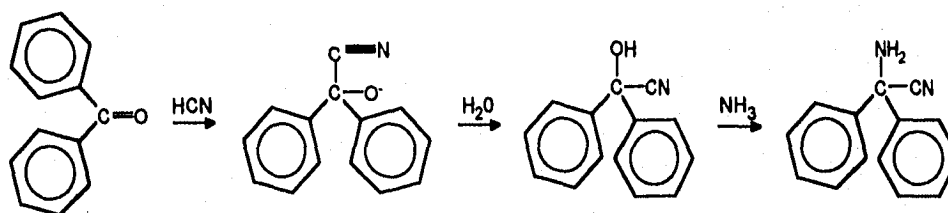
La difenilacetilendiureína es insoluble en agua, incluso a reacción alcalina y se separa fácilmente por filtración, pues la difenilhidantoina también es insoluble en agua, se disuelve en sosa para formar la sal sódica.



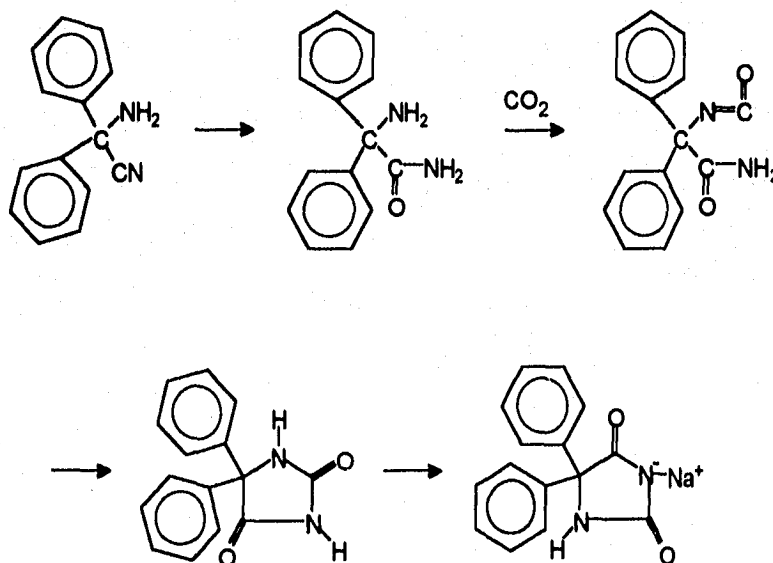


### b. Técnica 2

La formación de hidantoínas 5,5 disustituidas por la interacción de un compuesto carbonilo con cianuro de hidrógeno y carbonato de amonio se conoce como síntesis de hidantoínas de Bucherer.



El mecanismo de reacción fue propuesto por Bucherer<sup>10</sup> involucrando un  $\alpha$ -aminonitrilo, el cual puede formar una cianohidrina.



## 2. Propiedades Químicas Físicas y Farmacológicas de Reactivos y Productos.

### a. Técnica 1.

BENCILO	$C_6H_5COCOC_6H_5$	MM 210.22 g/mol
---------	--------------------	-----------------

Propiedades: Agujas amarillas, soluble en alcohol y éter, insoluble en agua, pf 95°C, p eb 346°C-348°C,  $d^{25}_{4}$  1.521

Se obtiene por oxidación de benzoína con ácido nítrico o con una mezcla de sulfato de cobre-piridina.

UREA	$CH_4N_2O$	MM 60.06 g/mol
------	------------	----------------

Propiedades: Prismas tetragonales. Desarrolla olor a  $NH_3$ , sabor salino, pf 132.7°C. Después de calentarse descompone en  $NH_3$  y ácido cianúrico  $d^{19}_{4}$  1.32, el pH de una solución acuosa al 10% es 7.2. Casi insoluble en éter y cloroformo, soluble en HCl concentrado.

HIDRÓXIDO DE SODIO	NaOH	MM 40.01 g/mol
--------------------	------	----------------

Propiedades: Barras, terrones o copos blancos, deliquescente, fractura cristalina. Absorbe dióxido de carbono del aire,  $d^{25}_{4}$  2.13, pf 318°C, genera calor considerable cuando se disuelve en agua o se mezcla con ácidos.

Peligros: muy tóxico por ingestión e inhalación, fuerte irritante para los tejidos (ojos, piel y membranas mucosas).

DIFENILHIDANTOÍNA	$C_{15}H_{12}N_2O_2$	MM 252.26 g/mol
-------------------	----------------------	-----------------

Propiedades: Polvo blanco, pf 295°C-298°C, prácticamente insoluble en agua 1 g se disuelve en 60 ml de alcohol, 30 ml de acetona y en ácido acético glacial. Poco soluble en éter cloroformo y benceno. Se disuelve en sosa pero no en solución de carbonato de sodio. De su solución acuosa precipita  $CO_2$ .

SAL SÓDICA DE DIFENILHIDANTOÍNA	$C_{15}H_{11}N_2NaO_2$
---------------------------------	------------------------

Propiedades: Polvo blanco ligero, amargo. Poco higroscópico, se disocia fácilmente en presencia de ácidos débiles (incluyendo  $CO_2$  absorbido por exposición al aire regenerando Fenitoína) 1 g se disuelve en 10.5 ml de alcohol y 66 ml de agua. Insoluble en éter y cloroformo.

#### b. Técnica 2

CARBONATO DE AMONIO	$(NH_4)HCO_3$	MM 95.05 g/mol
---------------------	---------------	----------------

Cubos blancos, polvo o masas cristalinas, translúcidas, duras e incoloras, fuerte olor a amonía, sabor picante y reacción alcalina. Descompone en exposición al aire con pérdida de  $NH_3$  y  $CO_2$  convirtiéndose en bicarbonato de amonio.

Volatiliza a 60°C, lentamente soluble en 4 partes de agua, se descompone en agua caliente, la porción de carbonato se disuelve en alcohol.

Guardar herméticamente cerrado en lugar frío. Incompatible con ácidos o sales ácidas, sales de hierro y zinc, alcaloides, alumbre, calomel.

Actividad Terapéutica: Expectorante.

BENZOFENONA Difenilmetanona	$C_{13}H_{10}O$	MM 182.21 g/mol
--------------------------------	-----------------	-----------------

Forma estable prismas ortorombicas bisfenoidales de alcohol o éter, olor a geranio  $d_4^{18}$  1.1108  $n_D^{45}$  1.5975 pf 48.5°C pe 305.4°C. Insoluble en agua, 1 g. se disuelve en 7.5 ml de alcohol, 6 ml de éter, soluble en cloroformo.

CIANURO DE POTASIO	KCN	MM 65.11 g/mol
--------------------	-----	----------------

Polvo blanco granular delicuescente, olor de HCN. Veneno violento. En exposición al aire se degrada gradualmente por la humedad y el  $CO_2$ .

d 1.52 pf 634°C, soluble en 2 partes de agua fría y 1 de agua caliente, 2 partes de glicerol, 100 partes de alcohol y 25 partes de metanol. La solución acuosa es fuertemente alcalina y se degrada rápidamente. El pH de una solución acuosa 0.1 N es 11.0.

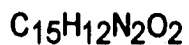
Guardar herméticamente cerrado y protegido de la luz. Incompatible con ácidos alcaloides, hidrato de cloral, yodo y sales metálicas, permanganatos, cloratos y peróxidos.

Toxicidad en humanos.

El envenenamiento puede ocurrir por ingestión, absorción, a través de la piel dañada o inhalación del cianuro de hidrógeno liberado por acción del  $CO_2$  u otros ácidos. Las soluciones fuertes son corrosivas para la piel.

Se inactiva con nitrito de sodio y tiosulfato de sodio.

### **3. Monografía de Fenitoína.<sup>1</sup>**



5,5-Difenil-2,4,imidazolidindiona.

Contiene no menos del 98.5 % y no más del 100.5 % de  $C_{15}H_{12}N_2O_2$  calculado sobre la sustancia seca.

**SUSTANCIA DE REFERENCIA.** Fenitoína. Secar 4 hr a 105°C.

**DESCRIPCIÓN.** Polvo blanco inodoro.

**SOLUBILIDAD.** Soluble en alcohol caliente, ligeramente soluble en alcohol frío, cloroformo y en éter, casi insoluble en agua.

**CLARIDAD Y COLOR DE LA SOLUCIÓN.** La solución de 1 g de la muestra en solución 1 N de hidróxido de sodio-agua (1:20) es transparente (MGA 0121)<sup>1</sup> y no más oscura que un color amarillo pálido (MGA 0181)<sup>1</sup>

**TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS.** MGA 0891. Pasa por malla 100, mínimo el 98 % y por malla 200 el 50 % mínimo.

**ENSAYOS DE IDENTIDAD.**

A. MGA 0351. El espectro de absorción en la región infrarroja de una dispersión de la muestra en bromuro de potasio, exhibe máximos solamente a la misma longitud de onda que la de una preparación similar de la SRef de fenitoína.

**PERDIDA POR SECADO.** MGA 0671. No más del 1.0 % secar 4 hr a 105°C

**TEMPERATURA DE FUSIÓN.** MGA 0471. Entre 292°C y 299°C

**METALES PESADOS. MGA 0561. No más del 0.002 %.**

**VALORACIÓN. MGA 0991.**

Pesar 500 mg de la muestra y pasarlos a un matraz cónico. Disolver en 50 ml de dimetilformamida, agregar 3 gotas de solución saturada de azul violeta en metanol y titular con SR 0.1 N de metóxido de sodio hasta punto final azul. Hacer una determinación en blanco y las correcciones necesarias. Cada ml de solución 0.1 N de metóxido de sodio equivale a 25.23 mg de  $C_{15}H_{12}N_2O_2$ .

**CONSERVACIÓN.** En recipientes herméticos.

#### **4. Seguridad en el Laboratorio.**

En la tabla J se observa que el laboratorio de MPSM II no cuenta con un manual de seguridad en el laboratorio; en el presente anexo se reúne información para dar solución a este aspecto importante dentro del trabajo en el laboratorio.

Mediante un sistema de Buenas Prácticas de Seguridad se puede concientizar de las principales causas que provocan los accidentes de trabajo en el laboratorio así como la forma de prevenirlos.

Los factores que pueden provocar accidentes se dividen en físicos, químicos y económicos.

Los factores físicos son por ejemplo la iluminación del laboratorio, el control de temperatura y humedad de los almacenes de disolventes y el ruido que puede distraer y ayudar a cometer errores.

Los factores químicos están considerados como los principales causantes de accidentes en sus diferentes formas de absorción, por ejemplo, contacto directo, por inhalación o por la piel.

Los factores económicos afectan principalmente en que por medio de un mayor presupuesto, la calidad de los insumos será mejor y más avanzada en cuanto a tecnología.

Existen tablas de reactivos (Merck México) con la clasificación de algunos de los principales reactivos de acuerdo a su peligrosidad, así tenemos:

*Sustancias Explosivas:*

El símbolo de la flama señala sustancias que pueden explotar bajo ciertas condiciones, ejemplo dicromato de amonio.

Precaución: Evitar choque, percusión, fricción, formación de chispas y acción de calor.

*Sustancias Comburentes:*

Pueden inflamar sustancias combustibles y favorecer la ampliación de incendios dificultando su extinción.

Ejemplo: Permanganato de potasio y peróxido de sodio.

Precaución: Evitar el contacto con sustancias comburentes.

*Sustancias Fácilmente Inflamables:*

Se clasifican a su vez en autoinflamables y inflamables. Entre los primeros se encuentran a los alquinos de Aluminio y Fósforo.

Precaución: Evitar el contacto con el aire.

Los gases inflamables son por ejemplo el hidrógeno.

Precaución: evitar la mezcla inflamable gas-aire y aislar de las fuentes de ignición.

*Sustancias Sensibles a la Humedad:*

Productos químicos que desarrollan emanaciones de gas inflamable en contacto con el agua.

Ejemplo: Litio, Boro, Hidruro de sodio.

Precaución: Evitar el contacto con el agua o la humedad.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



*Líquidos Flamables:*

Son aquellos con un punto de inflamación inferior a 21°C

Ejemplo: Acetona, Benceno.

Precaución: Aislar de llamas, fuentes de calor y chispas. Evitar el contacto con el aire, agua y humedad.

*Sustancias Tóxicas.*

Tras una inhalación, ingestión o absorción a través de la piel, pueden presentarse trastornos orgánicos e incluso la muerte.

Ejemplo: Trióxido de arsénico, cloruro de mercurio.

Precaución: Evitar cualquier contacto con el cuerpo, en caso de malestar, recurrir al médico.

*Sustancias Nocivas*

La incorporación de estas sustancias al organismo produce efectos de menor trascendencia que las sustancias tóxicas.

Ejemplo: Piridina y tricloroetileno.

Precaución: Evitar el contacto con el cuerpo e inhalación de vapor. En caso de molestias recurrir al médico.

*Sustancias Corrosivas.*

El contacto con estas sustancias destruye el tejido orgánico y otros materiales.

Ejemplo: Bromo, ácido sulfúrico.

Precaución: No inhalar los vapores y evitar el contacto con los ojos y la piel.

Algunas medidas para prevenir accidentes en el laboratorio son las siguientes:

Los reactivos deben estar debidamente etiquetados y es necesario que la etiqueta sea legible y que contenga los datos sobre la forma de almacenamiento y el grado de peligrosidad.

El personal debe tomar conciencia para usar el equipo de protección adecuado como: lentes, guantes, mascarilla con filtro especial según se requiera y nunca succionar con la boca a una pipeta, sino con ayuda de una perilla de succión.

Siempre que se desprendan vapores debe usarse la campana de extracción, considerando que debe ser revisada periódicamente para garantizar su funcionamiento. Debe ser además de orientales inastillables, fácil de limpiar y con suficiente extracción.

Hay que recordar que en caso de que se produzcan reacciones exotérmicas, como por ejemplo al mezclar ácido sulfúrico con agua, deben enfriarse ambos en un baño de hielo y después verter el ácido lentamente al agua. Al evaporar un disolvente debe hacerse en un baño de agua, controlando la temperatura y dentro de la campana de extracción.

Mantener absoluto orden y limpieza de manera que no queden excedentes en las mesas o que se provoque la ruptura de algún frasco de reactivos o material. No comer dentro del área de trabajo.

Si es necesario llevar los reactivos de un lugar a otro, se debe hacer en un recipiente apropiado.

Cuando algún reactivo químico salpique cualquier parte del cuerpo se debe limpiar primero la parte afectada y después lavar abundantemente con agua, algunas soluciones de ayuda son:

Quemaduras con fósforo:	Sulfato de cobre al 1%. Tiosulfato de cobre al 1%
Quemaduras con bromo:	Tiosulfato de sodio al 5%
Envenenamiento con bromo:	5 cucharadas de cloruro de sodio en 500 ml de agua
Quemaduras con ácido en los ojos:	Lavar inmediatamente con agua usando un chorro continuo asegurándose de que queden los párpados abiertos, sin usar ninguna sustancia química, puede aplicarse parafina líquida o aceite de ricino para aliviar el dolor.
Quemaduras con álcalis en los ojos:	Lavar inmediatamente con agua usando un chorro continuo asegurándose de que queden los párpados abiertos, después efectuar un lavado con ácido bórico al 2%
Ingestión de ácidos:	Leche y agua a voluntad Gel comercial de Al, Ca o Mg
Ingestión de álcalis:	Ácido acético al 3%, jugos de frutas, agua fría o leche con 1 o 2 huevos
Envenenamiento con cianuros:	Ampolletas de nitrato de sodio 0.3 en 10 de tiosulfato de sodio 12.5 en 50 ml de nitrito de Amilo (aspirole)
Antídoto universal:	200 g de carbón activado 100 g de ácido tánico 100 g de óxido de magnesio. Una vez evacuado el estómago se administra una cucharada de la mezcla disuelta en agua, después de cada dosis provocar vómito o lavar el estómago.

*Tabla O. Soluciones de ayuda en caso de accidentes en el laboratorio.*

Los desechos de reactivos deben transformarse en compuestos no nocivos y verter en un lugar especial con suficiente agua.

Cuando se usen tanques de gases comprimidos, deben tenerse en cuenta varias precauciones.

Deben estar en un lugar fresco, limpio, bien ventilado y protegido de la luz directa del sol. La temperatura de almacenamiento no debe exceder a 50°C, no debe estar en contacto con sustancias inflamables, aceites grasas u otros compuestos orgánicos.

Nunca enroscar las mangueras para evitar la salida de gases. No martillar o apretar una línea.

Se debe contar con indicaciones de peligro y flamable, con regaderas de presión cercanas al lugar de trabajo, lavaojos, así como con suficientes lavabos con agua potable.

Debe tenerse un cuerpo de reactivos con temperatura y humedad apropiadas y debe contarse con personal de limpieza y mantenimiento.

Debe contarse con una enfermería provista de lo necesario para auxiliar a cualquier persona accidentada, un extinguidor de polvo químico revisado periódicamente, un botiquín de primeros auxilios y los teléfonos del hospital más cercano.

*BIBLIOGRAFÍA*

1. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Secretaría de Salud. 6a Ed, México, 1994.
2. Philip J.; Holcomb, I.; Fusari S: "Analytical Profiles of Drugs Sustances"; Florey, K., Ed.; American Pharmaceutical Association: Washington, 1984; pp 417-438.
3. Keenan G.L., Journal. Americam Pharmaceutical Association 39, 215 (1950).
4. Martindale, "The Extra Pharmacopoeia", 28th. Ed., The Pharmaceutical Press, London, 1982.
5. Litter M. (1992). "Compendio de Farmacología", El Ateneo 4a Ed. Argentina 1992 pp 135-142.
6. CIPAM, "Guía de Procedimientos Adecuados de Laboratorio Analítico", México D.F. 1986.
7. Bucherer H.T., Steiner J. Prakt. Chem. 2, 140, 291, 1934.
8. Adams-Johnson, "Laboratory Experiments in Organic Chemistry", 7th. Ed., Mac Millan Publishing Co., New York 1970.
9. Giral-Rojhan, "Productos Químicos y Farmacéuticos", Vol III, Atlante, México, 1956.
10. Vogel's A.I. " A Textbook of Practical in Organic Chemistry", 4th. Ed., Logman Inc., USA, 1978 pp 806-807.
11. Chemical Abstracts, 1947 Vol 41,1250d. Henze, H. R. Preparation to 5,5 diarylhydantoins.

12. Jelen F. C., Black J. H. "Cost and Optimization Engineering", 2th., Mc Graw Hill Book Company, USA, 1983.
13. Berry, I. R., "Process Validation of Raw Materials", Pharmaceutical Technology, 5, (2), 38, (1981).
14. Loftus B. L., Nash R. A., "Pharmaceutical Process Validation", Marcel Dekker, New York, 1984.
15. CIPAM, "Guía de Procedimientos Adecuados de Manufactura" 3da. Ed. México D.F. 1989.
16. CIPAM, "Guía de Buenas Prácticas de Manufactura de Farmoquímicos", México D.F. 1993.
17. "The Merck Index," 11th, The Merck and Co.Ltd., Rahway, NJ, 1976, 7130.
18. Curso: "Utilidad de las Buenas Prácticas de Manufactura en la Auditoría Sanitaria", Dirección General de Control de Insumos para la Salud. Secretaría de Salud, México, 1992.
19. Clarke E. G. C., "Isolation and Identification of Drugs", The Pharmaceutical Press, London, 1969.
20. Chapman, K. G., "The PAR Approach to Process Validation", Pharmaceutical Technology, 8, (12) 22-36 (1984).
21. Madan, P. L. Komotar A., "Quality Control of Pharmaceuticals" Drug Cosmetic Ind. 124 (4), 66, (1979).

22. FDA "Guideline of General Principles of Process Validation", Rockville, Maryland, 1983.
23. "Code of Federal Regulations" title 21, parts 200-299. US Government Printing Office, Washinton D. C., 1986.
24. "Process Validation Concepts of Drug Products" PMA's Validation Advisory Comitte, Pharmaceutical Technology, 9 (9), 78 (1985).
25. Berry et al., "Process Validation: Practical Aplications to Pharmaceutical Products" Drug Dev. and Ind. Pharm., 14 (2-3), 377, 389, (1988).
26. Schlager, M., "Pharmaceutical Process Validation-a Working Model Concept" Pharm. Eng., 12, May-Jun, (1984).
27. Byers J. E., "Process Validation in Drug Manufacture", Drug and Cosm. Ind., 127, (2), 44, (1980).
28. Scymczack, M. M., "Alternate Source Qualification of Raw Materials", Pharmaceutical Technology, Conference 304, (1984).
29. Catalá M. Y., "Validación de Procesos en la Industria Farmacéutica", Rev. Mex. de Ciencias Farm., 21, (5) 1991.
30. Creswell, C.J., Runquist O., "Análisis Espectral de Compuestos Orgánicos", Ed. Diana, México 1980.
31. Hayward, R.C. " Synthesis of the Anticonvulsivant Drug 5,5-Diphenylhydantoin", Journal of Chemical Education 60, 1983. pp 512

32. Pankaskie, M.C., Small L.V. "The synthesis of 5,5-Diphenylhydantoin" Journal of Chemical Education 63, 1986. pp 650
33. Thompson R.G. "The Design, documentation and construction of Pharmaceutical Facilities Part I: Design", Pharmaceutical Technology, 8 (2) 56-58, 1984.
34. Butler A. R., Leitch E., "Mechanistic Studies in the Chemistry of Urea. Part 2. Reaction with Benzil, 4,4-Dimethylbenzil, and 4,4'-Dimethoxybenzil", Journal of the Chemical Society Perkin Trans II, 14, 1977. pp 1972-1976.
35. Kelley G. A. "FDA Guidelines for the inspection of bulk Pharmaceutical Chemicals", Pharmaceutical Technology, 9 (10) 32-33 1985.
36. "Remington's, Pharmaceutical Sciences" 16a Ed, Mack Publishing Co. USA 1980.
37. Nally S.D. "Validation Guidelines - Industry Perspective"-Pharm. Eng. 21, May-Jun, 1984.
38. Wilcox Ch. F. "Experimental Organic Chemistry" Mac Millan Publishing Co. New York 1984 pp 358-362.
39. Burer A. (1970) "Anticonvulsants. Medicinal Chemistry" Vol 2, 2a Ed Interscience Publishers Inc., New York 1960. pp 376-398.
40. Zarco Rubio, Esther, "Seguridad en el Laboratorio" Prevención de Accidentes y Primeros Auxilios en Laboratorios Químicos., Ed Trillas., México 1990. Pp 61-68.
41. M en C. Ignacio Regla C.