

336427

3.



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE MÉXICO
CAMPUS CHAPULTEPEC

ESCUELA DE QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
INCORPORADA A LA UNAM

DESARROLLO DE UNA FORMULACIÓN DE FLOROGLUCINOL
EN SOLUCIÓN ORAL, DISEÑO Y VALIDACIÓN DE UN
MÉTODO ANALÍTICO PARA SU CUANTIFICACIÓN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

FLOR ISSEL JIMÉNEZ MORGAN

DIRECTORA DE TESIS:

Q.F.B. RAQUEL RUÍZ ROSALES

MÉXICO D.F.

2002
2001

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Esta Tesis quiero dedicarla de manera especial a las personas que han sacrificado una gran parte de su vida para que uno sea una persona preparada en este mundo tan difícil en el que nos toca vivir: *Mis Padres*. Por lo que ahora mi esfuerzo también es suyo.

A mi papá.

Gabriel Jiménez Figueroa

Ya sé que esto no es el final, sino solo el principio de un gran andar. Que con tu confianza y comprensión me dejaste la libertad de escoger el camino. Gracias por darme la oportunidad.

Te amo

A mi mamá

Flor Morgan Figueroa

Por apoyarme en todo. Que a través de todo este camino recorrido siempre hemos ido juntas de la mano, llegando a las metas que me he propuesto. Ahora me toca demostrarte que todos tus esfuerzos no fueron infructuosos.

Te amo

A mis hermanos

Jorge Gabriel Jiménez Morgan

Mayra Jiménez Morgan

Que con sus consejos me han ayudado a tomar decisiones en cualquier momento de mi vida. Todos hemos luchado por seguir adelante y ser gente triunfadora, apoyándonos y ayudándonos en los momentos en que mas nos hemos necesitado, gracias por estar conmigo. Los amo

Issel Jiménez Morgan

A mi abuelita

Matilde Figueroa Becerra

A la persona que me ha enseñado que con amor, dedicación y fortaleza todo se puede lograr. Siendo mi segunda madre y por ser la base fundamental de la honestidad, trabajo y desempeño.

Gracias, Te amo

A Sergio

Cuando todo parece perdido, estas ahí para ayudarme a encontrar todas las cosas hermosas que existen y a veces no me doy cuenta. Gracias por los buenos momentos.

A la Nena

Aunque no lo pueda leer, me alegra todo el día.

A Everest

Gracias por aparecer en mi vida y a ver todo lo que se encuentra a mi alrededor con gran optimismo. Te quiero mucho.

Un amigo es un hermano que elegimos.

A Blanca, Eneida y Rosy.

Por hacer los momentos más felices y divertidos.

A mis profesores

Porque sin ustedes no hubiera podido llegar hasta aquí, y a ver las cosas de diferente manera. Gracias.

Issel Jiménez Morgan

Gracias a todos mis amigos y compañeros de la *UVM Chapultepec*. De la Subdirección de Farmacopea, Farmacovigilancia y Normas y a los Laboratorios *Atlantis* por sus estímulos. Gracias por aguantarme un ratito.

Agradezco la colaboración prestada en el desarrollo del presente estudio a las siguientes personas:

Q.F.B. Raquel Ruiz Rosales

Q.F.B. Santiago Salazar López

Q.F.B. Osvelia Gutierrez Herrera

Q.F.B. Ubaldo Juárez Sevilla

Q.F.B. Antonio Hernández Cardoso

Q. Ma. del Carmen Becerril Martínez

Q. Agustín Palma Díaz

Q.F.B. Esperanza Hernández Koelig

Q.B. Benjamín Fernández Fernández

La presente tesis se llevó a cabo en los *Laboratorios Atlantis S.A. de C.V.*

Q.F.B. Rosa Velia Flores Sánchez

Ing. Roberto Velázquez

Q.F.I. Teresa Santoyo Guillén

Gracias por permitirme trabajar con ustedes y a guiarme en la elaboración de este trabajo.

**DESARROLLO DE UNA FORMULACIÓN DE FLOROGLUCINOL
EN SOLUCIÓN ORAL, DISEÑO Y VALIDACIÓN DE UN
MÉTODO ANALÍTICO PARA SU CUANTIFICACIÓN.**

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
1.0 FUNDAMENTO TEÓRICO.....	4
1.1 GENERALIDADES DE ANTIESPASMÓDICOS.....	4
1.2 GENERALIDADES DE SOLUCIONES.....	4
1.2.1 Definición y clasificación.....	4
1.2.2 Consideraciones a la formulación.....	7
1.2.3 Características del producto.....	10
1.3 INFORMACIÓN DEL ACTIVO.....	11
1.3.1 Propiedades fisicoquímicas.....	11
1.3.2 Farmacocinética y mecanismo de acción.....	13
1.3.3 Indicaciones y uso.....	14
1.3.4 Toxicidad.....	15
1.3.5 Dosis y sobredosificación.....	17
1.3.6 Medidas de precaución y manejo.....	18
1.4 DESARROLLO FARMACÉUTICO.....	19

1.4.1	Definición.....	19
1.4.2	Revisión bibliográfica.....	20
1.4.3	Preformulación.....	20
1.4.4	Optimización de la fórmula.....	22
1.4.5	Lote piloto.....	22
1.5	ESTABILIDAD.....	24
1.5.1	Esquema para determinar la estabilidad.....	26
1.5.2	Factores que influyen en la estabilidad de los fármacos.....	27
1.5.3	Estabilización de formulaciones.....	28
1.6	DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	31
1.6.1	Métodos analíticos más comunes.....	32
1.7	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	34
1.7.1	Parámetros a evaluar.....	36
1.7.2	Diagrama de flujo.....	37
2.0	PARTE EXPERIMENTAL.....	38
2.1	PREFORMULACIÓN.....	38
2.1.2	Principio activo.....	41
2.1.2.1	Análisis de materia prima.....	41
2.1.2.2	Selección del disolvente adecuado para la formulación.....	45
2.1.2.3	Estabilidad del principio activo.....	47
2.1.2.4	Compatibilidad del principio activo con excipientes.....	50
2.2	FORMULACIÓN.....	52

2.3	PRODUCTO FINAL.....	54
2.3.1	Análisis del producto terminado	54
2.4	DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO	58
2.4.1	Desarrollo del método analítico.....	58
2.5	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	59
2.5.1	Reactivos, instrumentos y material.....	59
2.5.2	Linealidad del sistema	60
2.5.3	Precisión del sistema: Repetibilidad.....	62
2.5.4	Especificidad del método	63
2.5.5	Linealidad del método.....	64
2.5.6	Exactitud del método	66
2.5.7	Precisión del método: Repetibilidad	67
2.5.8	Precisión del método: Reproducibilidad	68
2.6	ESTABILIDAD ACELERADA.....	69
3.0	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	70
3.1	ESTUDIOS DE PREFORMULACION.....	70
3.1.1	Análisis de materia prima.....	70
3.1.2	Solubilidad	71
3.1.3	Estabilidad del principio activo	72
3.1.3.1	Estabilidad en estado sólido.....	72
3.1.3.2	Estabilidad en estado líquido	75
3.1.4	Compatibilidad del principio activo con los excipientes	82

3.2	FORMULACIÓN	83
3.2.1	Formulación final.....	86
3.2.2	Metodología del proceso para la fabricación de la solución oral.....	87
3.2.2.1	Escalamiento del proceso	88
3.2.2.2	Tipo de envase, tapa y gotero.....	89
3.3	RESULTADOS DE PRODUCTO TERMINADO	95
3.4	DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO	96
3.5	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	97
3.5.1	Linealidad del sistema	97
3.5.2	Precisión del sistema: Repetibilidad	104
3.5.3	Especificidad del método	107
3.5.4	Linealidad del método.....	108
3.5.5	Exactitud del método	116
3.5.6	Precisión del método: Reproducibilidad	119
3.6	ESTABILIDAD ACELERADA.....	122
	CONCLUSIONES	125
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	130

INTRODUCCIÓN

En la industria farmacéutica es importante la selección de nuevos compuestos de fármacos potenciales, incluyendo con esto el proceso de descubrimiento y su preparación en formas farmacéuticas que tengan una biodisponibilidad elevada.

Debido a que el espasmo gastrointestinal es muy común en bebés por la poca capacidad que tienen de metabolizar los primeros alimentos que se les administra, se ha generado la necesidad de desarrollar un producto que cumpla con los requisitos de calidad, seguridad, identidad y eficacia terapéutica que ayuden a aliviar los síntomas del espasmo.

Un principio activo como el floroglucinol (un trifenol), es un relajante de los músculos lisos, cuya acción es particularmente eficaz en estos sitios y que la selectividad a estos niveles no se acompaña de ningún efecto depresor cardíaco.

La forma farmacéutica de elección para el floroglucinol es la solución oral para una fácil administración en gotas para niños o bebés.

Existe una baja probabilidad de que un nuevo compuesto, sintetizado en el proceso de descubrimiento, llegue a ser un producto farmacéutico comercialmente viable, esto se debe principalmente a factores científicos y de comercialización; otra razón puede ser la selección de compuestos para su desarrollo que se

asocian con características fisicoquímicas inadecuadas (por ejemplo la inestabilidad o la insolubilidad), llevando con ello a una baja biodisponibilidad o eficacia en estudios clínicos humanos. Normalmente estos problemas se pueden solucionar en el proceso de preformulación, en el que se determinan las propiedades físicas, químicas y mecánicas de los principios activos.

En la industria farmacéutica es frecuente que los nuevos compuestos se seleccionen para su desarrollo, sin datos de preformulación adecuados; por lo tanto, surgen problemas relacionados con la estabilidad, la solubilidad y la biodisponibilidad durante el proceso de desarrollo, que podrían haberse evitado o modificado, si los datos de preformulación hubieran sido considerados en el proceso de selección del compuesto.

En este trabajo se desarrollaron los estudios de preformulación y formulación para obtener el floroglucinol en solución oral, con la finalidad de obtener un producto de calidad.

Para la cuantificación del principio activo en el laboratorio de control de calidad, se llevó a cabo el desarrollo y la validación del método analítico para la forma farmacéutica realizada.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Desarrollar una formulación en solución oral pediátrica con efecto antiespasmódico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Efectuar los estudios de la estabilidad del principio activo.
- Llevar a cabo los estudios de compatibilidad del principio activo con diferentes excipientes.
- Desarrollar una solución oral de floroglucinol.
- Describir la metodología para fabricar la solución oral, siguiendo las buenas prácticas de fabricación y la regulación sanitaria requerida.
- Proponer un método analítico para la cuantificación del principio activo en el laboratorio de control de calidad, tanto como producto terminado y como materia prima.
- Validación del método analítico propuesto.
- Efectuar los estudios de estabilidad acelerada en condiciones de temperatura y humedad indicadas en la "NOM 073-SSA1-1993 Estabilidad de medicamentos".

1.0 FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1 GENERALIDADES DE ANTIESPASMÓDICOS

El espasmo puede producirse por un trastorno local, en ese caso un daño celular inicia el proceso contráctil y se liberan hormonas locales u otras sustancias excitantes o irritantes (o se activan reflejos locales), puede ser resultado de la hiperactividad de los nervios autonómicos excitadores eferentes o de alteraciones electrolíticas que favorecen el aumento de la actividad neuronal y muscular.

1.2 GENERALIDADES DE SOLUCIONES

1.2.1 Definición y clasificación

Una solución es una mezcla homogénea preparada mediante la disolución de un sólido, un líquido o un gas en otro líquido, y representa un grupo de preparaciones en las que las moléculas del soluto o sustancia disuelta están dispersas entre las del solvente.

Tomando en cuenta la naturaleza del disolvente las soluciones líquidas se pueden clasificar en:

- Acuosas.
- Oleosas.
- Hidroalcohólicas.

Tomando en cuenta la vía de administración, pueden clasificarse en:

- Orales.
- Locales (dérmicas).
- Oftálmicas.
- Nasaes
- Óticas.
- Rectales (enemas).
- Vaginales.
- Parenterales.

El principal componente de la mayoría de las soluciones orales es el agua. El agua es insabora y carece de propiedades irritantes y de actividad farmacológica, lo que la convierte en una sustancia ideal para esta finalidad.

Las principales impurezas presentes en el agua son: calcio, hierro, magnesio, manganeso, silicio y sodio. Los cationes generalmente se combinan con los aniones bicarbonato, sulfato o cloruro. Los procedimientos de intercambio iónico (deionización, desmineralización) eliminan la mayoría de las impurezas del agua en forma eficiente y económica.

La base principal del uso de líquidos orales, es la facilidad de su administración en aquellos individuos que tienen dificultad en utilizar formas sólidas. Además, un fármaco administrado en solución se encuentra disponible para su absorción, y en la mayoría de los casos, es más rápido y eficiente en comparación con un comprimido o una cápsula.

La formulación de las soluciones presenta muchos problemas técnicos en la industria farmacéutica. Algunos fármacos son inestables, y se incrementa aún más cuando se encuentra en solución, ya que pueden sufrir hidrólisis o bien interactuar con alguno de los otros componentes de la fórmula, provocando pérdida o disminución de la actividad, con modificación aparente o no de los caracteres organolépticos del producto. Se requieren de técnicas especiales para aquellos principios activos que tienen una baja solubilidad. La preparación final debe satisfacer los requerimientos de elegancia farmacéutica en cuanto al sabor, apariencia y viscosidad.

1.2.2 Consideraciones a la formulación

Es muy importante conocer las características que debe tener una solución oral, primero es su solubilidad y estabilidad, y otro las características organolépticas.

- **Solubilidad.** La solubilidad de una sustancia es la cantidad que se disuelve para formar una solución saturada. La solubilidad depende principalmente de la naturaleza y de la intensidad de las fuerzas presentes en el soluto, el solvente y las interacciones resultantes de soluto-disolvente. Pero se puede obtener una solubilidad de mayores cantidades de soluto de lo que se podría esperar, si se altera el pH de la solución, la temperatura o el tiempo de agitación. La solubilidad de una sustancia químicamente pura a una temperatura y presión dadas son constantes; sin embargo su velocidad de solución que es la velocidad a la cual se disuelve, depende del tamaño de partícula de la sustancia y de la agitación.
- **pH.** Muchos agentes terapéuticos son bases o ácidos débiles que al reaccionar con bases o ácidos fuertes pueden formar sales solubles en agua, por lo que la solubilidad de estos agentes se encuentra marcadamente influenciada por el medio en el que se encuentran.

- **Cosolventia.** Los electrolitos débiles y moléculas no polares frecuentemente tienen una baja solubilidad en agua. Su solubilidad usualmente puede ser incrementada por la adición de un solvente miscible en agua, en el cual el fármaco tiene una buena solubilidad. A este proceso se le conoce como cosolventia, y los solventes que son usados en combinación para incrementar la solubilidad del soluto, se les conoce como cosolventes. Etanol, sorbitol, glicerina, propilenglicol y muchos miembros de los polímeros del polietilenglicol representa un número ilimitado de cosolventes que pueden ser utilizados y generalmente aceptados en formulación de líquidos acuosos.
- **Solubilización por tensoactivos.** También llamada solubilización micelar, se lleva a cabo con tensoactivos para solubilizar un compuesto poco soluble en agua y formar una solución coloidal transparente y termodinámicamente estable. El tensoactivo debe elegirse por su eficiencia y tomando en cuenta sus efectos sobre el producto o su acción, ya que se ha observado que pueden modificar la absorción intestinal del principio activo o disminuir la potencia de los conservadores presentes en la formulación.
- **Formación de complejos.** Compuestos orgánicos en solución que generalmente tienden a asociarse con otro para aumentar la solubilidad. Cuando la formación del complejo ocurre, la solubilidad total es igual a la solubilidad del compuesto libre más la solubilidad del complejo en solución.

- **Hidrotropía.** Consiste en aprovechar el efecto de una segunda sustancia, llamado agente hidrotrópico, que se encuentra en una cantidad muy grande. Las soluciones hidrotrópicas no presentan propiedades coloidales.

En la práctica el uso de formación de complejos y la hidrotropía se encuentra limitado para incrementar la solubilidad de los líquidos utilizados en la industria farmacéutica, por dos razones, la primera porque se necesitan altas concentraciones y la segunda porque muchos de los agentes tienen actividad fisiológica.

- **Modificación química del fármaco.** Cuando un compuesto es poco soluble en agua, se puede modificar químicamente, introduciendo un grupo polar en la molécula de tal manera que aumente su solubilidad. Al ser esto una nueva síntesis, se tiene que evaluar el efecto terapéutico, con tal de asegurar que es equivalente al del compuesto original; haciendo evaluación clínica y estudios de toxicidad aguda y crónica. Normalmente se lleva a cabo esta opción cuando ya se agotaron los otros métodos de solubilidad.

1.2.3 Características del producto

Conservación. Una solución oral es muy fácil que se pueda contaminar, ya que su manejo no es en un ambiente totalmente estéril, por lo que se deben utilizar conservadores para disminuir la contaminación microbiana.

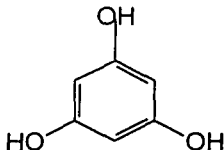
Características subjetivas del producto. Es muy importante la "elegancia farmacéutica", ya que esto significa la aceptación del cliente, tales como el olor, el sabor y la apariencia que tiene la forma farmacéutica.

Método de manufactura. La elaboración de las soluciones es verdaderamente simple, las soluciones diluidas se realizan adicionando el o los solutos al disolvente con agitación constante hasta la homogenización. Cuando estas soluciones son más concentradas o que el soluto se disuelve más lentamente, se utiliza calor en el procedimiento. Los excipientes deben ser disueltos antes de mezclarse con el resto del lote, con el fin de asegurar la disolución completa del principio activo

Estabilidad en solución. Existe menos estabilidad del principio activo en solución que en sistemas sólidos o en suspensión. Una solución oral debe retener la viscosidad, el color, la claridad, el sabor y el olor a lo largo de su tiempo de vida. Todas estas características deben ser evaluadas durante el transcurso de la estabilidad. Estos estudios deben incluir los efectos del pH, cosolvente, luz, temperatura y oxigenación.

1.3 INFORMACIÓN DEL ACTIVO

FLOROGLUCINOL



1.3.1 Propiedades fisicoquímicas

Aspecto. Polvo blanquecino cristalino, inodoro.

PM. 126.4

CAS. 108-73-6

Sinónimos. 1,3,5 Benzenotriol, Floroglucina, 1,3,5-trihidroxibenceno

Aislado de *Eucalyptus kino* y *Acacia arabia*.

Solubilidad. Moderadamente soluble en agua, 11.3 g/L (25°C)

Soluble en alcoholes.

Soluble en acetona.

Issel Jiménez Morgan

pKa. 8.35 (25°C)

Temperatura de fusión. 117°C (si es dihidratado)
217-219°C (anhidro, en calentamiento rápido)
200-209°C (anhidro, en calentamiento lento)

Temperatura de ebullición. Se sublima con descomposición.

Densidad relativa aparente. Aproximadamente 0.5 g/L.

Estabilidad.

- Estable en condiciones normales de temperatura.
- Evitar el uso de oxidantes fuertes y halógenos; puede ser inflamable con los primeros, y con el cloruro e hipoclorito puede dar productos que dañen la atmósfera.

1.3.2 Farmacocinética y mecanismo de acción

Farmacocinética

- Biodisponibilidad. Oral: 47%¹
- Metabolismo. El floroglucinol es excretado en orina principalmente como glucurono- y sulfo- conjugados.¹ El tiempo de vida media es de 1.5 horas.¹ La concentración media en plasma es de aproximadamente 1.5 horas, y después de seis horas se detecta una concentración de 9 mg/mL

Mecanismo de acción. El floroglucinol pertenece al grupo de medicamentos antimuscarínicos sintéticos, los cuales poseen una acción relajante directa o específica sobre el músculo liso sin antagonizar con la acetilcolina. Este mecanismo de acción se traduce en una acción terapéutica en el dolor de tipo cólico o espástico demostrado en tracto gastrointestinal y genitourinario.

En pruebas tanto in vitro como in vivo indican que el floroglucinol tiene propiedades anticolinérgicas muy débiles y ejerce directamente su principal acción por la relajación de las células del músculo suave. Parte de sus propiedades relajantes del floroglucinol, se encuentra atribuido a la inhibición del catecol-O-metiltransferasas.³ Su derivado trimetoxibenceno, el cual es utilizado en combinación con el floroglucinol, ya que ayuda tanto farmacológicamente² como toxicológicamente,⁴ aumentando la duración y efecto antiespasmódico seis veces más que el floroglucinol.²

1 (Dollo et al, 1999; Lartigue-Mattei et al, 1993)

2 Cahen et al, 1962.

3 Hattori et al, 1969.

4 Paladino, 1972.

1.3.3 Indicaciones y uso

Indicaciones. Procesos espasmódicos dolorosos del tracto gastrointestinal, vías biliares, urinarias y útero. Cólico renal, cólico hepático. Eliminación de cálculos. Dolor residual poscólico. Hipermotilidad uterina. Distocias por contracción. Dismenorrea.

Vías biliares. Espasmolítico selectivo en vías biliares que favorecen la acción miorelajante y la dilatación tanto del esfínter de Oddi para un mejor vaciamiento del líquido biliar, así como en los conductos biliares facilitando el descenso y en un alto porcentaje la expulsión del cálculo en los casos de litiasis, actúa en el espasmo-dolor eliminándolo rápidamente en un promedio de 5 a 10 minutos y durante un tiempo prolongado que alcanza de 4-6 horas.

Vías urinarias. Favorece el descenso y expulsión de cálculos en la mayoría de los casos, en otros, la migración calculosa tiene lugar hasta el meato urinario, lo que permite la extracción instrumental del cálculo, así mismo, actúa en el espasmo dolor, eliminando el dolor renal y en general los producidos por litiasis, debido a que proporciona una analgesia por espasmólisis que se manifiesta en unos cuantos minutos y con duración de acción de 12 horas como promedio, puede utilizarse conjuntamente a terapia antibiótica.

Uso. Agente espasmolítico. El floroglucinol es un antiespasmódico no atropínico que actúa disminuyendo selectivamente la contracción del músculo liso. Su acción fundamental es músculo-trópica. Inhibe muy poco la motilidad del intestino, pero relaja el tracto gastrointestinal cuando existe un espasmo. La acción antiespasmódica del floroglucinol es muy selectiva sobre el uréter, tracto biliar y útero; en menor escala sobre la movilidad intestinal del sistema vascular. Debido a su acción no atropínica, puede ser administrado a pacientes con glaucoma con hipertrofia de próstata, aunque en estos casos debe evaluarse la relación riesgo / beneficio. El trimetoxibenceno es un derivado del floroglucinol concebido para prolongar la acción de éste. Tiene iguales acciones farmacológicas, diferenciándose sólo en la potencia y duración del efecto. Espasmólisis de las fibras musculares lisas de las vías biliares, urinarias y uterinas.

1.3.4 Toxicidad

Información sobre su toxicidad.

- El producto se considera de baja toxicidad sistémica, tanto en sobre exposición, como a largo plazo.
- Afecta al sistema nervioso central (depresión, debilidad), en tiempos prolongados daño hepático (necrosis), en riñones (nefritis), al corazón (arritmias, extrasístole).
- No existe evidencia de efectos cancerígenos.

Toxicidad experimental.

- Oral
 - Rata DL₅₀: 4000 mg/kg
 - Topos DL₅₀: 4550 mg/kg.
- Dérmica.
 - Rata DL₅₀ > 2600 mg/kg.
- Intraperitoneal
 - Rata DL₅₀: 3180 mg/kg

Efectos sobre la reproducción. Reduce la fertilidad.

Contraindicaciones. No administrar a pacientes con hipersensibilidad conocida a cualquiera de los componentes de la fórmula. Carcinoma del hígado y páncreas, desproporción-pélvica en la labor de parto.

Advertencias. No debe refrigerarse ni exponerse a bajas temperaturas. Con el tiempo el contenido puede variar de color, tal circunstancia no altera las propiedades terapéuticas del mismo. Raramente puede producir rash cutáneo. Debe tenerse especial precaución al administrarse este medicamento a pacientes con insuficiencia renal y/o hepática severa; primer trimestre de embarazo o lactancia.

Reacciones secundarias y adversas. A dosis habituales por lo general carece de efectos anticolinérgicos del tipo de sequedad de mucosas, taquicardia, retención urinaria, alteraciones oculares y gastrointestinales como náuseas y vómito. Cuando se presentan suelen ser de leve intensidad. A dosis muy altas se logra reproducir esta sintomatología, por lo que se considera un medicamento seguro con muy escasos efectos adversos.

Interacciones medicamentosas. Puede administrarse con cualquier otra medicación (antibióticos, oclóticos, sustancias de contraste, etc.). Al administrar conjuntamente con opiáceos, analgésicos y otros antiespasmódicos, pueden disminuir los efectos espasmolíticos, por lo cual este tipo de asociaciones no es recomendable. No se deberá administrar con morfina y sus derivados, debido a que estos fármacos poseen acción espasmógena en el músculo liso.

1.3.5 Dosis y sobredosificación

Dosificación. La dosis oral usual de adulto es de 80 mg de floro-glucinol 6 veces al día. La dosis rectal usual es de 150 mg tres veces al día.

Sobredosificación. La ingestión accidental o administración exagerada puede producir constipación y en raros casos, disminución de la presión arterial. En caso de ingestión exagerada detectada a tiempo se deberá proceder al lavado gástrico. Los síntomas de intoxicación se controlarán según criterio médico, de acuerdo al cuadro clínico.

1.3.6 Medidas de precaución y manejo

Medidas de precaución.

- Al contacto con los ojos provoca irritaciones que pueden durar hasta 24 horas, lavar inmediatamente con abundante agua, por lo menos 10 veces, asegurándose que no queden partículas sólidas en contacto con el ojo.
- Al inhalar provoca irritaciones en las vías respiratorias como tos, dispnea. Dependiendo de su concentración y del tiempo de exposición; aerear la atmósfera.
- Al contacto con la piel provoca inflamación notable, con eritema o edema. Inmediatamente enjuagar con abundante agua y eventualmente lavar las áreas del cuerpo que estuvieron en contacto con el tóxico, si persisten las molestias por más de 10-15 minutos, llevar con el médico.
- Al ingerir puede haber irritación digestiva, náusea, vómito, hipermotilidad interna, diarrea; enjuagar la boca con abundante agua, sin deglutir; no provocar el vómito. Se puede administrar carbón suspendido en agua o aceite medicinal de vaselina mineral.

Medidas de manejo

- Evitar el contacto y la inhalación de los polvos.
- Usar lentes de seguridad.
- Proteger el producto del contacto con el aire.
- No mezclar con fuertes oxidantes o peróxidos, bases.
- Guardar en recipientes de vidrio o polietileno

1.4 DESARROLLO FARMACÉUTICO

1.4.1 Definición

Conjunto de pasos y procedimientos, con el objeto de fabricar a nivel de producción una forma farmacéutica de calidad uniforme, que mantenga sus características físicas y químicas durante el tiempo que esté en el mercado y que sea biodisponible y segura.

La metodología propuesta para todo medicamento a desarrollar, consiste en los siguientes pasos:

1. Revisión bibliográfica.
2. Preformulación.
3. Optimización de la fórmula.
4. Realización de los lotes pilotos.

Cuadro 1. Diagrama de pasos para el desarrollo de un producto.



Después del desarrollo del medicamento, se somete a los lotes piloto a estabilidad acelerada con la finalidad de demostrar que el producto mantiene las características físicas, químicas, fisicoquímicas, microbiológicas y biológicas entre los límites especificados.

1.4.2 Revisión bibliográfica

Antes de comenzar cualquier trabajo de investigación en el laboratorio debe realizarse una búsqueda bibliográfica exhaustiva acerca del principio activo, el posible producto, proceso de fabricación, métodos de evaluación. Es importante analizar lo que otros han hecho anteriormente y tratar de ahondar más en el tema, ya que esto ahorra tiempo y recursos.

La industria farmacéutica no cuenta con el tiempo o los recursos necesarios para operar empíricamente con múltiples formulaciones en un programa de prueba de estabilidad y determinar de ese modo cual es la más estable.

1.4.3 Preformulación

Es la etapa del desarrollo en donde se caracterizan las propiedades físicas, químicas y mecánicas de un nuevo fármaco con el objeto de desarrollar formas

farmacéuticas estables, seguras y eficaces. En esta etapa, el trabajo experimental se centra en la solubilidad y estabilidad del principio activo. Los estudios típicos consisten en solubilidad con relación al pH, compatibilidad con los excipientes a utilizar en la formulación, ya que existe la posibilidad de que los excipientes puedan alterar la estabilidad del principio activo y por lo tanto deben seleccionarse adecuadamente.

Los estudios de interacción entre el principio activo y el excipiente se diseñan con el fin de determinar una lista de excipientes que pueden utilizarse de manera sistemática en las formas farmacéuticas finales.

Es muy importante un ensayo indicador de estabilidad. En esta etapa de evaluación de la estabilidad consistente en un proceso de selección preliminar, no es necesario conocer con exactitud la cantidad de sustancia degradada. Esta evaluación se basa en un efecto del todo o nada. El objetivo consiste en identificar los excipientes que no ejerzan ningún efecto sobre la estabilidad del componente activo. El método analítico de elección es la cromatografía líquida de alta resolución, pero el desarrollo del ensayo requiere demasiado tiempo y depende de la identificación de las impurezas sintéticas y de los productos de degradación; por lo que, se prefiere la cromatografía de capa delgada para determinar si la molécula del activo se degrada. Las muestras de la sustancia química generalmente son expuestas a distintas condiciones de luz, calor y humedad en presencia y en ausencia de oxígeno. Esta información es de suma importancia ya que se pretende estabilizar la molécula del activo en su forma farmacéutica. La sustancia química se coloca en frascos sellados, con humedad y

sin ella, y se almacena a temperaturas elevadas diversas que pueden variar en cierto grado entre los distintos laboratorios. La sensibilidad a la luz se mide por exposición de la superficie del compuesto a la luz. Las muestras se monitorean regularmente para detectar posibles cambios físicos.

1.4.4 Optimización de la fórmula

Una vez que ya se escogieron los excipientes a utilizar en la etapa de preformulación, se procede a fabricar lotes de regular tamaño en los que se varían los niveles de los excipientes dentro de los intervalos establecidos, con el fin de mejorar la calidad del producto y la cuantificación del producto. El objeto de optimizar la fórmula es obtener el menor número posible de excipientes y conseguir una concentración mínima efectiva, así se puede minimizar el costo del producto y las características de calidad.

1.4.5 Lote piloto

Ya que se tiene optimizada la fórmula, es decir ya que se tienen las concentraciones de los ingredientes de la fórmula, se procede a elaborar la fabricación del medicamento, por un procedimiento representativo y que simule aquel que será utilizado durante la producción rutinaria para su comercialización, esto se lleva a cabo, principalmente para:

Issel Jiménez Morgan

- Comprobar que el proceso de manufactura desarrollado en el laboratorio, puede reproducirse a una escala mayor.
- Descubrir operaciones que por diferentes razones sean inaplicables en la planta de fabricación.
- Conocer las posibles fallas y dificultades del proceso o de la fórmula, con la finalidad de corregirlas.
- Reducir los costos de producción sin alterar por ello la calidad del producto.

El laboratorio piloto debe probar que el producto desarrollado por el área de investigación puede ser producido a escala industrial, cumpliendo con respecto a las normas de calidad establecidas.

Estos lotes pilotos se someten a pruebas de estabilidad acelerada, principalmente para determinar o establecer la vida útil del medicamento, así como sus condiciones de almacenamiento.

1.5 ESTABILIDAD

El objetivo de los estudios de estabilidad es proveer evidencia documentada de cómo las características físicas, químicas, fisicoquímicas, microbiológicas y biológicas del medicamento, varían con el tiempo bajo la influencia de factores ambientales tales como la temperatura, la humedad y la luz; y establecer las condiciones de almacenamiento adecuadas y el período de caducidad (NOM 073).

La evaluación de la estabilidad de un producto farmacéutico se divide principalmente en los siguientes aspectos:

- Estudios químicos. Debe tener una seguridad química. Los componentes que forman parte de la preparación deben permanecer sin cambio químico alguno.
- Estudios físicos. El medicamento debe aparecer ante el consumidor fresco, elegante y profesional, sin importar el tiempo que hubiese permanecido en el anaquel. Si existe alguna modificación de las propiedades físicas, tales como el color o la turbidez, puede ocasionar que el paciente pierda confianza en el producto.
- Estudios biofarmacéuticos. Es decir que tenga una estabilidad terapéutica y toxicológica.

- Estudios microbiológicos. La esterilidad, o la resistencia a la invasión de microorganismos, debe permanecer sin cambios. Durante el almacenamiento, la eficacia de los preservativos o conservadores debe cambiar solamente dentro de límites especificados.

La estabilidad de medicamentos incluye no solo la durabilidad del ingrediente activo y los excipientes sino también la del producto final; este tiene que ser capaz de soportar las condiciones a las que podría estar expuesto, como calor, frío, luz, humedad, vibración durante el transporte, almacenamiento y uso.

Es necesario tener formas seguras de evaluar objetivamente la estabilidad de un producto, entre las cuales se incluyen el tener personal adiestrado, equipo apto y procedimientos aplicables. Un método indicativo de estabilidad debe poder determinar cuantitativamente el ingrediente activo en presencia de productos de descomposición u otros productos de reacción.

Los parámetros a evaluar en una solución oral, según la NOM 073-SSA1-1993, Estabilidad de medicamentos, son los siguientes:

- a) Características organolépticas. (color, olor, sabor, claridad)
- b) pH.
- c) La concentración del fármaco.
- d) Límites microbianos.

1.5.1 Esquema para determinar la estabilidad

Para iniciar los estudios de estabilidad es preciso conocer su pureza, ya que la descomposición de un fármaco, puede ser catalizada por impurezas. Y para ello es preciso conocer el método de preparación del fármaco. El esquema puede dividirse en dos partes.

- a) Exposición del activo a pruebas aceleradas para conocer su período de vida en las condiciones de almacenaje. El deterioro que sufre un producto al ser expuesto por un mes a 45°C es el mismo que sufre a 20°C en un año. Dos meses en esas condiciones equivalen al deterioro de dos años, y tres meses al de tres años.

- b) Exposición a condiciones más realistas durante un período más prolongado; en condiciones normales durante dos o tres años, para confirmar las conclusiones a las que se llegaron en los ensayos anteriores.

1.5.2 Factores que influyen en la estabilidad de los fármacos

Existen factores que influyen notablemente en el deterioro de los medicamentos, los cuales se mencionan a continuación:

- i. Temperatura. El aumento de la temperatura normalmente aumenta la velocidad de una reacción.
- ii. pH. La velocidad de degradación de algunos fármacos está estrechamente ligada al pH.
- iii. Luz. Las alteraciones fotoquímicas muchas veces se relacionan con la formación de otros compuestos o radicales libres que actúan para propagar la descomposición una vez instaurada.
- iv. Humedad. Esta descomposición afecta principalmente a compuestos que tienen una presentación sólida como comprimidos o tabletas.
- v. Oxígeno. La descomposición oxidativa es un tipo importante de reacción de degradación. Esta se relaciona directamente con el oxígeno atmosférico. El oxígeno es más soluble en el agua a temperaturas bajas, de manera que las reacciones dependientes del oxígeno a veces pueden desarrollarse con mayor rapidez a bajas temperaturas.

1.5.3 Estabilización de formulaciones

La mayoría de los fármacos son compuestos orgánicos de alta pureza que poseen una estabilidad interna que puede predecirse de su estructura química y sus propiedades físicas. La estabilidad interna cambia bajo ciertas condiciones ambientales; se puede establecer aproximadamente el tipo y extensión de este cambio. Las condiciones ambientales de almacenamiento de una formulación pueden controlarse fácilmente y se pueden monitorear los cambios en el almacenamiento de modo que desde el punto de vista de predicción de estabilidad, las condiciones de almacenamiento pueden ser conservadas.

Existen las siguientes posibilidades de estabilización:

- a) *Exclusión de oxígeno.* La condición para la preparación de soluciones libres de oxígeno, es la ausencia de éste en los solventes usados en la producción del medicamento y en la atmósfera en la que la solución se prepara. Sin embargo solo se puede llevar a cabo en inyectables unidosis; en cambio, la solución oral, requiere de abrir el frasco continuamente.

- b) *Incrementando el potencial redox disminuyendo el pH.* Esto generalmente puede hacerse ajustando el pH con la adición de ácidos, o amortiguadores.
- c) *Aplicación de antioxidantes.* Se basa en la capacidad de los antioxidantes de enlazarse al oxígeno; esto es particularmente necesario cuando el factor más importante en la estabilización es la captura de trazas de oxígeno.
- d) *Uso de agentes quelantes.* Los antioxidantes funcionan mejor en presencia de algunos compuestos sinérgicos (ácido cítrico, ácido tartárico, EDTA) cuyo papel principal es enmascarar los iones de metales pesados que catalizan los procesos de oxidación y contribuyen al ajuste del pH.

Se puede establecer una clasificación de los productos farmacéuticos con base en su estabilidad:

- *Preparaciones farmacéuticas estables.* No se detecta ningún cambio en muestras investigadas durante un largo período de tiempo. Esto ocurre raramente.
- *Preparaciones farmacéuticas adecuadamente estabilizadas.* No se detecta cambio en las muestras del estudio después de un período normal de tiempo en condiciones experimentales normales.

- *Preparaciones con cambio dentro de ciertos límites.* Estas formulaciones cambian dentro de límites especificados dentro de un período de tiempo dado.
- *Preparaciones inestables.* La preparación es inaceptable.

1.6 DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA VALORACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

El propósito del método analítico es cuantificar la potencia y la concentración del activo en el medicamento. Los medicamentos deben cumplir con las normas de calidad, por lo que es necesario desarrollar un método de análisis que sea específico para dicho activo y presentación farmacéutica.

Las consideraciones que se deben tomar para la elección del método analítico son las siguientes:

- Consistente con el nivel del analito.
- Disponibilidad de instrumentos y equipo.
- Rapidez en los resultados.
- Costo.
- Factores de seguridad.
- Respuesta lineal de la variable dependiente.
- Precisión en los resultados.
- Reproducibilidad de los resultados.
- Exactitud de los resultados.
- Especificidad.
- Tolerancia.

1.6.1 Métodos analíticos más comunes

En general, los métodos analíticos más útiles en la determinación de estabilidad son los siguientes:

- a) *Cromatografía*. Es un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil, gas o líquido y son retenidos selectivamente por una fase estacionaria que puede ser un líquido o un sólido. La cromatografía permite la separación de sustancias que se encuentran en una mezcla.

- b) *Espectrofotometría*. Consiste en la medida de la absorción, por las diferentes sustancias, de una radiación electromagnética de longitudes de onda situadas en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática. En algunos casos, la espectrofotometría puede hacerse más específica transformando compuestos con baja absorbancia UV, en derivados con mucha mayor absorbancia que el compuesto original por medio de una reacción colorida. Los espectros UV y visible de una sustancia, no tienen en general, un alto grado de especificidad. Sin embargo, son muy adecuados para las valoraciones cuantitativas y en el caso de muchas sustancias, constituyen un medio útil adicional de identificación.

- c) *Análisis volumétrico*. Es un término para métodos cuantitativos, en los cuales la cantidad de sustancia analizada se calcula a partir de la concentración conocida y de la cantidad medida (generalmente en volumen) de la solución reactiva (titulante), que se añade a la solución de la muestra hasta que la sustancia analizada se haya consumido en una reacción definida con dicho reactivo. Al proceso se le llama titulación.
- d) *Determinaciones de actividad biológica*. Se utiliza en el caso de antibióticos. Este método compara la respuesta de un microorganismo específico y sensible, frente a un estándar de actividad conocida y una muestra, bajo condiciones similares de ensayo.

1.7 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Es muy importante establecer la confiabilidad del método analítico, ya que es un elemento importante para construir la calidad del medicamento. Por lo que la validación de dicho método permite cumplir con esta finalidad; ya que es un proceso de evaluación, de aceptación de pruebas y resultados.

Según la NOM 073-SSA1-1993, Estabilidad de medicamentos, define como validación a la acción de probar que cualquier material, proceso, procedimiento, actividad, equipo o mecanismo empleado en la fabricación o control debe lograr los resultados para los cuales se destina.

La validación de un método analítico debe cumplir con las características de linealidad, exactitud, precisión, reproducibilidad, repetibilidad y especificidad.

- **Linealidad.** Es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado.
- **Exactitud.** Es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del

análisis de muestras a las que se les han adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

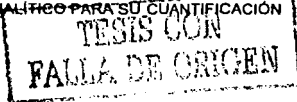
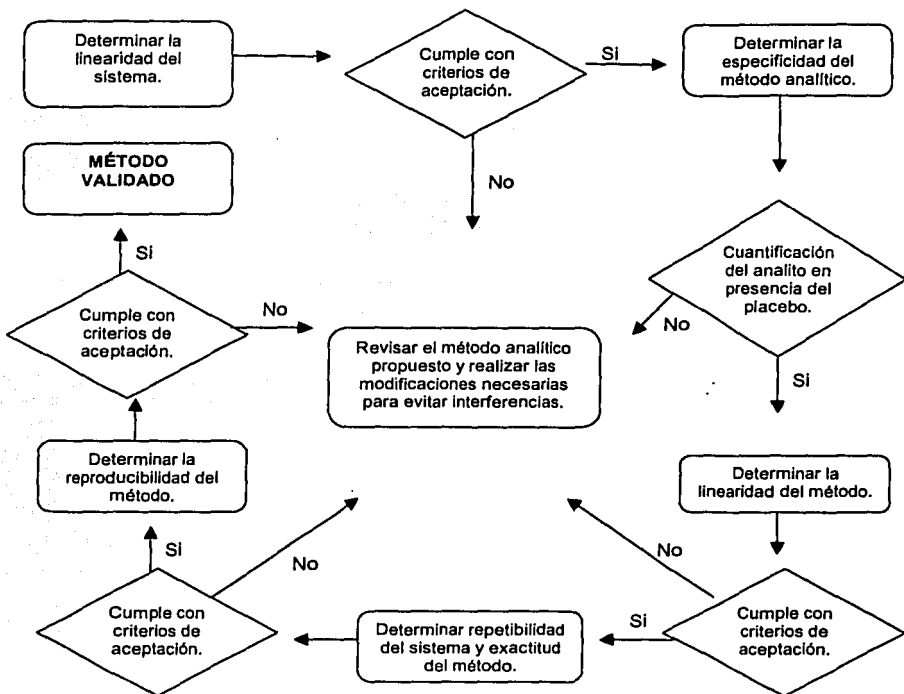
- **Precisión.** Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.
- **Reproducibilidad.** Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes (diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/o diferentes laboratorios utilizando el mismo y/o diferentes equipos).
- **Repetibilidad.** Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparato, laboratorio).
- **Especificidad.** Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

1.7.1 Parámetros a evaluar

- Linearidad del sistema.
- Precisión del sistema: Repetibilidad.
- Especificidad del método.
- Linearidad del método.
- Exactitud del método.
- Precisión del método: Repetibilidad.
- Precisión del método: Reproducibilidad.

1.7.2 Diagrama de flujo

Cuadro 2. Diagrama de pasos para la validación de un método analítico.



2.0 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 PREFORMULACIÓN

Material utilizado

Tubos de ensayo de diferentes tamaños con tapón.

Frascos de vidrio, color ámbar de diferentes tamaños.

Espátula cromo-níquel

Vasos de precipitados.

Lámpara de luz ultravioleta.

Luz natural.

Placas de gel de sílice.

Instrumentos utilizados

- Balanza analítica.

Tipo: Electrónica.

Marca: Ohaus.

Modelo: Explorer.

PARTE EXPERIMENTAL

PREFORMULACIÓN

Isael Jiménez Morgan

- Potenciómetro.

Marca: Fisher Cientific.

Modelo: Accumet-930

Serie: 2165.

- Espectrofotómetro.

Marca: Perkin-Elmer.

Modelo X-3 Lambda 3

Serie 69144

Longitudes de onda: UV 190 nm a 380 nm

Visible 380 nm a 780 nm

- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución

Columna XTerra™ MSC18, 3.5 µm, 4.6 mm x 100 mm.

Instrumento 1

Integrador: Waters. Tunable Absorbance. Millipore. Modelo 484.

Bomba: Isocrática. Waters. Millipore. Modelo 510.

Detector: Waters. Data Module Millipore. Modelo 746.

Instrumento 2

Integrador: Waters Millipore. Programa de computación Millenium 32 para WM.

Bomba: Isocrática. Waters Millipore. Modelo 1515

Detector: UV-Visible 2 canales. Waters Millipore. Modelo 2487

Equipos

Estufas de calentamiento a temperaturas de 30, 40 y 60°C.

Reactivos

Floroglucinol

Excipiente 1 (Antioxidante)

Excipiente 2 (Agente quelante)

Excipiente 3 (Estabilizador de pH)

Excipiente 4 (Conservador a)

Excipiente 5 (Conservador b)

Excipiente 6 (Cosolvente)

NaOH 1N

HCl 1N

H₂O desmineralizada

H₂O₂

Glicerol

Metanol

Hexano

2.1.2 Principio activo

2.1.2.1 Análisis de materia prima

La técnica se sigue de acuerdo a los métodos generales de análisis de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7ª Edición.

DESCRIPCIÓN. Polvo fino cristalino blanco o casi blanco. Inodoro, de sabor dulce.

SOLUBILIDAD. Soluble en agua 1 g/100 mL (20°C), soluble en metanol, éter, acetona, etanol.

ENSAYOS DE IDENTIDAD.

- A) *MGA 0351.* El espectro IR de una dispersión de la muestra en bromuro de potasio corresponde a la de una preparación similar de la Sref de floroglucinol.

- B) *MGA 0361.* El espectro UV de una solución de la muestra (80 µg/mL) en metanol, exhibe máximos y mínimos solamente a las mismas longitudes de onda, que las de una solución similar de la Sref de floroglucinol.

- C) Una solución formada por 100 mg de vainilla, 1 mL de agua, 1 mL de alcohol isopropílico y 6 mL de ácido clorhídrico concentrado, se torna naranja-rojizo en presencia de pequeñas cantidades de floroglucinol.
- D) Disolver 10 mg de la muestra en 20 mL de agua, adicionar 5 mL de SR de cloruro férrico. Se desarrolla un color violeta claro.
- E) Una solución acuosa (1:100) de la muestra produce un precipitado de color blanco con la SR de subacetato de plomo.
- F) Una solución acuosa (1:100) de la muestra cambia el color del papel tornasol, de azul a rojo.

TEMPERATURA DE FUSIÓN. MGA 0471.

117°C (si es dihidratado)

217-219°C (anhidro, en calentamiento rápido)

200-209°C (anhidro, en calentamiento lento)

AGUA. MGA 0041. No más de 1.0 por ciento.

VALORACIÓN**a) MGA 0361. Espectrofotométrica UV.**

Preparación de la muestra. En un matraz volumétrico de 50 mL, depositar 50 mg de la muestra, disolver y llevar a volumen con agua. Pasar 3 mL de esta solución a un segundo matraz volumétrico de 25 mL, llevar al aforo con agua y mezclar.

Preparación de la sustancia de referencia. Disolver una cantidad adecuada de la Sref de floroglucinol en agua para obtener una solución que contenga 80 µg/mL.

Determinar las absorbancias de las preparaciones en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorbancia de cerca de 267 nm, utilizando agua como blanco de ajuste. Calcular la cantidad en porcentaje de floroglucinol en la muestra, mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{Am}{Aref} \times \frac{Cref}{Cm} \times Pur Ref = \% Pureza$$

En donde, *Am* es la absorbancia de la muestra, *Aref* es la absorbancia de la Sref de floroglucinol en la preparación de referencia, *Cref* es la concentración en µg/mL de la preparación de referencia, *Cm* es la concentración teórica de la preparación de la muestra en µg/mL y *Pur Ref* es la pureza de la preparación de referencia.

Issel Jiménez Morgan

b) MGA 0241, Cromatografía de líquidos de alta resolución. CLAR.**Soporte** Columna L2.**Fase móvil** Preparar y filtrar una mezcla desgasificada de acetonitrilo-agua (2:8). Hacer los ajustes necesarios.**Preparación de referencia.** Disolver una cantidad adecuada de la Sref de floroglucinol en agua para obtener una solución que contenga 100 µg/mL.**Preparación de la muestra.** En un matraz volumétrico de 50 mL, depositar 50 mg de la muestra, disolver y llevar a volumen con agua. Pasar 1 mL de esta solución a un segundo matraz volumétrico de 10 mL, llevar al aforo con la fase móvil y mezclar.**Condiciones del equipo.** Detector de 267 nm; columna de 100 mm x 4.6 mm empacada con L2; velocidad de flujo 1 mL/min.**Procedimiento.** Filtrar con membrana de 0.45 µ e inyectar 10 µL de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos mayores. El tiempo de retención relativo es de 2.0. Calcular la cantidad en porcentaje de floroglucinol en la porción de la muestra tomada por la fórmula siguiente:

$$\frac{A_m}{A_{ref}} \times \frac{C_{ref}}{C_m} \times Pur\ Ref = \%Pureza$$

En donde, A_m es el área bajo el pico de la preparación de la muestra, A_{ref} es el área bajo el pico de la preparación de referencia, C_{ref} es la concentración en µg/mL de la preparación de la referencia, C_m es la concentración teórica de la preparación de la muestra en µg/mL y $Pur\ Ref$ es la pureza de la sustancia de referencia.

2.1.2.2 Selección del disolvente adecuado para la formulación tomando en cuenta su solubilidad

Se realizó la determinación de la solubilidad del principio activo con los siguientes disolventes:

- Agua
- Propilenglicol
- Glicerina
- Sorbitol

El vehículo más empleado para las soluciones es el agua desmineralizada.

El alcohol, a pesar de ser el segundo disolvente que se desea por elección, se eliminó su uso, ya que la solución oral se pretende sea destinada a la población infantil.

La glicerina interviene en soluciones formando parte del vehículo para mejorar la solubilidad de muchas sustancias; gracias al sabor dulce que posee, a su viscosidad y a su alta densidad, favorece su empleo en dichas preparaciones.

El propilenglicol, siendo de más fácil manejo ya que es menos viscoso que la glicerina, tiene un sabor menos agradable y es un eficaz disolvente en preparaciones de uso oral.

El sorbitol presenta demasiada estabilidad y facilita la absorción del principio activo, además de tener un sabor dulce.

Al ser muy difícil su solubilidad por la alta viscosidad de los disolventes se opto por algún cosolvente, y con tal de obtener la cantidad de disolvente a la mínima necesaria para la solución oral de floroglucinol se utilizaron los siguientes sistemas:

Tabla 1. Matriz de trabajo variando el porcentaje de cosolvente.

Porcentaje del cosolvente \ Tipo de cosolvente	10 %	20 %	30 %
Cosolvente 1	1	2	3
Cosolvente 2	4	5	6

Se observo que al 20% y 30% en los dos cosolventes se tenía buena solubilidad, además de ser transparentes y con buen fluido de la solución.

Al principio activo se le realizaron pruebas de estabilidad en solución con sus vehículos, utilizando los dos cosolventes.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.1.2.3 Estabilidad del principio activo

Se necesita tener una técnica analítica adecuada para la determinación de compuestos de degradación del principio activo, por ejemplo Cromatografía en capa fina, en este caso se utiliza ésta, debido a que presenta ventajas sobre otras técnicas tales como HPLC o cromatografía de gases.

Issel Jiménez Morgan

Se somete el principio activo durante 28 días a condiciones como las mencionadas en la siguiente tabla:

Tabla 2. Condiciones para determinar la estabilidad del activo.

ESTADO FÍSICO		CONDICIONES DE TEMPERATURA Y LUZ	USO DE AGENTES DESESTABILIZANTES
Sólido		Luz Natural, temperatura ambiente.	
		60°C, protegido de la luz.	
Líquido	En Agua	Temperatura ambiente y protegido de la luz.	Producto normal
			Con NaOH 1N
			Con HCl 1N
		60°C y protegido de la luz.	Con H ₂ O ₂
			Producto normal
			Con NaOH 1N
Temperatura ambiente expuesto a luz natural	Con HCl 1N		
	Producto normal		
	Con NaOH 1N		
Líquido	En Glicerol	Temperatura ambiente y protegido de la luz.	Producto normal
			Con NaOH 1N
			Con HCl 1N
			Con H ₂ O ₂
		60°C y protegido de la luz.	Producto normal
			Con NaOH 1N
			Con HCl 1N
			Con H ₂ O ₂
		A temperatura ambiente expuesto a la luz natural.	Producto normal
			Con NaOH 1N
			Con HCl 1N
			Con H ₂ O ₂

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Issel Jiménez Morgan

Continuación de la tabla 2...

ESTADO FÍSICO		CONDICIONES DE TEMPERATURA Y LUZ	USO DE AGENTES DESESTABILIZANTES
Líquido	En Propilenglicol	Temperatura Ambiente y protegido de la luz.	Producto normal
			Con NaOH 1N
			Con HCl 1N
		60°C y protegido de la luz.	Producto normal
			Con NaOH 1N
			Con HCl 1N
		A temperatura ambiente expuesto a la luz natural.	Con H ₂ O ₂
			Producto normal
			Con NaOH 1N
Líquido	En Cosolvente 1	Temperatura ambiente y protegido de la luz.	Producto normal
			Con NaOH 1N
			Con HCl 1N
		60°C y protegido de la luz.	Con H ₂ O ₂
			Producto normal
			Con NaOH 1N
	En Cosolvente 2	Temperatura Ambiente y protegido de la luz	Con HCl 1N
			Con H ₂ O ₂
			Producto normal
		60°C y protegido de la luz.	Con NaOH 1N
			Con HCl 1N
			Con H ₂ O ₂

2.1.2.4 Compatibilidad del principio activo con excipientes

En este estudio se pesaron 200 mg de floroglucinol y se colocaron en 100 mL del cosolvente (concentración que se pretende tenga la forma farmacéutica), y se sometieron a pruebas de estabilidad de la solución con los excipientes que se mencionan en la siguiente tabla.

Tabla 3. Excipientes que se sometieron a las pruebas de compatibilidad con el activo.

Excipientes
Antioxidante
Agente quelante
Estabilizador del pH
Conservador a
Conservador b
Cosolvente

Se siguió un programa de muestreo cada tercer día durante cuatro semanas, lo que se evaluó fueron los siguientes aspectos:

- Cambios físicos:
 - Color de la solución o del polvo.
 - Presencia de precipitados en la solución.

- Cambios químicos:
 - Tanto para la compatibilidad con excipientes como para la estabilidad del principio activo, se utilizó la técnica de cromatografía en capa fina para la separación del principio activo, excipientes y de algún producto de degradación, usando las siguientes fases:
 - La fase móvil: mezcla de hexano-metanol (1:1).
 - La fase estacionaria: gel de sílice.

Issei Jiménez Morgan

2.2 FORMULACIÓN

Floroglucinol	20.0 mg
Vehículo c.b.p.	1.0 mL

Se hicieron evaluaciones de prueba donde variaba la concentración de los excipientes.

Para la obtención de la cantidad de excipientes mínima necesaria para la solución oral de floroglucinol se utilizaron los siguientes sistemas de matrices:

Tabla 4. Matriz de trabajo, variando antioxidante y agente quelante.

Antioxidante \ Agente quelante	Antioxidante		
	0.01 %	0.05 %	0.1 %
0 %	1	2	3
0.01 %	4	5	6
0.05 %	7	8	9
0.1 %	10	11	12

La otra matriz de trabajo probada es la siguiente:

Tabla 5. Matriz de trabajo, variando los conservadores.

Conservador a \ Conservador b	Conservador a		
	0.015 %	0.10 %	0.2 %
0 %	1'	2'	3'
0.01 %	4'	5'	6'
0.015 %	7'	8'	9'
0.02 %	10'	11'	12'

En las formulaciones de prueba se evaluaron los siguientes aspectos:

- Solubilidad de todos los excipientes de la formulación en el vehículo.
- Claridad y color de la solución.
- pH de la solución resultante.
- Ciclado térmico. Consistió en exponer la solución obtenida a condiciones de 24 horas por 24 horas a 5°C y a temperatura ambiente. Mediante la cromatografía en capa fina se evaluó la estabilidad química de la solución resultante.

2.3 PRODUCTO FINAL

2.3.1 Análisis del producto terminado

La técnica se sigue de acuerdo a los métodos generales de análisis de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7ª Edición.

ASPECTO. La solución es transparente, incolora o ligeramente amarilla y libre de partículas extrañas.

VARIACIÓN DE VOLUMEN. *MGA 0981.* Cumple los requisitos.

pH. *MGA 0701.* Entre 4.5 - 7.5.

ENSAYOS DE IDENTIDAD.

- A) *MGA 0241, CLAR.* El cromatograma de la solución de la muestra presenta un tiempo de retención y un área relativa, similares al cromatograma de la solución de referencia, preparadas como se indica en la valoración.
- B) *MGA 0241,* Cromatografía en capa fina.
- Soporte.** Gel de sílice.
- Fase móvil.** Mezcla de hexano-metanol (1:1).

Preparación de referencia. Pesar una cantidad de la Sref equivalente a 10 mg de floroglucinol., pasar a un matraz volumétrico de 10 mL, disolver y llevar al aforo con metanol, mezclar. Esta solución contiene 1 mg/mL.

Preparación de la muestra. Pasar una alícuota de la muestra, equivalente a 20 mg de floroglucinol a un matraz volumétrico de 20 mL, llevar al aforo con metanol y mezclar.

Procedimiento. Aplicar a la cromatoplaça, en carriles separados, 10 µL de la preparación de referencia y 10 µL de la preparación de la muestra. Desarrollar el cromatograma dejando correr la fase móvil hasta $\frac{3}{4}$ partes arriba de la línea de aplicación. Retirar la cromatoplaça de la cámara, marcar el frente de la fase móvil, dejar evaporar el disolvente y observar bajo lámpara de luz ultravioleta. La mancha principal obtenida en el cromatograma con la preparación de la muestra debe corresponder en tamaño, color y Rf a la mancha obtenida con la preparación de referencia.

- C) Mezclar 1 mL de la muestra en 40 mL de agua, adicionar 5 mL de SR de cloruro férrico. Se desarrolla un color violeta claro.

- D) Una solución formada por 100 mg de vainilla, 1 mL de agua, 1 mL de alcohol isopropílico y 6 mL de ácido clorhídrico concentrado, se torna naranja-rojizo en presencia de pequeñas cantidades de floroglucinol

- E) Una mezcla de 5 mL de la muestra con 5 mL de agua produce un precipitado de color blanco con la SR de subacetato de plomo.

Issel Jiménez Morgan

VALORACIÓN. MGA 0241. *Cromatografía de líquidos de alta resolución. CLAR***Soporte.** Columna L2.**Fase móvil.** Preparar y filtrar una mezcla desgasificada de acetonitrilo-agua (2:8). Hacer los ajustes necesarios.**Preparación de referencia.** Disolver una cantidad adecuada de la Sref de floroglucinol en agua para obtener una solución que contenga 100 µg/mL.**Preparación de la muestra.** En un matraz volumétrico de 20 mL, depositar 1 mL (20 mg) de la muestra, disolver y llevar a volumen con agua. Pasar 1 mL de esta solución a un segundo matraz volumétrico de 10 mL, llevar al aforo con la fase móvil y mezclar.**Condiciones del equipo.** Detector de 267 nm; columna de 100 mm x 4.6 mm empacada con L2; velocidad de flujo 1 mL/min.**Procedimiento.** Filtrar con membrana de 0.45 µ e inyectar 10 µL de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos mayores. El tiempo de retención relativo es de 2.0.

Calcular la cantidad en porcentaje de floroglucinol en la porción de la muestra tomada por la fórmula siguiente:

$$\frac{A_m}{A_{ref}} \times \frac{C_{ref}}{C_m} \times Pur Ref = \% Pureza$$

En donde, A_m es el área bajo el pico de la preparación de la muestra, A_{ref} es el área bajo el pico de la preparación de referencia, C_{ref} es la concentración en µg/mL de la preparación de referencia, C_m es la concentración teórica de la preparación de la muestra en µg/mL y $Pur Ref$ es la pureza de la sustancia de referencia.

LÍMITES MICROBIANOS. MGA 0571. La muestra no contiene más de 100 UFC/mL de mesófilos aerobios, 10 UFC/mL de hongos y levaduras y libre de microorganismos patógenos.

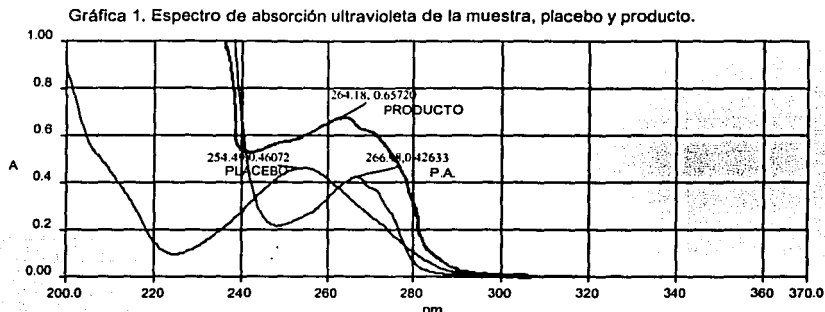
CALIBRACIÓN DEL GOTERO. Tomar como mínimo 10 goteros y vaciar cada uno en una probeta graduada seca con una capacidad que no exceda de 2.5 veces el volumen a medir, evitando la formación de burbujas y permitiendo el escurrimiento durante un tiempo no mayor de treinta minutos. Cuando hayan desaparecido las burbujas, medir el volumen. Cuantificar el número de gotas por mililitro.

2.4 DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO

2.4.1 Desarrollo del método analítico

El procedimiento se describió en el 2.3.1.

Al ser solamente un principio activo se pensó analizar primero por espectrofotometría UV, pero no tenía especificidad, el cual se demuestra en el siguiente espectro de absorción ultravioleta.



El principio activo tiene un máximo de absorbancia en 267 nm, el placebo a 254 nm y el producto terminado a 264 nm, por lo que no se puede comparar con una sustancia de referencia y por lo tanto no existe especificidad en el método.

Por lo que se tuvo que escoger un método que fuera igual de rápido, pero más confiable que pudiera separar perfectamente al principio activo de sus excipientes. La solución es la cromatografía de líquidos de alta resolución.

2.5 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

2.5.1 Reactivos, instrumentos y material

Equipo e instrumentos

Balanza Analítica
Cromatógrafo de líquidos de alta
resolución
Sonicador o Equipo para agitación
magnética

Reactivos

Sustancia de referencia de Floroglucinol
Agua
Acetonitrilo
Antioxidante
Agente quelante
Estabilizador de pH
Cosolvente
Conservador a
Conservador b

Material

1 Vaso de precipitados de 250 mL
4 Matraces de 100 mL
4 Pipetas de 1 mL
Espátula
Pera de succión
Piseta
Afrodiscos
Agitador magnético (si se desea)
Tubos de ensayo
Jeringas
1 Gradilla
Papel parafilm

2.5.2 Linealidad del sistema

Se realizaron 3 curvas estándar, utilizando Floroglucinol (sustancia de referencia), de acuerdo al método analítico descrito anteriormente. Para lo cual, se utilizaron 6 concentraciones diferentes en un rango de 50 a 200 $\mu\text{g/mL}$ (50% a 200%)

Cada concentración se preparó por triplicado. Se analizaron las muestras utilizando el método propuesto y se registraron los resultados. La linealidad del sistema se determinó graficando concentración de las muestras contra área.

Los parámetros estadísticos evaluados son: coeficiente de variación, de correlación, de determinación y falta de ajuste.

Estos parámetros nos permiten determinar si existe linealidad entre la concentración del analito y su respuesta (área), debido únicamente a éste intervalo estudiado.

3 CURVAS ESTANDAR

Sustancia de referencia: Floroglucinol

Concentraciones	Porcentaje
1.- 50 µg/mL	50 %
2.- 80 µg/mL	80 %
3.- 100 µg/mL	100 %
4.- 120 µg/mL	120 %
5.- 150 µg/mL	150 %
6.- 200 µg/mL	200 %

Criterios de aceptación:

- Coeficiente de determinación: $r^2 \geq 0.98$
- Coeficiente de regresión: $r \geq 0.99$
- Ordenada al origen: su valor debe ser estadísticamente igual a cero.
- Pendiente: su valor debe ser estadísticamente diferente de cero.
- Coeficiente de variación por nivel de concentración $\leq 2.0\%$

2.5.3 Precisión del sistema: Repetibilidad

La evaluación de este parámetro se realizó analizando por sextuplicado el nivel al 100% de la linealidad del sistema.

Este parámetro se evaluó por el mismo analista y bajo las mismas condiciones. Los criterios estadísticos evaluados son: media, desviación estándar y coeficiente de variación.

Criterio de aceptación:

- Los por cientos recuperados y los coeficientes de variación a cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad deben estar de acuerdo a la tabla 6.

2.5.4 Especificidad del método

Se analizó el placebo constituido por antioxidante, agente quelante, estabilizador de pH, conservador a, conservador b y cosolvente.

Se determinó la respuesta del placebo contra la sustancia de referencia al 100%.

Se trató de acuerdo al método analítico descrito en el punto 2.3.1 y se analizó en el cromatógrafo.

Criterio de aceptación:

- El placebo no debe interferir en la cuantificación del principio activo.

2.5.5 Linealidad del método

Se determinó preparando muestras de placebos, a los que se les adicionó una concentración conocida del activo. Se efectuaron 3 curvas a 6 diferentes concentraciones. Las concentraciones de las soluciones finales de los placebos cargados se encuentran dentro del intervalo de la linealidad del sistema, considerando a 100 µg/mL el punto central, como el 100%, contándose así el rango analizado de 60 – 200 µg/mL, equivalente a un intervalo de 60 – 200%.

Se registraron y tabularon las respuestas correspondientes a cada concentración de las muestras, considerando como valor "x" las concentraciones de la muestra cargada y valor "y" la respuesta obtenida (% de recobro).

Los parámetros estadísticos evaluados como criterios de aceptación son: el coeficiente de correlación, de determinación, la pendiente y la ordenada al origen. También se hizo un análisis de varianza para comprobar la linealidad.

Criterios de aceptación:

- Coeficiente de determinación: $r^2 \geq 0.98$
- Coeficiente de regresión: $r \geq 0.99$
- Ordenada al origen: su valor debe ser estadísticamente igual a cero.
- Pendiente: su valor debe ser estadísticamente igual a uno.
- Pendiente relativa P.R. = 0.98-1.02
- Coeficiente de variación por nivel de concentración $\leq 2.0\%$

2.5.6 Exactitud del método

Para evaluar este parámetro, se llevo a cabo el análisis de los placebos, a las muestras se les adicionó una concentración conocida de la sustancia de referencia de floroglucinol. La concentración final de estas preparaciones fue el 100% teórico. La preparación se realizó por sextuplicado de forma independiente y la cuantificación del analito se realizó interpolando la respuesta (áreas) en la curva estándar.

Dentro de los parámetros estadísticos evaluados se encuentran: la media, desviación estándar, coeficiente de variación, intervalo de confianza (100% de recobro) y la prueba de hipótesis nula y alterna.

Criterios de aceptación:

- Los por cientos recuperados y los coeficientes de variación a cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad debe estar de acuerdo a lo siguiente

Tabla 6. Especificaciones para el método cromatográfico.

Método	Promedio de recobro	C.V.
Cromatográfico	98% -102%	≤2.0%

- La media debe ser estadísticamente igual al 100% de recobro.

2.5.7 Precisión del método: Repetibilidad

La evaluación de este parámetro se realizó analizando por sextuplicado el nivel al 100% de la linealidad del método.

Este parámetro se evaluó por el mismo analista y bajo las mismas condiciones. Los criterios estadísticos evaluados son: media, desviación estándar y coeficiente de variación.

Criterio de aceptación:

- Los por cientos recuperados y los coeficientes de variación a cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad deben estar de acuerdo a la tabla 6.

2.5.8 Precisión del método: Reproducibilidad

Para evaluar la reproducibilidad del método, el trabajo se efectuó en dos días diferentes, por dos analistas independientes, bajo las mismas condiciones (método, equipo, reactivos) se utilizaron muestras de producto terminado y se analizaron por triplicado.

Los parámetros estadísticos calculados fueron; la media, desviación estándar, coeficiente de variación y análisis de varianza para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados causados por las variables en estudio así como por la interacción entre ellas.

Criterio de aceptación:

- Los por cientos recuperados y los coeficientes de variación a cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad deben estar de acuerdo a la tabla 6.

2.6 ESTABILIDAD ACELERADA

Para registro de un medicamento o modificaciones a las condiciones de registro. Se deben llevar a cabo en tres lotes piloto o de producción con la formulación y el material de envase sometidos a registro, de acuerdo al siguiente cuadro:

Condiciones de almacenamiento:	Análisis:
40°C a humedad ambiente para formas farmacéuticas líquidas y semisólidas.	30, 60 y 90 días.

Para fines de registro de un medicamento con fármacos nuevos en México, el fabricante del medicamento debe presentar ante la Secretaría de Salud estudios de estabilidad acelerada y/o a largo plazo de tres lotes del (los) fármaco(s) efectuados por el fabricante de los mismos, utilizando métodos analíticos validados.

Los parámetros a evaluar en soluciones y suspensiones son la concentración del fármaco, características organolépticas, pH, límites microbianos, y cuando proceda: resuspendibilidad (en suspensiones), pérdida de peso (envase de plástico), prueba de eficacia de conservadores y/o valoración de los mismos, esterilidad, materia particulada y pruebas de irritabilidad ocular o en piel, éstas se deben llevar a cabo en análisis inicial y final. Todos los estudios deben llevarse a cabo en muestras en contacto con el tapón para determinar si existe alguna interacción, que afecte la estabilidad del producto.

3.0 RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 ESTUDIOS DE PREFORMULACION

3.1.1 Análisis de materia prima

La técnica analítica se describe en el punto 2.1.2.1

Tabla 7. Resultados de análisis de materia prima

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
<i>DESCRIPCIÓN</i>	Polvo fino cristalino blanco o casi blanco. Inodoro, de sabor dulce.	Conforme
<i>SOLUBILIDAD</i>	Soluble en agua 1 g/100 mL (20°C), soluble en metanol, éter, acetona, etanol.	Conforme
<i>IDENTIDAD</i>	Positivas	B) y D) Positivas
<i>TEMPERATURA DE FUSIÓN</i>	200°C - 219°C.	218°C
<i>AGUA</i>	Máximo 1.0 %.	0.79%
<i>VALORACIÓN</i>	98% - 102%	99.3%

3.1.2 Solubilidad

Se pesaron 2 g del principio activo y se trataron de disolver en 100 mL.

Tabla 8. Resultados de solubilidad del principio activo.

Disolvente	Solubilidad
Agua	**
Propilenglicol	***
Glicerol	***
Sorbitol	*

- * Muy ligeramente soluble
- ** Poco soluble
- *** Soluble

Al utilizar un cosolvente se tenía una mejor solubilidad, como se comprobó en la tabla 1, donde se observa que al 20% y 30%, los dos cosolventes presentan una solución transparente y con buena fluidez.

3.1.3 Estabilidad del principio activo

3.1.3.1 Estabilidad en estado sólido

Se siguió un programa de muestreo cada tercer día durante cuatro semanas del principio activo disuelto y tratado según la tabla 2.

Tabla 9. Resultados de la estabilidad del principio activo.

ESTADO FÍSICO	CONDICIONES	DETERMINACIÓN	RESULTADOS			
			SEMANA			
			1	2	3	4
Principio activo Sólido	Luz Natural	Física	S/C	S/C	S/C	S/C
		Cromatográfica	S/C	S/C	S/C	S/C
	60°C	Física	S/C	S/C	S/C	S/C
		Cromatográfica	S/C	S/C	S/C	S/C

S/C sin cambio

A las muestras mencionadas en la tabla 9, después de 28 días, se les realizó la valoración espectrofotométricamente, y se compararon con una preparación de referencia, la pureza que se obtuvo se demuestra en la siguiente tabla:

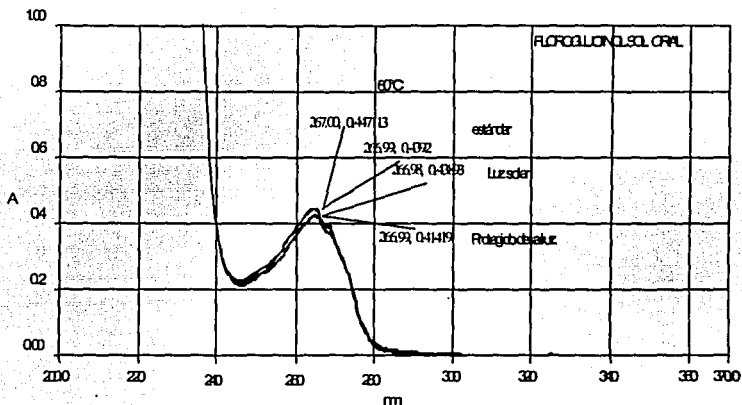
Tabla 10. Resultados de la estabilidad del principio activo determinados por espectrofotometría UV.

Materia	Absorbancia	% pureza
Sólido a temperatura ambiente	0.4389	99.93
Sólido expuesto a la luz solar	0.4142	94.31
Sólido expuesto a 60°C	0.4471	101.8
Sustancia de referencia	0.4392	99.6

Issel Jiménez Morgan

La siguiente gráfica muestra los espectros de absorción UV-Visible de las muestras mencionadas en las tablas 9 y 10, al compararse con una sustancia de referencia de floroglucinol.

Gráfica 2. Espectro de absorción del activo evaluado a pruebas de estabilidad en estado sólido.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Isael Jiménez Morgan

3.1.3.2 Estabilidad en estado líquido

Se siguió un programa de muestreo cada tercer día durante cuatro semanas del principio activo disuelto y tratado según la tabla 2.

Se obtuvieron los siguientes resultados de estabilidad del principio activo:

En agua

Tabla 11. Resultados de estabilidad del activo en solución con agua en condiciones normales.

ESTADO FÍSICO	CONDICIONES DE TEMPERATURA Y LUZ	DETERMINACIÓN	RESULTADOS SEMANA				
			Inicial	1	2	3	4
En Agua	Temperatura ambiente y protegido de la luz	física	S/C pp	S/C pp	S/C pp	S/C pp	S/C pp
		cromatográfica	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
	60°C, protegido de la luz	física	S/C	CDC	CDC	CDC	CDC
		cromatográfica	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
	A temperatura ambiente expuesto a la luz natural	física	S/C	CDC	CDC	CDC	CDC
		cromatográfica	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C

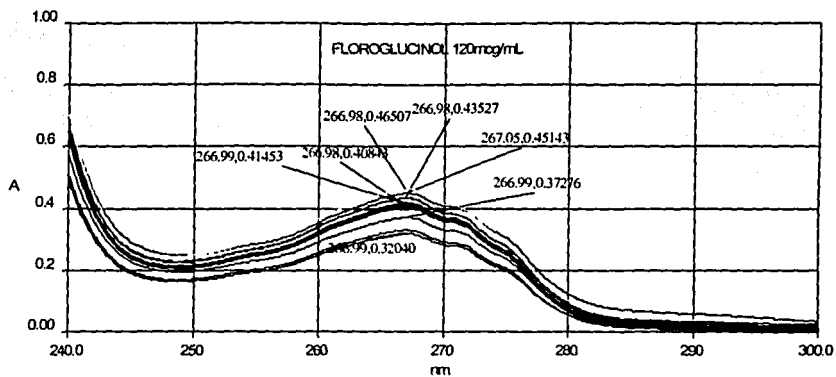
CDC Cambio de color

S/C Sin cambio

S/C pp Sin cambio de color con precipitado

Isael Jiménez Morgan

Gráfica 3. Espectro de absorción del activo evaluado a pruebas de estabilidad en estado líquido.



Issei Jiménez Morgan

En glicerol

Tabla 12. Resultados de estabilidad del activo en solución con glicerol.

CONDICIONES DE TEMPERATURA Y LUZ		DETERMINACIÓN	RESULTADOS SEMANA							
			1		2		3		4	
			pH		pH		pH		pH	
Temp ambiente, protegido de la luz.	Producto normal	física	S/C	6.59	S/C	6.40	CDC	6.10	CDC	6.28
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C			
	Con NaOH 1 N	física	CDC	9.36	CDC	9.38	CDC	9.35	CDC	9.28
		cromatográfica	S/C		CRf		CRf			
	Con HCl 1N	física	CDC	0.28	CDC	0.32	CDC	0.35	CDC	0.34
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C			
	Con H ₂ O ₂	física	S/C	4.42	S/C	3.82	S/C	3.50	S/C	3.48
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C			
60°C, protegido de la luz.	Producto normal	física	CDC	6.59	CDC	6.40	CDC	6.10	CDC	6.36
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C			
	Con NaOH 1 N	física	CDC	9.36	CDC	9.08	CDC	9.01	CDC	9.16
		cromatográfica	CRf		CRf		CRf			
	Con HCl 1N	física	CDC	0.28	CDC	0.62	CDC	0.55	CDC	0.24
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C			
Temp. ambiente, expuesto a la luz natural	Producto normal	física	CDC	6.58	CDC	6.40	CDC	6.11	CDC	6.27
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C			
	Con NaOH 1N	física	CDC	9.35	CDC	9.37	CDC	9.30	CDC	9.25
		cromatográfica	CRf		CRf		CRf			
	Con HCl 1N	física	CDC	0.28	CDC	0.32	CDC	0.30	CDC	0.28
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C			

- CDC Cambio de color
- S/C Sin cambio
- S/C pp Sin cambio con precipitado
- CRf Cambio de Rf

Isael Jiménez Morgan

En propilenglicol

Tabla 13. Resultados de estabilidad del activo en solución con propilenglicol.

CONDICIONES DE TEMPERATURA Y LUZ		DETERMINACIÓN	RESULTADOS SEMANA							
			1		2		3		4	
			pH		pH		pH		pH	
Temp ambiente, protegido de la luz.	Producto normal	física	S/C	6.45	S/C	6.32	S/C	6.20	S/C	6.09
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
	Con NaOH 1 N	física	CDC	8.51	CD	8.53	CDC	8.53	CDC	8.47
		cromatográfica	S/C		CRf		CRf		CRf	
	Con HCl 1N	física	S/C	1.77	S/C	1.78	S/C	1.85	S/C	1.81
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
	Con H ₂ O ₂	física	S/C	3.34	S/C	3.23	S/C	3.24	S/C	3.28
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
60°C, protegido de la luz.	Producto normal	física	CDC	6.45	CDC	6.35	CDC	6.36	CDC	6.27
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
	Con NaOH 1N	física	CDC	8.51	CDC	8.53	CDC	8.54	CDC	8.57
		cromatográfica	CRf		CRf		CRf		CRf	
	Con HCl 1N	física	CDC	1.77		1.45	CDC	1.48	CDC	1.48
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
Temp. Amb. Luz Natural	Producto normal	física	CDC	6.45	CDC	6.32	CDC	6.20	CDC	6.09
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	

CDC Cambio de color

S/C Sin cambio

S/C pp Sin cambio con precipitado

CRf Cambio de Rf

Issel Jiménez Morgan

En cosolvente 1

Tabla 14. Resultados de estabilidad del activo en solución con cosolvente 1.

CONDICIONES DE TEMPERATURA Y LUZ		DETERMINACIÓN	RESULTADOS SEMANA							
			1		2		3		4	
			pH		pH		pH		pH	
Temp ambiente, protegido de la luz.	Producto normal	física	S/C	4.89	S/C	4.51	CDC	4.50	CDC	4.30
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
	Con NaOH 1 N	física	CDC	8.82	CDC	8.94	CDC	8.83	CDC	8.83
		cromatográfica	S/C		CRf		CRf		CRf	
	Con HCl 1N	física	S/C	1.67	CDC	1.74	CDC	1.64	CDC	1.67
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
	Con H ₂ O ₂	física	S/C	8.82	S/C	8.78	CDC	8.85	CDC	8.95
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
60°C, protegido de la luz.	Producto normal	física	CDC	4.89	CDC	4.85	CDC	4.92	CDC	4.96
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
	Con NaOH 1 N	física	CDC	8.82	CDC	8.91	CDC	9.72	CDC	9.62
		cromatográfica	CRf		CRf		CRf		CRf	
	Con HCl 1N	física	CDC	1.67	CDC	1.01	CDC	1.01	CDC	0.50
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	

- CDC Cambio de color
- S/C Sin cambio
- S/C pp Sin cambio con precipitado
- CRf Cambio de Rf

Isael Jiménez Morgan

En cosolvente 2

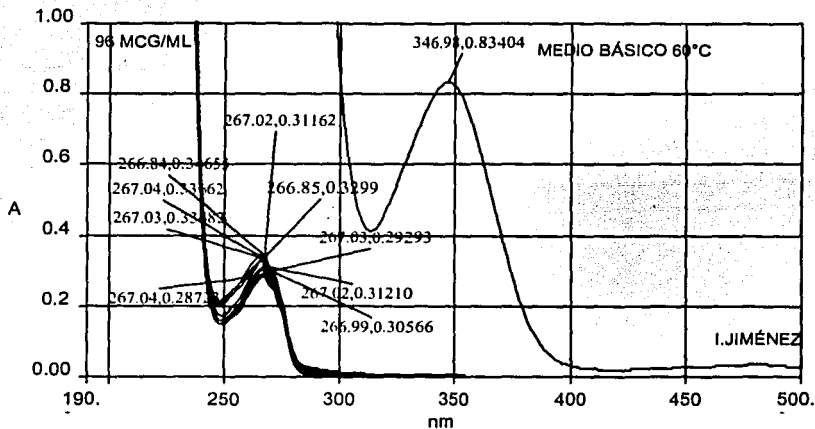
Tabla 15. Resultados de estabilidad del activo en solución con cosolvente 2.

CONDICIONES DE TEMPERATURA Y LUZ		DETERMINACIÓN	RESULTADOS SEMANA							
			1		2		3		4	
				pH		pH		pH		pH
Temp ambiente, protegido de la luz.	Producto normal	física	S/C	5.35	CDC	4.84	CDC	4.86	CDC	4.24
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C			
	Con NaOH 1 N	física	S/C	7.82	CDC	7.85	CDC	7.84	CDC	7.60
		cromatográfica	S/C		CRf		CRf		CRf	
	Con HCl 1N	física	CDC	1.65	CDC	1.83	CDC	1.85	CDC	1.70
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
	Con H ₂ O ₂	física	S/C	4.42	S/C	3.82	CDC	3.95	CDC	3.50
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
60°C, protegido de la luz.	Producto normal	física	CDC	5.35	CDC	4.84	CDC	4.86	CDC	4.24
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	
	Con NaOH 1N	física	CDC	7.83	CDC	7.84	CDC	7.83	CDC	7.59
		cromatográfica	S/C		CRf		CRf		CRf	
	Con HCl 1N	física	CDC	1.64	CDC	1.83	CDC	1.85	CDC	1.70
		cromatográfica	S/C		S/C		S/C		S/C	

- CDC Cambio de color
- S/C Sin cambio
- S/C pp Sin cambio con precipitado
- CRf Cambio de Rf

Con los resultados obtenidos en las tablas 12 – 15, se realizó el espectro de absorción UV de algunas muestras que se sospechaban se estaban degradando y con este se confirmó la degradación del activo a pH básico. Por el valor de Rf en la cromatografía vemos que los pH's alcalinos afectan tanto a temperatura ambiente como a 60°C.

Gráfica 4. Espectro de absorción del activo evaluado en las pruebas de estabilidad a diferentes pH's.



3.1.4 Compatibilidad del principio activo con los excipientes

Al colocarse el principio activo con los excipientes no mostró ninguna incompatibilidad, al contrario le dio más estabilidad, los estudios que se llevaron a cabo para conocer la compatibilidad con los excipientes se muestran a continuación:

Tabla 16. Excipientes que se utilizaron para estudiar compatibilidad con el activo.

Activo	Excipiente a (Antioxidante)
	Excipiente b (Agente quelante)
	Excipiente c (Estabilizador de pH)
	Excipiente d (Conservador a)
	Excipiente e (Conservador b)
	Excipiente f (Cosolvente)

Si existe alguna interacción significativa se busca un excipiente alternativo, si no existe interacción es el excipiente recomendado.

3.2 FORMULACIÓN

Para la obtención de la cantidad de excipientes mínima necesaria para la solución oral de floroglucinol, se evaluaron los resultados que se consiguieron en la preformulación, basándose en los estudios que se mencionaron en las tablas 4 y 5.

En las formulaciones de prueba se evaluaron los siguientes aspectos:

- Solubilidad de todos los excipientes de la formulación en el vehículo.
- Claridad y color de la solución.
- pH de la solución resultante.

Tabla 17. Resultados de la matriz de trabajo, variación de antioxidante y agente quelante.

Antioxidante / Agente quelante	Antioxidante		
	0.01 %	0.05 %	0.1 %
0 %	x	x	✓
0.01 %	x	x	✓
0.05 %	x	✓	✓
0.1 %	x	✓	✓

✓ Satisfactorio

x No satisfactorio

El principio activo cambia el color de la solución en la que se encuentra disuelto; por lo que al agregar el antioxidante, la solución debe permanecer clara. Para la determinación de los resultados que se llevaron a cabo en este análisis se realizó solamente inspección visual.

Issel Jiménez Morgan

La otra matriz de trabajo probada es la siguiente:

Tabla 18. Resultados de la matriz de trabajo, variando conservadores.

Conservador a \ Conservador b	Conservador a		
	0.015 %	0.10 %	0.2 %
0 %	x	x	✓
0.01 %	x	✓	✓
0.015 %	✓	✓	✓
0.02 %	✓	✓	✓

✓ Satisfactorio

x No satisfactorio

Para la determinación de los resultados que se llevaron a cabo en este análisis se realizó la prueba de límites microbianos, siguiendo el *MGA 0571*, método general de análisis según la *FEUM 7ª* edición.

A la solución, por tener conservadores, se le agrego un polisorbato 80 a una concentración de 5%, para inactivar la acción de los conservadores, y así permitir el crecimiento de los microorganismos en el análisis.

Se realizaron las siguientes pruebas para la cuantificación de microorganismos:

- Mesófilos aerobios. Se llevo a cabo sin ninguna dilución porque su cuantificación se pudo realizar directamente, en caso de que esto no hubiera ocurrido se utiliza como disolvente la solución diluida de fosfatos pH 7.2. El medio de cultivo que se uso fue el agar soya tripticaseína, con un tiempo de incubación de 24 horas y a una temperatura de 35°C.
- Hongos y levaduras. Utilizando el agar dextrosa Sabouraud, con un tiempo de incubación de 72 horas y una temperatura de $22.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$.
- Patógenos. Utilizando caldo lactosado, con un tiempo de incubación de 18-24 horas y una temperatura de 35°C. Se resiembr a un mililitro en cada uno de los caldos de selenito-cisteina y tetrionato, para la posible cuantificación de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp., respectivamente. Se hacen estas pruebas por ser una solución oral.

Criterios de aceptación:

- Menos de 100 UFC de mesófilos aerobios por mililitro de solución.
- Menos de 10 UFC de hongos y levaduras por mililitro de solución.
- Ausencia de patógenos.

3.2.1 Formulación final

La solución oral de floroglucinol quedo de la siguiente manera:

INGREDIENTE

Floroglucinol

Antioxidante

Agente quelante

Conservador a

Conservador b

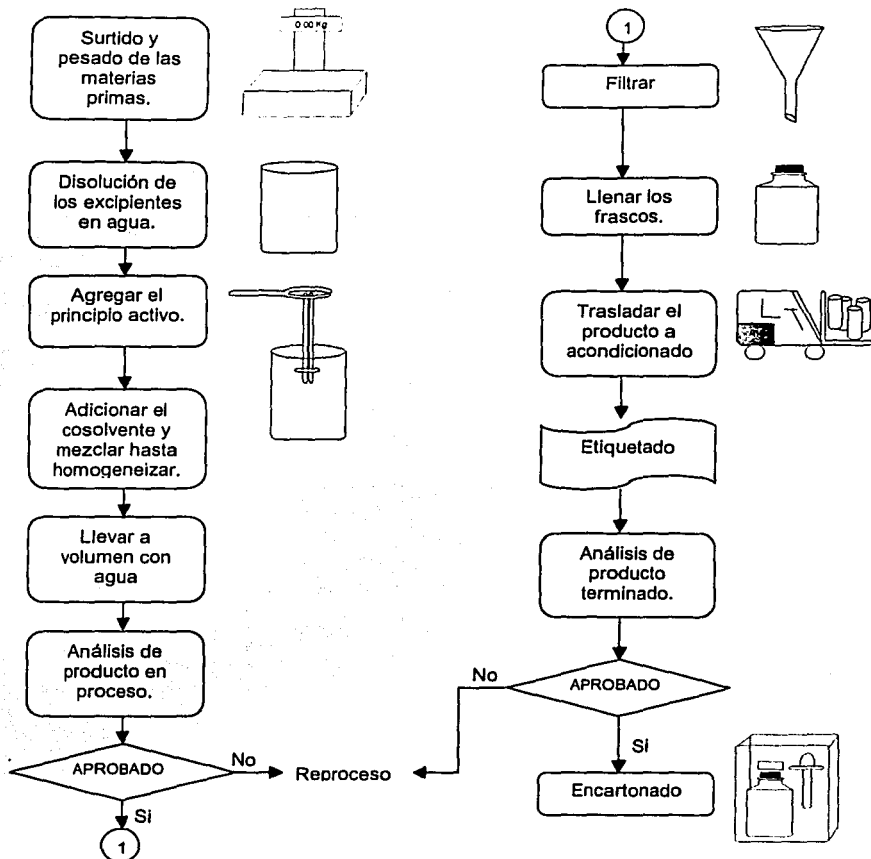
Estabilizador del pH

Cosolvente

Vehículo

3.2.2 Metodología del proceso para la fabricación de la solución oral

Cuadro 3. Proceso de manufactura.



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

3.2.2.1 Escalamiento del proceso

Los equipos que se utilizaron para el escalamiento del proceso fueron los siguientes:

- Llenadora de soluciones
 - Marca DE VECCHI
 - Capacidad teórica 30 gpes por minuto

- Homogenizador
 - Marca SILVERSON
 - Modelo Bx
 - No de serie 2CM0607
 - Capacidad teórica 2850rpm

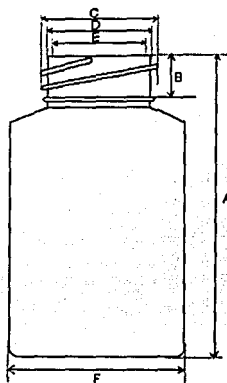
- Marmita con chaqueta
 - Marca INTERTECNICA
 - Modelo MEF40
 - No de serie 767
 - Capacidad teórica 165 L

- Tanque con agitador
 - Capacidad teórica 500 L

Issel Jiménez Morgan

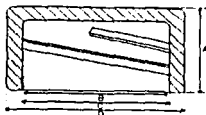
- Tanque contenedor de líquidos
 - Capacidad teórica 200 L

- Molino coloidal
 - Marca REMSA
 - Modelo 182TDTCCV
 - No de serie 14
 - Capacidad teórica 4 Kg de tolva

3.2.2.2 Tipo de envase, tapa y gotero**ENVASE**

- A) Altura total.
- B) Altura de la rosca.
- C) Diámetro externo de la boquilla con rosca.
- D) Diámetro externo de la boquilla sin rosca.
- E) Diámetro interno de la boquilla.
- F) Diámetro del cuerpo.

Determinaciones	Especificaciones
<i>Descripción.</i>	Envase cilíndrico de base plana de PVC, corona de No. 22 con capacidad de uso de 60 cm ³ al cuello y 74.8 – 82 cm ³ al derrame.
<i>Aspecto.</i>	Ningún frasco debe encontrarse deforme, perforado, roto, con rebabas, con burbujas de aire o material extraño estratificado en las paredes.
<i>Color.</i>	Ámbar translucido.
<i>Dimensiones</i>	A) 86.20 – 87.98 mm B) 9.45 – 10.22 mm C) 21.49 – 21.89 mm D) 19.35 – 19.76 mm E) Mínimo 15.30 mm F) 37.62 – 39.14 mm

TAPA

- A) Altura.
- B) Diámetro interno con rosca.
- C) Diámetro interno sin rosca.
- D) Diámetro externo.

Determinaciones**Especificaciones****Descripción**

Tapa inviolable de polietileno de baja densidad para corona No. 31K.

Aspecto

Ninguna tapa debe encontrarse sucia, deforme, perforada, rota o con rebabas.

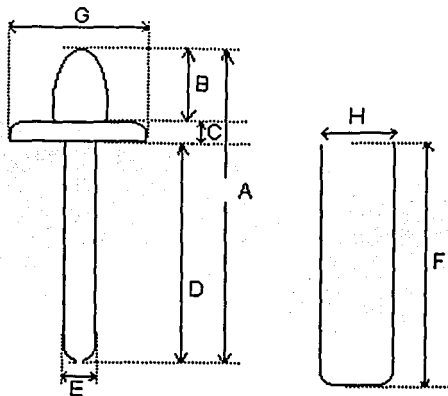
Color

Blanco opaco.

Dimensiones

- A) 10.96 – 11.83 mm
- B) 19.74 – 20.50 mm
- C) 21.92 – 22.53 mm
- D) 24.65 – 25.45 mm

Issel Jiménez Morgan

GOTERO

- A) Altura total.
- B) Altura de la bombilla.
- C) Altura de la rosca.
- D) Altura del cuerpo.
- E) Diámetro del cuerpo.
- F) Altura de la tapa del gotero.
- G) Diámetro de la rosca.
- H) Diámetro de la tapa de la rosca.

Determinaciones	Especificaciones
<i>Descripción</i>	Gotero de polietileno de baja densidad.
<i>Aspecto</i>	Ningún gotero debe encontrarse sucio, deforme, perforado, roto o con rebabas.
<i>Color</i>	Blanco opaco.
<i>Dimensiones</i>	A) 90 – 93 mm B) 22 – 25 mm C) 11 – 12 mm D) 78 – 83 mm E) 6 – 7 mm F) 65 – 67 mm G) 24 – 26 mm H) 22 – 23 mm

3.3 RESULTADOS DE PRODUCTO TERMINADO

FLOROGLUCINOL EN SOLUCIÓN ORAL PEDIATRICA.

La técnica analítica se describe en el punto 2.3.1

Tabla 19. Resultados de producto terminado.

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
<i>ASPECTO</i>	La solución es transparente, incolora o ligeramente amarilla, no contiene partículas extrañas	Conforme
<i>VARIACIÓN DE VOLUMEN</i>	Cumple requerimientos	Cumple
<i>IDENTIDAD</i>	A) Positiva	A) Positiva
<i>pH</i>	4.5 - 7.5	6.01
<i>VALORACIÓN</i>	90% - 110%	100.4 %
<i>LÍMITES MICROBIANOS</i>	Menos de 100 UFC/mL mesófilos aerobios, menos de 10 UFC/mL hongos y levaduras, ausencia de microorganismos patógenos	Cumple
<i>CALIBRACIÓN DEL GOTERO</i>	Cumple requerimientos	Cumple

3.4 DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO

Como se menciona en el punto 2.4.1 se optó por la cromatografía de líquidos de alta resolución, ya que el método espectrofotométrico carecía de especificidad.

Se probaron varias fases móviles con la finalidad de obtener una, que separará adecuadamente el principio activo de sus excipientes.

Se variaron las concentraciones de los solventes y se mezclaron, la que dio mejores resultados fue acetonitrilo al 20%.

El método analítico se describió en el punto 2.3.1, en análisis de producto terminado.

3.5 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

3.5.1 Linealidad del sistema

Tabla 20 Linealidad del sistema Floroglucinol.

Concentración Floroglucinol $\mu\text{g/mL}$	Nivel %	Réplicas	Áreas	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variabilidad %
50	50	1	220680	216680	3986.07	1.84
		2	216652			
		3	212708			
80	80	1	320656	315655.3	4336.24	1.37
		2	312936			
		3	313374			
100	100	1	408442	403617	4893.9	1.21
		2	403752			
		3	398657			
120	120	1	485576	477542.33	7231.84	1.51
		2	475499			
		3	471552			
150	150	1	607873	599075.3	7762.85	1.30
		2	593189			
		3	596164			
200	200	1	810492	804133.3	5711.37	0.71
		2	799439			
		3	802469			

Resultados obtenidos en 3 curvas de calibración para evaluar la relación entre la concentración de Floroglucinol ($\mu\text{g/mL}$) y las áreas de los picos.

Issel Jiménez Morgan

Tabla 21. Resultados y criterio de aceptación de la linealidad del sistema.

Resultados	Criterio de aceptación
$r = 0.9991$	$r \geq 0.99$
$r^2 = 0.9982$	$r^2 \geq 0.98$
$b = 3949.94$	
$a = 8624.50$	

RECTA DE REGRESIÓN

$$y = mx + b$$

$$y = 3949.93x + 8625$$

$$\text{Área} = 3949.93 (\text{Concentración}) + 8625$$

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Área} - 8624.50}{3949.94}$$

$$3949.94$$

Capacidad predictiva del modelo empírico

Tabla 22. Predicción del modelo empírico.

Concentración $\mu\text{g/mL}$	Área
50	206121.5
80	324619.4
100	403618
120	482616.6
150	601114.4
200	798610.9

Issel Jiménez Morgan

Intervalo de confianza para b

$$P(3949.54 < \beta < 3950.34) = 95\%$$

Prueba de hipótesis para b

$$H_0 : b = 0$$

$$H_a : b \neq 0$$

$$t_{\text{exp}} = 17173.64 > t_{\text{tablas}} = 1.746$$

$$t_{\text{tablas}} \text{ n-2, 95\%}$$

Por lo tanto la pendiente no se debe al azar.

Intervalo de confianza para a

$$P(-1662.54 < \alpha < 18911.55) = 95\%$$

Prueba de hipótesis para a

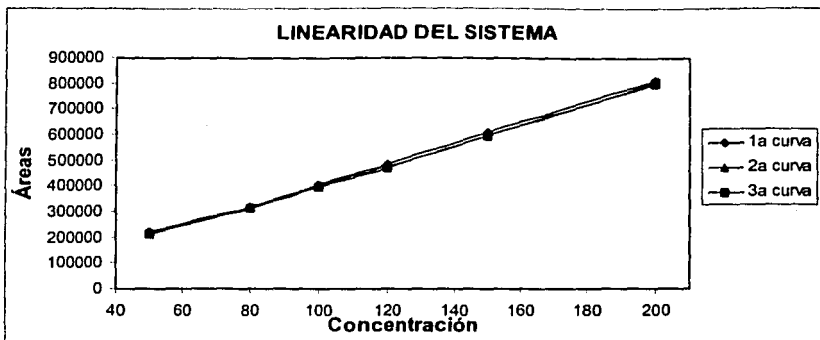
$$H_0 : a = 0$$

$$H_a : a \neq 0$$

$$t_{\text{exp}} = 1.46 < t_{\text{tablas}} = 1.746$$

Por lo tanto el intercepto en "y" no difiere significativamente de cero.

Gráfica 5. Linealidad del sistema de la validación del método analítico.



Gráfica 6. Descripción gráfica del modelo empírico utilizando el programa de validación CAFET.

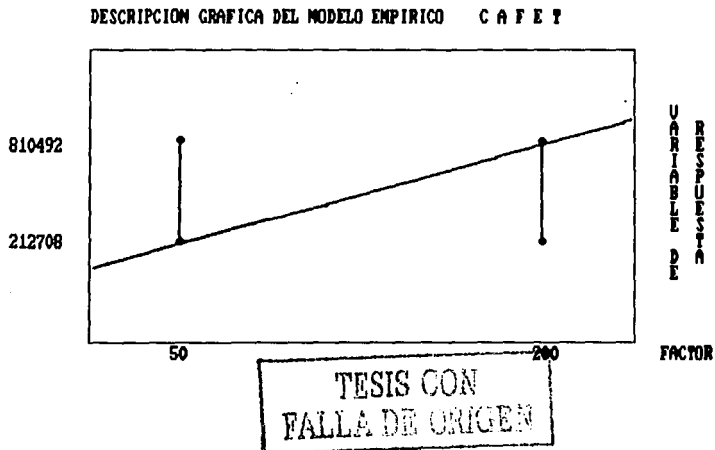


Tabla 23. Comprobación de la linealidad del sistema mediante ANADEV (Análisis de varianza).

Fuente de variación	g.l	S:C	M:C	F _{exp.}	F _{tablas}
Regresión	1	$6.62 \cdot 10^{11}$	$6.62 \cdot 10^{11}$	9096.82	4.49
Error de regresión	16	$1.16 \cdot 10^9$	$7.28 \cdot 10^7$		
Falta de Ajuste	4	$1.92 \cdot 10^{13}$	$4.79 \cdot 10^{12}$	2.99	3.71
Error puro	12	$1.92 \cdot 10^{13}$	$1.6 \cdot 10^{12}$		

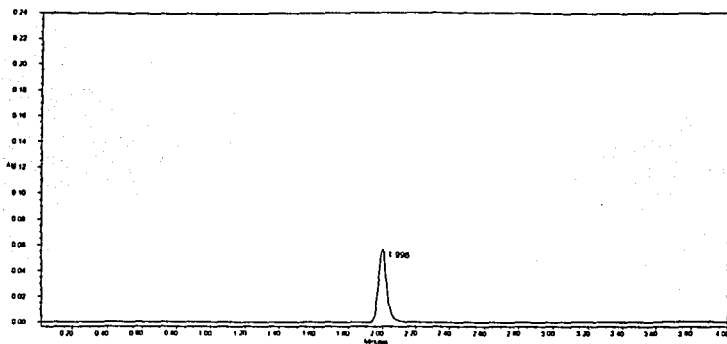
$$F_r > F_{(1,16;0.95)} \text{ y } F_{fa} < F_{(4,12;0.95)}$$

Por lo tanto el modelo lineal es correcto para describir la relación entre la cantidad del analito (x) y la respuesta obtenida (área y).

Issel Jiménez Morgan

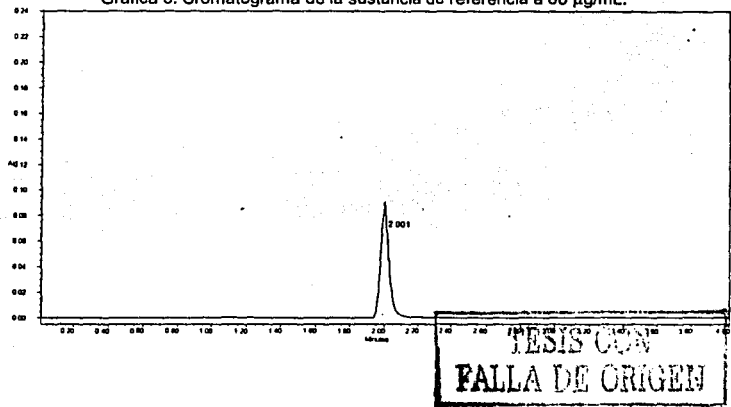
El cromatograma de 50 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

Gráfica 7. Cromatograma de la sustancia de referencia a 50 $\mu\text{g/mL}$.



El cromatograma de 80 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

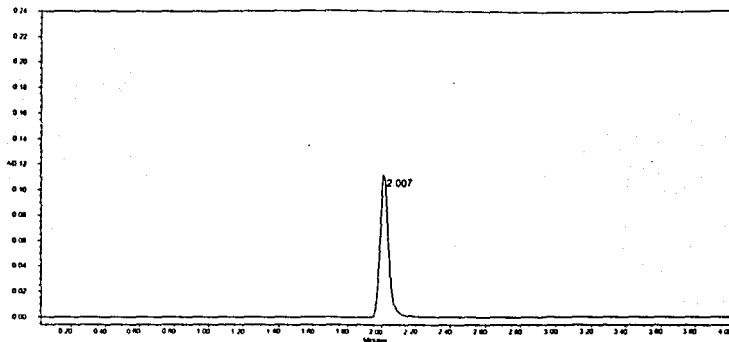
Gráfica 8. Cromatograma de la sustancia de referencia a 80 $\mu\text{g/mL}$.



Issel Jiménez Morgan

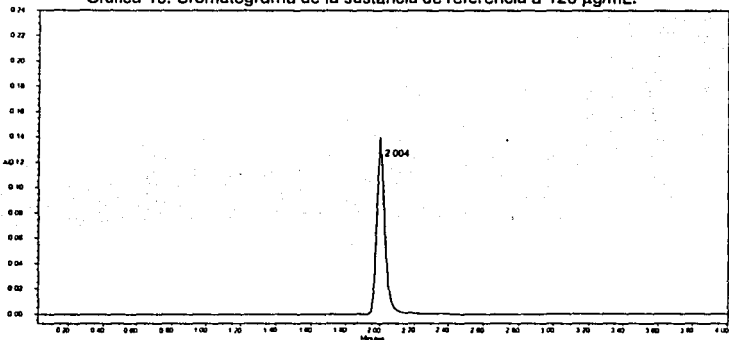
El cromatograma de 100 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

Gráfica 9. Cromatograma de la sustancia de referencia a 100 $\mu\text{g/mL}$.



El cromatograma de 120 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

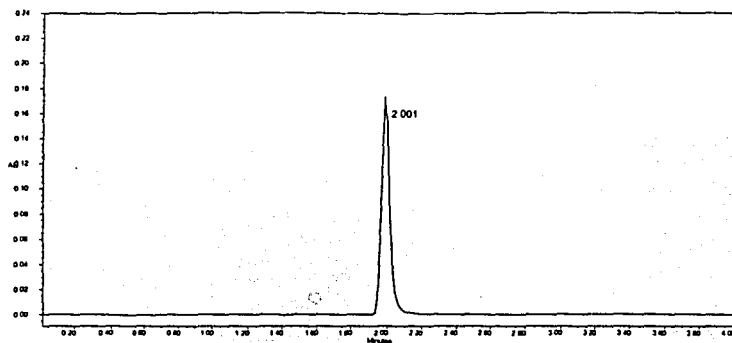
Gráfica 10. Cromatograma de la sustancia de referencia a 120 $\mu\text{g/mL}$.



Issel Jiménez Morgan

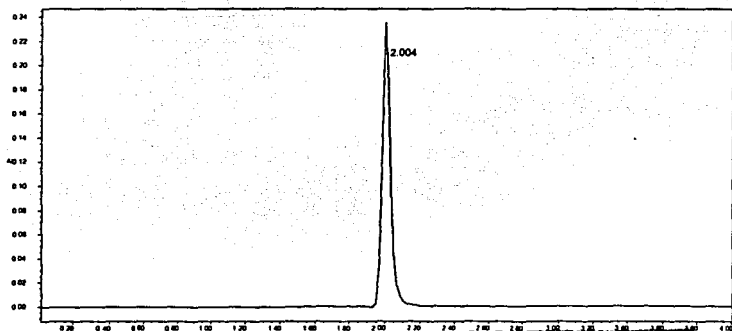
El cromatograma de 150 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

Gráfica 11. Cromatograma de la sustancia de referencia a 150 $\mu\text{g/mL}$.



El cromatograma de 200 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

Gráfica 12. Cromatograma de la sustancia de referencia a 200 $\mu\text{g/mL}$.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Issel Jiménez Morgan

3.5.2 Precisión del sistema: Repetibilidad

Tabla 24 Repetibilidad del sistema para Floroglucinol.

Concentración teórica de Floroglucinol $\mu\text{g/mL}$	Por ciento de recobro encontrado %
100	100.11
	100.98
	98.89
	99.58
	100.29
	101.22

Resultados de 6 lecturas de una misma muestra, con una concentración teórica de 100 $\mu\text{g/mL}$ de Floroglucinol

Resultados

Criterios de aceptación

n = 6

x = 100.18 %

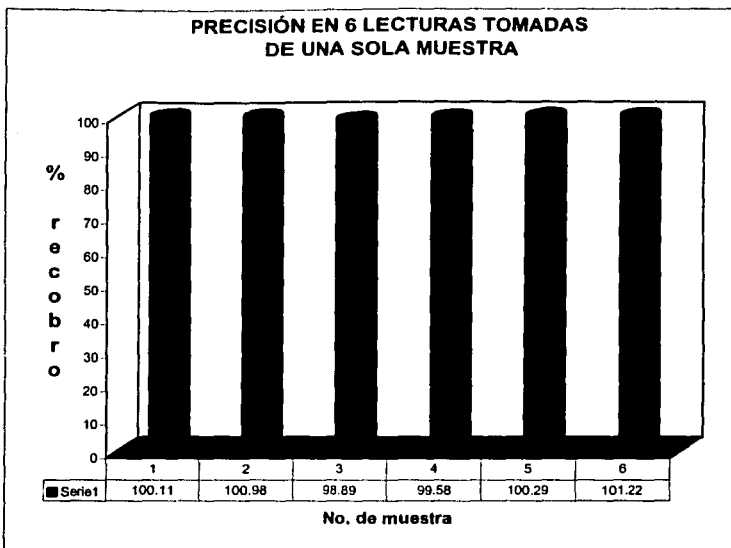
S = 0.87

C.V = 0.87 %

C.V = 1.5 %

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Gráfica 13. Repetibilidad del sistema.



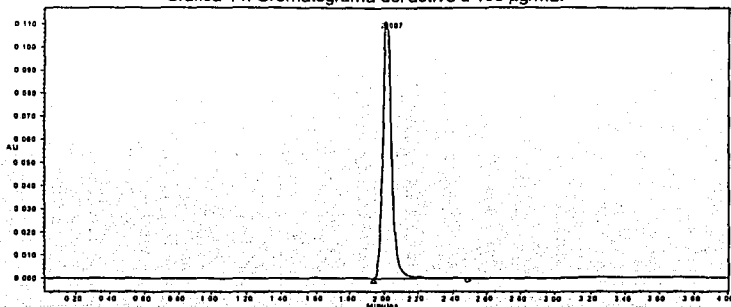
TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Isael Jiménez Morgan

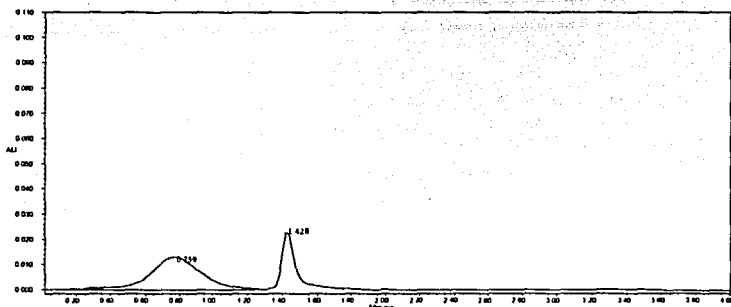
3.5.3 Especificidad del método

Se analizó el placebo y se trató de acuerdo al método analítico descrito, y se observó que no interfiere en la cuantificación del activo.

Gráfica 14. Cromatograma del activo a 100 µg/mL.



Gráfica 15. Cromatograma del placebo con las mismas diluciones.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Isael Jiménez Morgan

3.5.4 Linealidad del método

Tabla 25 Linealidad del método Floroglucinol. Concentración teórica, porcentaje de recobro que representa, respuesta y concentración experimental encontrada.

Porcentaje de recobro teórico (%)	Área	%recobro	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variabilidad %
60	252109	61.64	61.24	0.46	0.75
	250886	61.33			
	248555	60.74			
80	324805	80.05	80.95	0.80	0.99
	329313	81.19			
	330921	81.60			
100	407541	100.99	99.44	1.44	1.95
	396270	98.14			
	400407	99.19			
120	486381	120.95	120.94	0.80	0.66
	483164	20.14			
	489443	121.73			
150	597830	149.17	148.57	1.25	0.84
	598784	149.41			
	589831	147.14			
200	793297	198.65	200.19	1.56	0.78
	805581	201.76			
	799206	200.15			

TESIS CON

TALLA DE ORIGEN

Issel Jiménez Morgan

Para obtener la concentración recuperada se siguió la fórmula de la recta de regresión que se obtuvo de la linealidad del sistema:

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Área} - 8624.50}{3949.94}$$

Tabla 26. Resultados y criterio de aceptación de la linealidad del método.

Resultados	Criterio de aceptación
$r = 0.9996$	$r \geq 0.99$
$r^2 = 0.9992$	$r^2 \geq 0.98$
$a = 1.38$	
$b = 0.99$	

RECTA DE REGRESIÓN

$$y = mx + b$$

$$y = 0.99x + 1.38$$

Capacidad predictiva del modelo empírico

Tabla 27. Predicción del modelo empírico.

Concentración $\mu\text{g/mL}$	Área
60	60.79
80	80.59
100	100.39
120	120.20
150	149.91
200	199.42

Issel Jiménez Morgan

Intervalo de confianza para b

$$P(0.990 < \beta < 0.99902) = 95\%$$

Prueba de hipótesis para b

$$H_0 : b = 0$$

$$H_a : b \neq 0$$

$$t_{exp} = 1194.70 > t_{tablas} = 1.746$$

$$t_{tablas} \text{ n-2, 95\%}$$

Por lo tanto la pendiente no se debe al azar.

Intervalo de confianza para a

$$P(-0.096 < \alpha < 2.86) = 95\%$$

Prueba de hipótesis para a

$$H_0 : a = 0$$

$$H_a : a \neq 0$$

$$t_{exp} = 1.63 < t_{tablas} = 1.746$$

Por lo tanto el intercepto en "y" no difiere significativamente de cero.

Tabla 28 Comprobación de la linealidad del método mediante ANADEV (Análisis de varianza).

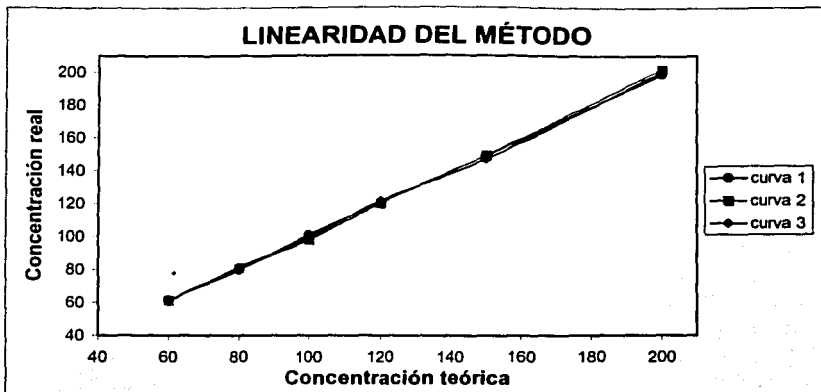
Fuente de variación	g.l	S:C	M:C	F _{exp.}	F _{tablas}
Regresión	1	37894.56	37894.56	22031.72	4.49
Error de regresión	16	27.55	1.72		
Falta de Ajuste	4	1227057.65	306764.4	3.0	3.71
Error puro	12	-1227030.1	-102252.51		

$$F_r > F_{(1,13;0.99)} \text{ y } F_{fa} < F_{(3,10;0.99)}$$

Por lo tanto el modelo lineal es correcto para describir la relación entre la cantidad del analito adicionado (x) y la respuesta obtenida cantidad del analito encontrado (y).

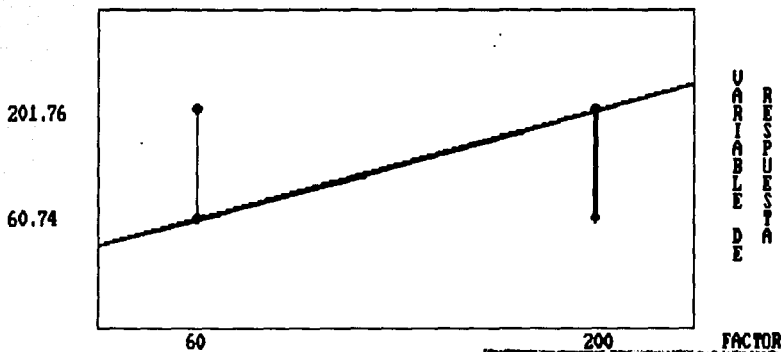
Issel Jiménez Morgan

Gráfica 16. Linealidad del método de la validación del método analítico.



Gráfica 17. Descripción gráfica del modelo empírico utilizando el programa de validación CAFET.

DESCRIPCION GRAFICA DEL MODELO EMPIRICO CAFET

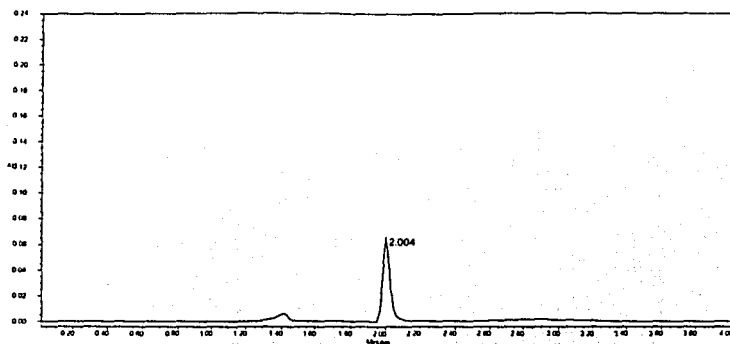


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Issel Jiménez Morgan

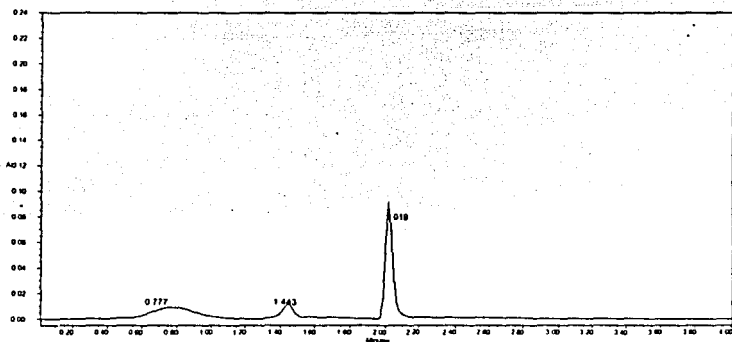
El cromatograma de 60 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

Gráfica 18. Cromatograma del producto a 60 $\mu\text{g/mL}$.



El cromatograma de 80 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

Gráfica 19. Cromatograma del producto a 80 $\mu\text{g/mL}$.

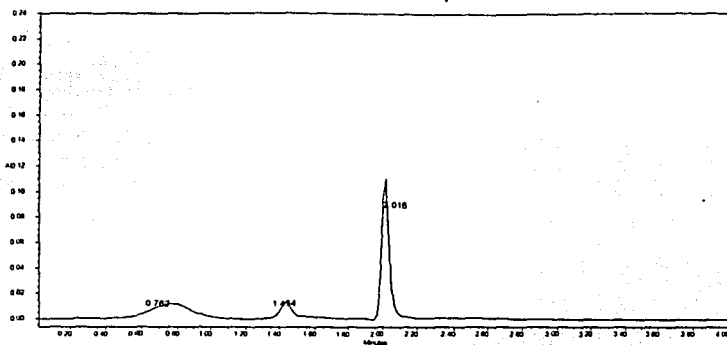


TESIS CON

Issel Jiménez Morgan

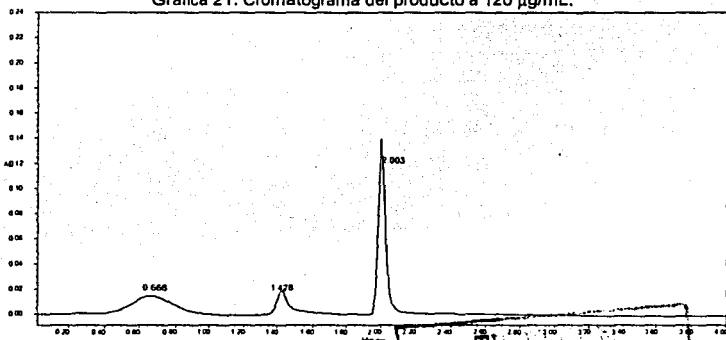
El cromatograma de 100 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

Gráfica 20. Cromatograma del producto a 100 $\mu\text{g/mL}$.



El cromatograma de 120 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

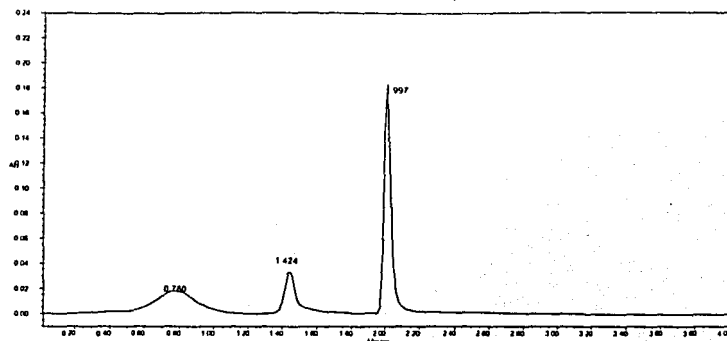
Gráfica 21. Cromatograma del producto a 120 $\mu\text{g/mL}$.



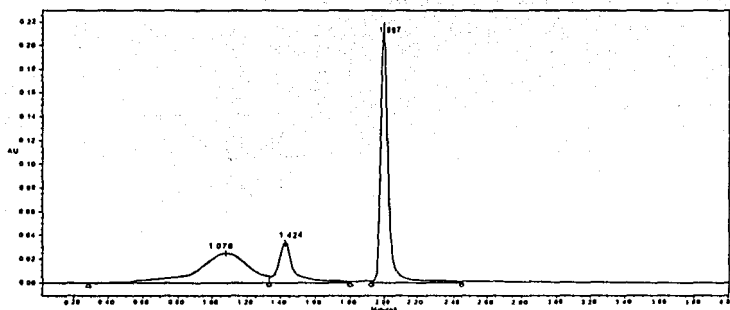
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Isael Jiménez Morgan

El cromatograma de 150 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

Gráfica 22. Cromatograma del producto a 150 $\mu\text{g/mL}$.

El cromatograma de 200 $\mu\text{g/mL}$ que se obtiene es el siguiente:

Gráfica 23. Cromatograma del producto a 200 $\mu\text{g/mL}$.

TESIS CON
FALLA DE CALIFICACIÓN

3.5.5 Exactitud del método

Tabla 29. Exactitud del método de Floroglucinol.

Determinación	% de recobro
1	101.21
2	100.08
3	100.18
4	100.63
5	100.04
6	99.91

Por ciento de recuperación obtenido en 6 muestras independientes

Resultado

Criterios de aceptación

 $n = 6$ $\bar{x} = 100.34\%$

98 – 102 %

 $S = 0.49$ $C.V = 0.49$ $C.V \leq 2 \%$

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Issel Jiménez Morgan

Intervalo de confianza para el por ciento de recobro.

$$IC = \bar{x} \pm t_{0.95} \frac{DE}{\sqrt{6}}$$

$$p(99.94 < \mu < 100.75) = 95 \%$$

Prueba de hipótesis

$$H_0: \bar{x} = 100 \%$$

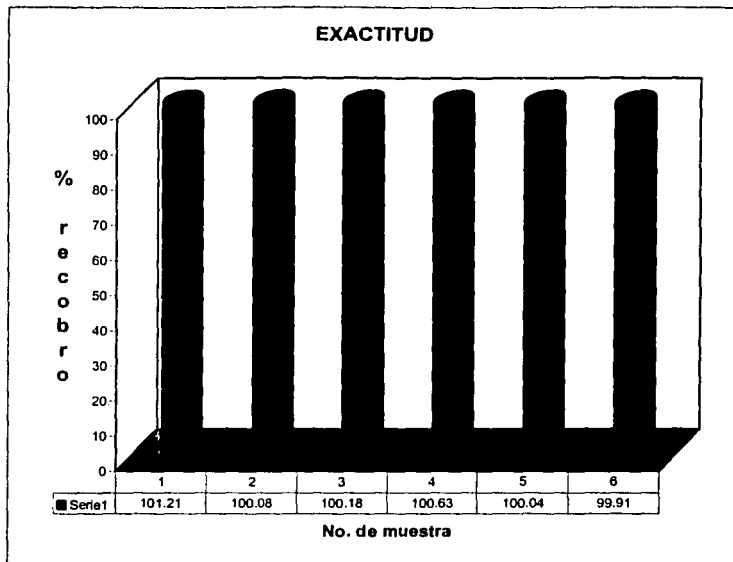
$$H_a: \bar{x} \neq 100 \%$$

$$t_{exp} = \frac{\bar{x} - 100}{DE / \sqrt{6}}$$

$$t_{exp} = 1.70 < t_{tablas} = 2.015$$

Por lo tanto el método es exacto.

Gráfica 24. Exactitud del método.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

3.5.6 Precisión del método: Reproducibilidad

Tabla 30. Reproducibilidad del método para Floroglucinol

Día	Analista 1 (% de recuperación)	Analista 2 (% de recuperación)
1	99.76	100.13
	101.03	99.19
	99.53	100.51
2	100.36	99.39
	101.69	99.30
	99.61	99.71

Cuantificación de Floroglucinol**Resultados****Criterio de aceptación**

$n = 12$

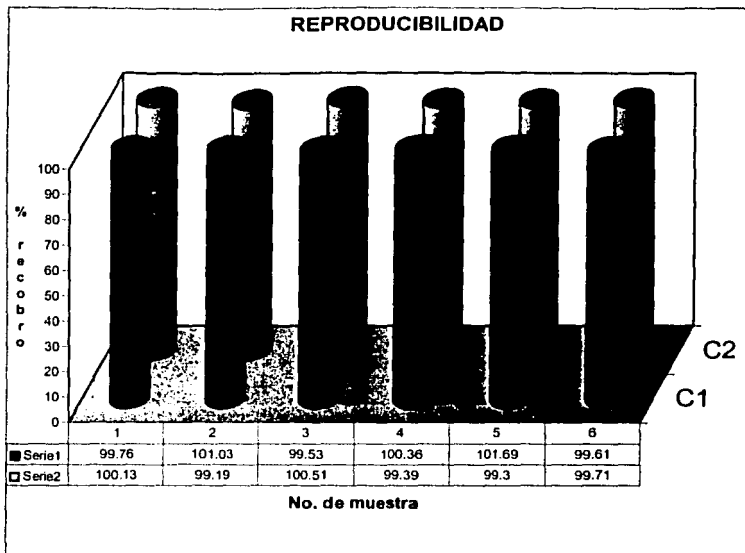
$\bar{x} = 100.02 \%$

$S = 0.7608$

$C.V = 0.7607 \%$

$C.V \leq 2.0 \%$

Gráfica 25. Reproducibilidad del método.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 31. Comprobación de la reproducibilidad mediante el ANADEV (Análisis de varianza)

Fuente de variación	S.C	g.l	M.C	F _{exp}	F _{tablas}
Analista	1.1953	1	1.1953	3.7778	18.51
Días	0.6328	2	0.3164	0.5581	4.46
Error	4.5352	8	0.5669		
Total	13.27	11	1.21		

$F_{exp} < F_{tablas}$; en ambos casos

Por lo tanto no debe modificarse el % de recuperación cuando el método analítico lo realizan uno y otro analista y/o en días diferentes.

Issel Jiménez Morgan

3.6 ESTABILIDAD ACELERADA

Floroglucinol Solución oral pediátrico.

Lote Piloto 01

Tabla 32. Estabilidad acelerada del LP01.

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS						
		INICIALES	30 DÍAS		60 DÍAS		90 DÍAS	
			30°C	40°C	30°C	40°C	30°C	40°C
<i>Aspecto</i>	La solución es transparente, incolora o ligeramente amarilla, no contiene partículas extrañas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<i>Variación de volumen</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<i>pH</i>	4.5 – 7.5	6.12	6.11	6.10	6.12	6.11	6.11	6.11
<i>Identidad</i>	A) Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
<i>Valoración</i>	90% - 110%	101.02	100.98	100.75	99.92	98.63	96.35	95.24
<i>Límites microbianos</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

Isset Jiménez Morgan

Floroglucinol Solución oral pediátrico.

Lote Piloto 02

Tabla 33. Estabilidad acelerada del LP02.

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS						
		INICIALES	30 DÍAS		60 DÍAS		90 DÍAS	
			30°C	40°C	30°C	40°C	30°C	40°C
<i>Aspecto</i>	La solución es transparente, incolora o ligeramente amarilla, no contiene partículas extrañas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<i>Variación de volumen</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
<i>pH</i>	4.5 – 7.5	6.13	6.14	6.11	6.13	6.12	6.11	6.11
<i>Identidad</i>	A) Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
<i>Valoración</i>	90% - 110%	99.68	99.69	99.26	97.35	96.95	95.92	94.68
<i>Límites microbianos</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

Isel Jiménez Morgan

Floroglucinol Solución oral pediátrico.

Lote Piloto 03

Tabla 34. Estabilidad acelerada de LP03.

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS						
		INICIALES	30 DÍAS		60 DÍAS		90 DÍAS	
			30°C	40°C	30°C	40°C	30°C	40°C
Aspecto	La solución es transparente, incolora o ligeramente amarilla, no contiene partículas extrañas	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Variación de volumen	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
pH	4.5 – 7.5	6.12	6.11	6.10	6.10	6.09	6.08	6.02
Identidad	A) Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
Valoración	90% - 110%	99.42	99.48	98.96	98.61	97.31	96.19	95.26
Límites microbianos	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en el presente estudio se llega a las siguientes conclusiones, que cubren todos los objetivos planteados.

- **PREFORMULACIÓN.**

- **Análisis del principio activo.** A pesar de que la materia prima no se encuentra en ningún documento oficial, como las farmacopeas, el principio activo cumple con las especificaciones encontradas en la literatura farmacéutica no oficial, lo cual permitió realizar los estudios de preformulación y formulación. (Tabla 7)
- **Estabilidad del principio activo.** Con las pruebas físicas realizadas se demostró que el principio activo no es muy estable, ya que cambia muy fácilmente el color de la solución en la que se encuentra disuelto, aún estando protegido de la luz y a temperatura ambiente y como se observa en las tablas 11, 12, 13, 14 y 15, la luz natural acelera el cambio de color, por lo que se decidió el empleo de frascos color ámbar, de un antioxidante y de un agente quelante para evitar el color amarillento de la solución.

Con las pruebas químicas se demostró que el contenido del principio activo en la prueba correspondiente a la valoración, no se altera ni con

la luz ni con la temperatura (Tabla 9). Las pruebas con ácido clorhídrico, hidróxido de sodio y agua oxigenada se hicieron para aumentar el riesgo de inestabilidad del principio activo, observándose resultados aceptables a pH ácido y en contacto con agua oxigenada. Sin embargo a pH alcalino la muestra se degrada muy rápidamente (Tablas 11-15 y gráfica 4). Y para evitar que llegue a ese pH ligeramente alcalino (8.5), se le agrego el estabilizador de pH, ya que aunque no variaba mucho con el tiempo, se debía estabilizar adecuadamente la solución. En esta etapa se logro reunir y obtener la información acerca del comportamiento del floroglucinol, lo que facilito el desarrollo de la formulación.

- o **Compatibilidad del principio activo-excipientes.** Los estudios de compatibilidad demostraron que el uso de estos excipientes estabilizan la solución, tanto física como químicamente.

En el aspecto físico, el uso de excipientes ayuda en los siguientes aspectos:

- **Disolución.** En el caso del cosolvente. (Tabla 8)
- **Color.** En el caso del antioxidante y agente quelante. (Tabla 17)
- **En su conservación.** Con el uso de conservadores. (Tabla 18)

Como en el aspecto químico (con el estabilizador de pH, evitando su degradación). Por lo que se decidió que su formulación final sea la establecida en el punto 3.2.1.

- **FORMULACIÓN**

- Mediante los resultados de las matrices de trabajo de las tablas 17 y 18, se estableció la formulación que cumple con las características de solubilidad, claridad y color de la solución, pH y límites microbianos.
- Se describió la metodología del proceso para la fabricación de la solución oral a escala industrial como se menciona en el cuadro 3, siendo muy sencillo y rápido.

- **DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.**

- Se desarrolló por cromatografía de líquidos de alta resolución, para la cuantificación rutinaria del principio activo de la solución oral en el laboratorio de control de calidad, demostrando ser confiable, preciso, reproducible y rápido. Se intentó desarrollar el método por espectrofotometría UV, pero este carecía de especificidad, como se comprueba en la gráfica 1.
- **Linealidad del sistema.** El sistema es lineal en las concentraciones de 50-200 µg/mL de floroglucinol. (Tabla 23 y gráficas 5 y 6)

Isael Jiménez Morgan

- **Precisión del sistema.** El sistema es preciso para floroglucinol, ya que la variación sobre mediciones repetidas es menor a la especificada. (Tabla 24 y gráfica 14)

- **Especificidad del método.** El método es específico, ya que el placebo no interfiere en la cuantificación cromatográfica del floroglucinol. (Gráficas 15 y 16)

- **Linealidad del método.** El método es lineal en las concentraciones de 50 – 200 µg/mL de floroglucinol. (Tabla 27 y gráficas 17 y 18)

- **Exactitud del método.** El método es exacto, ya que puede recuperar las cantidades adicionadas de floroglucinol a cada uno de los placebos en intervalos de concentraciones utilizadas en la linealidad del método. (Tabla 27 y gráfica 19)

- **Precisión del método: repetibilidad y reproducibilidad.**
 - El método es repetible a los niveles de concentración probados para floroglucinol. (Tabla 28 y gráfica 20)

 - El método es reproducible por diferentes días y diferentes analistas. (Tabla 30 y gráfica 21)

Issel Jiménez Morgan

- **ESTABILIDAD ACELERADA.**

- o Se logro que la formulación sea estable en frascos de polietileno, el cual es más económico que el frasco de vidrio. La solución oral pediátrica obtenida es estable física, química y microbiológicamente durante un periodo de 24 meses al menos como lo demuestran las pruebas de estabilidad acelerada, aunque se debe confirmar con la estabilidad a largo plazo.

Finalmente se concluye que se desarrollo una formulación de un antiespasmódico en solución oral acuosa, ayudándose de un cosolvente para la disolución total del principio activo en el vehículo, sin el uso de alcohol.

Este trabajo ofrece a la población infantil menor de un año un producto antiespasmódico, que ayude a aliviar las molestias de los cólicos gastrointestinales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARES IZURIETA, José. y cols. "Ventajas del empleo de los trifenoles en la labor de parto". Medizinische Klinik. México, Julio 1970. No. 105. pp.61.
- AVILÉS MALO, Jorge. "El tratamiento con trifenoles de las colelitiasis coledocolitiasis, colecistitis y sus resultados". Semana Médica de México, 1969. 60. (770) pp. 79-86.
- AVILA GONZÁLEZ, Ivón. Desarrollo de una solución inyectable conteniendo un fármaco antimicótico. UNAM. Q.F.B. Tesis. 2000.
- BISCO, Atilio & KADEL, Robert L. Scale up of chemical processes. Conversion from laboratory scale tests to successful commercial size design. Awilede Interscience Publication John Willey & Sons. USA 1985. pp.6-10
- British Pharmacopoeia, BP. 2000. General Methods and Appendices. Incorporating the requirements of the edition of the European Pharmacopoeia.
- CAPDEVIELLE, Luis E. "Aplicación de los trifenoles en las colecistopatías orgánicas y funcionales". Semana Médica de México. 1968:58 (723) pp 253-55.

Isael Jiménez Morgan

- CAPDEVIELLE, Luis E. "Ensayo de una nueva droga sorprendentemente eficaz en el tratamiento de litiasis de las vías urinarias". Semana Médica de México. 1967,55. pp 64-80.
- CAPDEVIELLE, Luis E. "Comunicación de un caso clínico de ureterolitiasis tratado con trifenoles". Semana Médica de México. 1969:59 (756) pp. 43-46.
- CARRILLO A, MOTA E. "Estudio de la eficacia de los trifenoles y el piroxicam en la dismenorrea". IMT. 1993. pp. 19-23.
- Comité de elaboración de guías oficiales de validación. Validación de métodos analíticos. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos. México, 1989.
- DEBRAY, Ch; J.P. HARDOUIN y Ch. VAILLE. "Primer empleo en terapéutica del trihidroxibenceno". Therapie. 1961;16. pp. 978-990.
- DELINOTTE, P y L. DELOUCHE. "La asociación trihidroxibenceno más trimetoxibenceno en urología. La Presse Medicale. 1964;72. pp. 517-518.
- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, PLM. Edición 46. 2000. Editado por Ediciones PLM, S.A. de C.V. por el Dr. Emilio Rosenstein Stet.
- ELIAS, J. and C.R. GANELLIN. Dictionary of drugs, chemical data, structures and bibliographies. Chapman and Hall. (1990). pp. 133.

Isael Jiménez Morgan

- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, FEUM 7ª Edición. México. 2000 Secretaría de Salud. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos CPFEUM. Métodos generales de análisis.
- FLASCHKA, H.A., A.J. BARNARD, Jr., P.E. STURROCK. Química Analítica Cuantitativa. Compañía Editorial Continental, S.A., México. 1981. Volumen I. Introducción a los principios. Cap. 10.
- GONZÁLEZ TORRES, Citlali. Desarrollo de una formulación de metronidazol en solución inyectable. UNAM Q.F.B. Tesis. 1994.
- GOODMAN, L & GILMAN, A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8ª edición. Editorial Panamericana. México, 1991.
- HELMAN, José. Farmacotecnia teórica y práctica. Compañía Editorial Continental, S.A., CECSA. México. 1981. Cap 14, 38, 41, 42, 43, 66 y 67.
- The Index Merck. Centennial edition. Eleventh edition. 1989. Pág. 1163.
- INIGUEZ TORRES, Mariela. Desarrollo farmacéutico de un anti gripal pediátrico en solución. UNAM Q.F.B. Tesis. 1992.

Issel Jiménez Morgan

- JEANNIN C, A. MANGEOT y A. VERAIN. Ingeniería Farmacéutica. Asociación Francesa de Enseñantes de Farmacia Galénica. Editorial El Manual Moderno. México D.F. 1986. Cap. 15 y 16.
- LACHMAN, Leon; KANIG, Joseph L.; LIEBERMAN, Herbert. The theory and practice of industrial pharmacy. Third edition. Lea and Febige. 1986. Philadelphia. Chapter 8 & 15.
- LITTER, M. Farmacología experimental y clínica. 7ª edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires, 1988.
- MARTINDALE. The extra Pharmacopoeia. A comprehensive source of information on drugs and medicines in current use throughout the world. 27th edition. 1977.pp. 1795.
- MARTÍNEZ GARCÍA, Ricardo. Reformulación de tabletas de metoprolol, desarrollo y validación del método de control de calidad y estabilidad. UNAM. Q.F.B. Tesis. 1990.
- MERCADO HAM, Ana María. "Los trifenoles en el trabajo de parto". Semana Médica de México. 1971;68. pp.30-35.

- Norma Oficial Mexicana. NOM-059-SSA1-1993, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos. Publicada en el diario oficial de la federación con fecha del 31 de Julio de 1998 y con aclaración a la norma el 1 de febrero de 1999.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-073-SSA1-1993, Estabilidad de medicamentos. Publicada en el diario oficial de la federación con fecha de 08 de marzo de 1996.
- PROYETO de Norma Oficial Mexicana. NOM-072-SSA1-1993, Etiquetado de medicamentos. Publicada en el diario oficial de la federación con fecha de 19 de diciembre de 1994.
- PROYECTO de Norma Oficial Mexicana. NOM-164-SSA1-1998, Buenas prácticas de fabricación para fármacos. Publicada en el diario oficial de la federación con fecha de 16 de diciembre de 1998.
- REMINGTON, Farmacología. Editorial UTEHA. Editorial Hispano Americana. Capítulo 83, 86. pp. 1542-1543.
- ROMAN, F.D. Innovación y desarrollo farmacéutico. Editorial AFM, A.C.; México, 1990. Cap. 5.

Issel Jiménez Morgan

- SOTO RAMOS, Alicia Guadalupe. Diseño de una formulación de diclofenaco sódico, desarrollo y validación de un método analítico para su determinación en control de calidad. UNAM. Q.F.B. Tesis. 1998.
- The United States Pharmacopoeia. USP 24 The National Formulary NF19. 2000. General Chapters. Printed by National Publishing, Philadelphia. PA.
- WADE, Ainley and WELLER, Paul J. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Second edition. 1994.

Otro tipo de información.

- [http:// biblio.bo.cnr.its/schede/it/cell34/htm](http://biblio.bo.cnr.its/schede/it/cell34/htm)
- <http://www.douleur-info.com/douleur/tsld028.htm>
- <http://www.manes.com.ar/paginas/105434>
- http://www.micromedex.com/cust_center/dr dex/phlor.htm
- <http://www2.biam2.org/www/Sub2438.html>
- <http://www.graylab.ac.uk/cgi-bin/omd?phloroglucinol>
- <http://palimpsest.stanford.edu/don/dt/dt2566.html>