



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADA PARA LA  
REFORMULACION DE UN PRODUCTO VETERINARIO  
A BASE DE CLORHIDRATO DE FURALTADONA.

## T E S I S

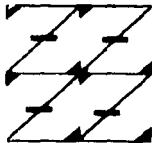
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

P R E S E N T A :

**HECTOR CARBALLO HERNANDEZ**

UNAM  
FES  
ZARAGOZA



LO HUMANO EJE  
DE NUESTRA REFLEXION

DIRECTOR: O.F. FERNANDO POOT LOPEZ  
ASESOR: O.F.B. JUAN CHAVARIN GONZALEZ

MEXICO, D.F.

MARZO, 2002



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.

**A la memoria de mi querido Padre:**

*Gilberto Carballo Segundo*

**A mi querida Madre:**

*Carlota Hernández Velasco*

**A mis entrañables Hermanos:**

*Gilberto Felipe Carballo Hernández*

*Juan Carlos Carballo Hernández*

A mi amada Esposa por su valiosa cooperación:

*Esperanza Urbieta Flores*

Agradezco a:

Mi director y asesor de tesis:

*Q. F. Fernando Poot López*

*Q. F. B. Juan Chavarrín González*

Por su confianza y ayuda en la culminación del presente trabajo:

Mis sinodales:

*Q. F. B. Francisco Tomás Delgado Cruz*

*Q. F. B. Ma. del Rosario Benítez Velásquez*

*Q. F. B. Mauro Arrieta Sánchez*

Por su disposición en la revisión de este trabajo y sus valiosas aportaciones.

*No Claudiques*

*Si en la lucha el destino te derriba*

*Si todo en tu camino es cuesta arriba*

*Si tu sonrisa es ansia insatisfecha*

*Si hay faena excesiva y vil cosecha*

*Si a tu caudal se contraponen diques,*

*Date una tregua, ¡pero no claudiques!*

*Rudyard Kipling*

# ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	III
ÍNDICE DE TABLAS .....	III
INTRODUCCIÓN.....	V
<b>1. FUNDAMENTO TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
1.1. LA INDUSTRIA AVÍCOLA .....	1
1.2. LA FURALTADONA .....	2
1.2.1. Estructura.....	2
1.2.2. Propiedades.....	2
1.2.3. Propiedades farmacológicas .....	4
1.2.4. Mecanismo de acción.....	5
1.2.5. Preparados farmacéuticos y usos .....	6
1.3. ESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS .....	6
1.3.1. Importancia.....	6
1.3.2. Parámetros.....	7
1.3.3. Cinética química.....	8
1.3.4. Tratamiento de datos.....	8
1.3.5. Definiciones.....	10
1.4. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	11
1.4.1. Técnicas analíticas .....	11
1.4.2. Error analítico.....	12
1.4.3. Validación de métodos analíticos .....	13
1.4.3.1. Validación.....	13
1.4.3.2. Especificidad.....	14
1.4.3.3. Linealidad del sistema o método analítico .....	14
1.4.3.4. Precisión .....	14
1.4.3.5. Exactitud.....	15
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>16</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
<b>4. HIPÓTESIS.....</b>	<b>18</b>

<b>5. MATERIAL Y MÉTODO.....</b>	<b>19</b>
5.1. MATERIAL.....	19
5.1.1. Instrumentos.....	19
5.1.2. Equipos.....	19
5.1.3. Material de vidrio.....	19
5.1.4. Reactivos.....	19
5.2. METODOLOGÍA.....	20
Protocolos.....	20
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>25</b>
6.1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO I.....	26
6.1.1. Linealidad del sistema de medición.....	26
6.1.2. Especificidad.....	28
6.1.3. Exactitud y repetibilidad.....	30
6.1.4. Linealidad del método.....	31
6.1.5. Reproducibilidad del método.....	33
6.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO II.....	34
6.2.1. Especificidad.....	34
6.2.2. Exactitud y repetibilidad.....	35
6.2.3. Linealidad del método.....	36
6.2.4. Reproducibilidad del método.....	38
6.3. ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADA.....	39
6.3.1. Elaboración de los lotes de prueba.....	39
6.3.2. Evaluación de las pruebas físicas.....	39
6.3.3. Estudio de estabilidad acelerada.....	39
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>8. SUGERENCIAS.....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>50</b>
GLOSARIO.....	50
MODELO PARA LA PRECISIÓN DEL MÉTODO.....	51
FÓRMULAS EMPLEADAS.....	51
ANÁLISIS DE VARIANZA.....	53
Matriz de resultados.....	53
Matriz de totales.....	53
Tabla de análisis de varianza para dos factores anidados.....	53



<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>55</b>
---------------------------	-----------

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

FIGURA 1. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA FURALTADONA.....	2
FIGURA 2. ESTRUCTURAS DE RESONANCIA DEL FURANO. ....	3
FIGURA 3. MECANISMO DE FOTÓLISIS PARA NITROFURANOS.....	4
FIGURA 4. SITIOS DONDE ACTÚA LA FURALTADONA EN EL CICLO DE KREBS.....	5
FIGURA 5. CURVA DE DISTRIBUCIÓN NORMAL .....	14
FIGURA 6. ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN UV-VIS, PARA LA FURALTADONA HCL.....	25
FIGURA 7. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LOS MÉTODOS ANALÍTICOS EMPLEADOS.....	26
FIGURA 8. CURVA PATRÓN PARA LINEALIDAD DEL SISTEMA DE MEDICIÓN.....	27
FIGURA 9. ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN UV-VIS PARA EL PLACEBO.....	28
FIGURA 10. ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN PARA EL PLACEBO TRATADO.....	29
FIGURA 11. ESPECTROGRAMA DE ABSORCIÓN PARA LOS PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN.....	29
FIGURA 12. EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD PARA EL MÉTODO I.....	32
FIGURA 13. EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD PARA EL MÉTODO II.....	37
FIGURA 14. RESULTADOS PROMEDIO PARA UN MODELO DE ORDEN CERO.....	41
FIGURA 15. RESULTADOS PROMEDIO PARA UN MODELO DE PRIMER ORDEN.....	43
FIGURA 16. RESULTADOS PROMEDIO PARA UN MODELO DE SEGUNDO ORDEN.....	44
FIGURA 17. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS MODELOS DE REACCIÓN.....	46

## **ÍNDICE DE TABLAS**

TABLA 1. LINEALIDAD DEL SISTEMA DE MEDICIÓN. ABSORBANCIA A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ESTÁNDAR.....	27
TABLA 2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO I. EVALUACIÓN DE LA EXACTITUD Y LA REPETIBILIDAD.....	30
TABLA 3. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE LA PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO ANALÍTICO I.....	31
TABLA 4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO I. EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO I.....	32
TABLA 5. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO I.....	33
TABLA 6. VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO I. EVALUACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD.....	33
TABLA 7. EVALUACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD PARA EL MÉTODO I. TABLA DE ANADEVA.....	34
TABLA 8. ESPECIFICIDAD PARA EL MÉTODO II. EVALUACIÓN DE LA SEPARACIÓN DE PRODUCTOS POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA.....	34
TABLA 9. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO II. EVALUACIÓN DE LA EXACTITUD Y LA REPETIBILIDAD.....	35
TABLA 10. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE LA PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO ANALÍTICO II.....	36
TABLA 11. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO II EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO II.....	37

TABLA 12. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO II. ....	38
TABLA 13. VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO II. EVALUACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD. ....	38
TABLA 14. EVALUACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD PARA EL MÉTODO II. TABLA DE ANADEVA. ....	38
TABLA 15. ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACCELERADA. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS FÍSICAS PARA TODO EL TIEMPO DE ESTUDIO. ....	39
TABLA 16. ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACCELERADA. PORCENTAJE DE ACTIVO NO DEGRADADO. TEMPERATURA AMBIENTE. ....	40
TABLA 17. ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACCELERADA. CONTENIDO DE ACTIVO NO DEGRADADO. TEMPERATURA 40 ° C. ....	40
TABLA 18. ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACCELERADA. CONTENIDO DE ACTIVO NO DEGRADADO. TEMPERATURA 50 ° C. ....	40
TABLA 19. RESULTADOS PROMEDIO DE LOS LOTES PARA CADA TEMPERATURA. PARA UN MODELO DE ORDEN CERO. ....	42
TABLA 20. RESULTADOS PROMEDIO DE LOS LOTES PARA CADA TEMPERATURA. PARA UN MODELO DE PRIMER ORDEN. ....	43
TABLA 21. RESULTADOS PROMEDIO DE LOS LOTES PARA CADA TEMPERATURA. PARA UN MODELO DE SEGUNDO ORDEN. ....	45
TABLA 22. RESUMEN DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS. DE ACUERDO A LA ECUACIÓN DE ARRIENIUS, EN DONDE SE MUESTRA EL EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCIÓN. ....	45
TABLA 23. RELACIÓN EXISTENTE ENTRE LA CONSTANTE DE VELOCIDAD Y LA TEMPERATURA SEGÚN LA ECUACIÓN DE ARRIENIUS. PARA CADA MODELO CINÉTICO. ....	47

## INTRODUCCIÓN

Así como la terapéutica humana es importante para aliviar los estados patológicos del ser humano, la terapéutica animal lo es para restaurar la salud de los animales; dada la importancia que tiene para el hombre la obtención de productos de origen animal.

En el caso de las aves, las enfermedades del tracto respiratorio y gastrointestinal, como la pullorosis, la tifoidea aviar y la paratifoidea, causan una mortalidad considerable en granjas; reportando pérdidas económicas importantes en la industria avícola, razón por la cual es importante el uso de medicamentos de calidad en el control de los estados patológicos de los animales.

Entre los medicamentos empleados están aquellos que se derivan de la familia de los nitrofuranos, como la furaltadona base y su sal de clorhidrato; esta última preferida dada su mejor solubilidad en agua. El efecto de esta sustancia puede ser bactericida o bacteriostático, dependiendo de la concentración en la que se utilice. El posible mecanismo de acción es a nivel de las enzimas que intervienen en el ciclo de Krebs, proceso por el cual la bacteria obtiene la energía necesaria para su supervivencia o a nivel de la síntesis de la pared celular.

Garantizar la efectividad de un medicamento durante su uso es de vital importancia; durante el estudio de estabilidad acelerada se intenta establecer la fecha de caducidad del producto, encontrando que este es muy estable, debido a que durante el periodo de estudio, la potencia permaneció por arriba del 90 %, aun con las condiciones elevadas de temperatura.

Para la cuantificación del activo y sus posibles productos de degradación se desarrollo y valido un método analítico, basado en la cromatografía de capa fina, el cuál sirve como indicador de estabilidad, aunado con la espectrofotometría UV-Visible. Adicionalmente se valido un método que se empleara de forma rutinaria en control de calidad y el cual esta basado exclusivamente en espectrofotometría de absorción UV-Visible.

# 1. FUNDAMENTO TEÓRICO

## 1.1. La industria avícola.

Para la alimentación de un país, la industria avícola, desempeña un papel muy importante en la obtención de proteínas, carne y huevos a partir de granos y otros productos.

Las pérdidas económicas que sufre esta industria a causa de las enfermedades que padecen las aves, no sólo se deben a la muerte de las mismas, sino también a las derivadas por el retraso en su crecimiento, mala calidad de las aves destinadas al mercado y una menor producción de huevo. [Maríño, 1981].

Entre las enfermedades que sufren las aves se encuentran aquellas que involucran a los aparatos respiratorio y digestivo. Una de ellas es la Enfermedad Respiratoria Crónica (E.R.C.), se trata de una micoplasmosis causada por ***Mycoplasma gallisepticum***, que ataca las vías respiratorias altas y bajas; su transmisión es por contacto directo de ave a ave, a través del huevo y por agua contaminada. [Rojo, 1987]

Cuando la micoplasmosis se complica con algún otro microorganismo se presenta otra enfermedad respiratoria denominada Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada (E. R. C. C.). El segundo microorganismo que ataca es generalmente ***Escherichia coli*** pudiendo tratarse también de algún virus respiratorio o alguna otra bacteria como: ***Staphylococcus aureus***, ***Streptococcus sp.*** o ***Pseudomona aeruginosa***. La transmisión de esta enfermedad es principalmente a través del huevo y raramente por contacto directo. Se caracteriza por producir lesiones fibrinopurulentas en sacos aéreos.

La pullorosis, la tifoidea aviar y la paratifoidea son enfermedades del aparato digestivo que causan una mortalidad considerable en granjas.

La pullorosis o diarrea blanca de los polluelos es causada por ***Salmonella pullorum*** que afecta a las aves de 4 semanas de edad en su forma aguda, provocando debilidad general, inapetencia y la característica diarrea de color blanco. En forma crónica afecta a aves adultas.

La tifoidea aviar es causada por *Salmonella gallinarum*, esta enfermedad afecta generalmente a las aves jóvenes causando una mortalidad elevada, también afecta a las aves en postura con una menor mortalidad.

La paratifoidea es causada por *Salmonella typhimurium* provocando una elevada mortalidad en aves de entre 7 y 10 días de edad. [Porn, 1973].

Estas enfermedades pueden ser tratadas por diferentes antibióticos como cloranfenicol, estreptomina, tetraciclinas, etc., y por una serie de compuestos derivados del nitrofurano como la furazolidona y la furaltadona. [Gómez, 1987].

## 1.2. La Furaltadona.

### 1.2.1. Estructura.

La fórmula condensada de la furaltadona es  $C_{13}H_{16}N_4O_6$  y se trata de un derivado dos sustituido de un nitrofurano; cuyo nombre químico es 5-(4-Morfolinilmetil)-3-[[[(5-nitro-2-furanil)metilen]amino]-2-oxazolidona. Con un peso molecular de: 324.33. Su fórmula desarrollada se muestra en la figura 1.

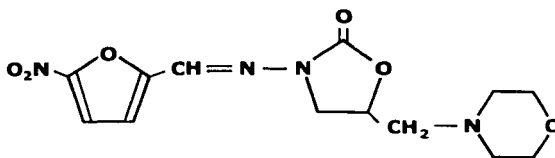


Figura 1. Estructura química de la furaltadona

### 1.2.2. Propiedades.

El furano es una molécula poco estable que se descompone en presencia de oxígeno y aire formando un peróxido. Además el anillo del furano se abre con relativa facilidad en presencia de ácidos.

La estructura de resonancia de un furano (Fig. 2), se ve favorecida por la presencia de grupos nitro en las posiciones 2 y 3 (los nitrofuranos), esto hace que la aromaticidad del anillo se incremente, y los electrones de la estructura de

resonancia estén menos localizados favoreciendo la estabilidad del compuesto a los ácidos; sin embargo, es fácilmente atacado por álcalis fuertes, esta es una característica de la furaltadona. [Bosshard and Eugster, 1966].

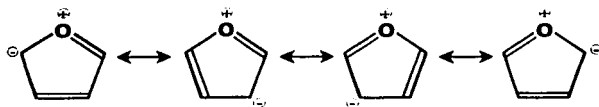


Figura 2. Estructuras de resonancia del furano.

La furaltadona presenta dos sales; la furaltadona base y la sal de clorhidrato. La apariencia física de ambas es diferente; la furaltadona base se presenta como un polvo fino móvil de color amarillo limón y el clorhidrato de furaltadona es un polvo fino untuoso de color amarillo claro. La solubilidad de las dos formas es también distinta, la primera es soluble en solventes orgánicos y en especial en dimetilformamida, la segunda es insoluble en solventes orgánicos y es más soluble en agua. El punto de fusión de la furaltadona base es de 206 °C, más bajo que el de la furaltadona clorhidrato el cual es de 239.0 °C. La siguiente tabla resume las propiedades de ambas sales de furaltadona. [Kalnbergs, 1967].

Propiedades físicas	Furaltadona base	Furaltadona Clorhidrato
Descripción	Polvo fino móvil	Polvo fino untuoso
Color	Amarillo limón	Amarillo claro
Solubilidad	Soluble en: Dimetilformamida (DMF) y Solventes orgánicos Insoluble en Agua	Soluble en: Agua  Insoluble en solventes orgánicos
Punto de fusión	206.0 °C	239.0 °C

La presencia de grupos sustituyentes en la molécula de un nitrofurano hace a la molécula más estable al oxígeno, al aire y a las soluciones ácidas, no así para las soluciones alcalinas fuertes y la luz. Los nitrofuranos y sus derivados son muy sensibles a la luz, el posible mecanismo de descomposición se basa en una reacción de fotólisis en la que ocurre un rearrreglo en el anillo, (Fig. 3) [Acheson, R. M., 1976].

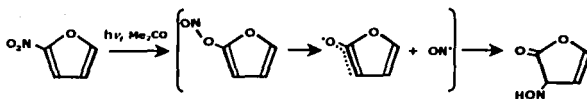


Figura 3. Mecanismo de fotólisis para nitrofuranos.

La estabilidad al aire y al oxígeno proporcionada por los grupos sustituyentes se hace evidente en la nitrofurantoina, la cual tiene un sustituyente menos que la furaltadona, y en la que se reportan condiciones estables de almacenamiento hasta de 5 años a temperatura ambiente para tabletas y suspensiones almacenadas en contenedores que la protegen de la luz. [Foley, K., 1976].

### 1.2.3. Propiedades farmacológicas.

Los nitrofuranos son antibacterianos y como derivados del furano requieren del radical 5-nitro en el anillo furánico para que desarrollen dicha actividad. [Fumagalli, 1961]

La simplicidad y flexibilidad del núcleo de los nitrofuranos ha permitido la síntesis de varios compuestos que poseen diferentes características en cuanto a solubilidad, estabilidad, grado de absorción intestinal, toxicidad y aplicación terapéutica. [Gómez, 1987].

Estudios in vivo con *Staphylococcus aureus* inoculado en ratones, revelan que a concentraciones de entre 100 y 250 mg / kg de peso, causan una rápida disminución de los organismos viables en las primeras horas. [Carey et al, 1960]. Su efecto puede ser bactericida o bacteriostático según la concentración utilizada, una concentración de 0.26 % resulto ser la concentración mínima para mostrar un efecto bacteriostático, estableciéndose una dosis terapéutica de 36 - 500 mg /kg, [McCabe, et al, 1960].

Su espectro bacteriano es generalmente contra gram negativos, algunos gram positivos, protozoarios y hongos. *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* y *Arizona hinshawii*, son las bacterias gram negativas más susceptibles, y

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

de los gram positivos están *Staphylococcus sp.* y *Clostridium sp.* [Zangaglia, O. and Fantoni, S. 1962].

La furaltadona es de espectro bacteriano intermedio, de gran solubilidad en agua la dosis recomendada es de 10 mg / kg. Es absorbida rápida y fácilmente a nivel del tracto gastrointestinal. Las bacterias más susceptibles son: *Escherichia coli*, *Salmonella gallinarum*, y *Staphylococcus sp.*

Sus niveles en sangre no son muy elevados y es tóxico cuando se administra parenteralmente o cuando se mantienen concentraciones elevadas por vía oral en periodos cortos, [Gómez, 1987].

## 1.2.4. Mecanismo de acción.

Su mecanismo de acción no se conoce con exactitud. Probablemente inhibe procesos enzimáticos esenciales para el crecimiento bacteriano, (Fig. 4). Así el efecto bacteriostático se caracteriza por producir una inhibición irreversible en las enzimas involucradas en la conversión del piruvato a coenzima A, esencial para que los carbohidratos entren al ciclo de Krebs, también inhibe la producción de citrato a partir del oxaloacetato y coenzima A, un tercer sistema enzimático que inhibe, es la conversión de malato a oxaloacetato. [Fuentes, 1987 y Gómez, 1987].

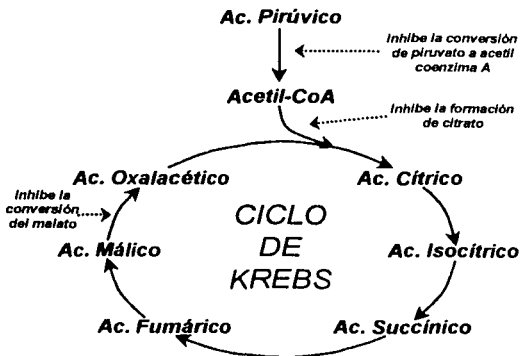


Figura 4. Sitios donde actúa la furaltadona en el ciclo de Krebs



Pruebas in vitro con ***Staphylococcus aureus*** indican que la furaltadona inhibe la síntesis de la pared celular en la fase de crecimiento exponencial, debido a una acumulación de N-acetilhexosamina y a la posterior acumulación de N-acetilglucosamina, [Waterbury, W. E. et. al., 1965].

#### 1.2.5. Preparados farmacéuticos y usos.

La furaltadona se emplea en preparados de uso veterinario para aves, en la forma de un polvo soluble que se administra en el agua de bebida de las aves enfermas.

Las enfermedades para las cuales esta indicado son: Pullorosis (diarrea blanca de los pollos), tifoidea aviar, paratifoidea, enfermedad respiratoria crónica (E.R.C.), y enfermedad respiratoria crónica complicada (E.R.C.C.).

### 1.3. Estabilidad de medicamentos

#### 1.3.1. Importancia.

La estabilidad de un fármaco se ha definido como la capacidad de una forma farmacéutica para mantener dentro de los límites especificados sus propiedades físicas, químicas, microbiológicas, terapéuticas y toxicológicas desde su fabricación y acondicionamiento hasta su almacenamiento y uso. [Remington, 1982].

Sin embargo la inestabilidad de un producto farmacéutico no es solo la modificación de su eficacia, sino también de su seguridad, facilidad para su uso y aceptabilidad por los pacientes.

El diseño de los estudios de estabilidad debe ser tal que identifique los factores que afectan la degradación del principio activo, así pues el diseño permite identificar la forma de dosificación y conocer la estabilidad del fármaco.

La inestabilidad del principio activo en la forma farmacéutica se detecta por cambios de apariencia física, (color, olor, sabor, textura, etc.), mientras que los cambios químicos ocurren y no son evidentes y solo se detectan a través de análisis químico. [Banker, 1990 y Ansel, 1990]

Las mejoras en los estudios de estabilidad han abarcado el desarrollo de métodos analíticos que sean indicadores de estabilidad no solo al cuantificar el fármaco en presencia de los productos de degradación y los excipientes sino hasta en la cuantificación del producto de degradación más abundante.

Se deben de realizar estudios de estabilidad acelerada a los medicamentos, con el fin de garantizar que éstos conserven la dosis efectiva de principio activo, que no se producirán reacciones de degradación, con la consecuente formación de sustancias tóxicas y que la apariencia física del nuevo medicamento no se altere durante la misma.

Lo anterior resalta la importancia de dirigir los estudios de estabilidad hacia la obtención del periodo de caducidad del nuevo medicamento y así garantizar la calidad y pureza de éste.

### 1.3.2. Parámetros.

En la estabilidad de un producto farmacéutico no solo se involucra la estabilidad del ingrediente activo, sino también la interacción de este con los demás ingredientes, el proceso de manufactura, la forma de dosificación, el sistema de empaque, la condiciones ambientales durante el embarque, el almacenamiento y su manejo. [Kommanaboyina and Rhodes, 1999].

En estado sólido los factores o parámetros que originan las reacciones de degradación son el calor, la luz, el oxígeno y la humedad. El mecanismo por el cual ocurren las reacciones en los sólidos es complejo y lento, de ahí la necesidad de usar condiciones extremas de temperatura, luz y humedad, en la investigación de estabilidad acelerada. [Ansel 1990; Carstensen, 1984 y Liberman, 1980].

Resumiendo, para realizar un estudio de estabilidad acelerada se toman en cuenta los factores o parámetros principales que afectan la estabilidad del producto:

- i. pH.
- ii. Luz.
- iii. Humedad.

#### iv. Temperatura.

##### 1.3.3. Cinética química.

La aplicación de los conceptos cinéticos a los procesos de descomposición de fármacos fue demostrada por Garret y Carper en la década de los años 50; en esa época se establecen las bases para un estudio de estabilidad acelerada y así conocer el tiempo de vida útil de un medicamento en un periodo de tiempo razonablemente corto. [Garret, 1955]

Para poder estudiar y predecir la estabilidad de un medicamento es necesario aplicar la cinética química basada en estudios de velocidad de reacción.

El parámetro más utilizado en los estudios de estabilidad es la temperatura, de ahí el enfoque en determinar la concentración de fármaco en función del tiempo a una determinada temperatura constante.

Los estudios de estabilidad proveen información sobre la vida de anaquel, los periodos de reanálisis y periodos de caducidad de los medicamentos, sin embargo en la practica esto suele ser difícil dada la complejidad y diversidad de los productos farmacéuticos.

Afortunadamente se han desarrollado guías internacionales para establecer los lineamientos sobre los protocolos para la pruebas de estabilidad. [Sing, S., 1999]

##### 1.3.4. Tratamiento de datos.

Tradicionalmente los datos generados de estabilidad se usan para determinar la vida de anaquel por el método de Arrhenius, en este es importante determinar el orden de reacción, en la degradación del activo en un producto; para que esto sea posible es necesario monitorear la reacción hasta que se complete por lo menos en un 70 %, pues es prácticamente imposible diferenciar las reacciones de orden cero, primero y segundo, si la degradación se completa solo en un 10 %. [Rhodes, 1984].

Para estudios de estabilidad acelerada, los datos obtenidos permitirán obtener el orden de reacción y la constante de velocidad de reacción para cada

temperatura; la obtención de la fecha de caducidad del producto se basa en la aplicación de la teoría de Arrhenius. Dicha ecuación establece la relación que existe entre la constante de velocidad y la temperatura

$$k = Ae^{\left(\frac{-E_a}{RT}\right)} \quad \text{fórmula (1)}$$

donde k es la constante de velocidad,  $E_a$  es la energía de activación de la reacción de degradación, T es la temperatura absoluta, R es la constante para los gases y A es un factor de frecuencia. La ecuación puede ser transformada a una forma lineal tomando los logaritmos naturales en ambos lados.

$$\ln k = \ln A - \left(\frac{E_a}{R}\right)\left(\frac{1}{T}\right) \quad \text{fórmula (2)}$$

Al graficar las constantes de velocidad a diferentes temperaturas, es posible extrapolar o interpolar la constante de velocidad a temperatura ambiente, y obtener la fecha de caducidad del producto. [Yang, 1981].

Desde 1993 el comité internacional de armonización (ICH) desarrollo cuatro guías para la estabilidad de fármacos que fueron adoptadas por Estados Unidos y Japón, posteriormente la comunidad Europea en el 97 y 98 edito sus propias guías que son complemento a las guías ICH.

En estas guías se divide a la tierra en 5 zonas climáticas, resultado del calculo de la temperatura cinética media (MKT) mediante la fórmula de Haynes (fórmula 3) que se deriva de la ecuación de Arrhenius, en donde se asigna un valor de energía de activación ( $\Delta H$ ) de 83.144 kJ/mole<sup>1</sup>, R es la constante universal de los gases,  $T_n$  es media aritmética entre la temperatura mas alta y la mas baja registrada en el periodo "n" de estudio y n es el numero total de temperaturas registradas durante un año de estudio. [Kommanaboyina and Rhodes, 1999]

$$MKT = \frac{\Delta H/R}{-\ln\left[\left(e^{-\Delta H/RT_1} + e^{-\Delta H/RT_2} + \dots + e^{-\Delta H/RT_n}\right)^{1/n}\right]} \quad \text{fórmula (3)}$$

---

1 Valor promedio reportado por Grimm y Schepky para una amplia variedad de fármacos, sin embargo hay productos con una energía de activación significativamente menor 20 a 50 kJ/mol y se encontraran otros menos sensibles a la temperatura con un promedio de energía de activación más alto.

Desde marzo de 1996, la Secretaria de Salud publico la norma oficial mexicana NOM-073-SSA1-1993, "Estabilidad de medicamentos", que tiene como base esta norma internacional, en donde México se encuentra ubicado en la zona climática II.

La norma menciona las condiciones especificas para los estudios de estabilidad acelerada, estableciendo que para el registro de un medicamento o modificaciones a las condiciones de registro, en el caso de medicamentos con fármacos conocidos; el estudio de estabilidad se debe realizar en tres lotes piloto o de producción con la formulación y el material de envase sometidos a registro bajo las siguientes condiciones en el caso de formas farmacéuticas sólidas:

Condiciones de almacenamiento	Análisis
40 °C ± 2 °C y 75 % ± 5 % de humedad relativa	30, 60 y 90 días
30 °C ± 2 °C y humedad ambiente	30, 60 y 90 días

Si durante este periodo de estudio se demuestra que no hay cambios en la potencia inicial por debajo del límite inferior de la especificación, en el pH, la apariencia y las propiedades físicas, se otorgara un periodo de caducidad tentativo de 24 meses.

#### 1.3.5. Definiciones.

La norma oficial mexicana NOM-073-SSA1-1993, "Estabilidad de medicamentos", ofrece las siguientes definiciones:

**Estabilidad:** Propiedad de una forma farmacéutica para mantener durante el tiempo de almacenamiento y uso las características físicas, químicas, fisicoquímicas, microbiológicas y biológicas entre los límites especificados.

**Estudio de estabilidad:** Pruebas que se efectúan a un medicamento para determinar el periodo de caducidad y las condiciones de almacenamiento en que sus características físicas, químicas, fisicoquímicas, microbiológicas y biológicas permanecen dentro de límites especificados, bajo la influencia de diversos factores ambientales como temperatura, humedad y luz.

**Estabilidad acelerada:** Estudios diseñados para incrementar la velocidad de degradación química y/o biológica o el cambio físico de un medicamento, por medio del empleo de condiciones exageradas de almacenamiento.

**Fecha de caducidad:** Fecha que se indica en el material de envase primario y/o secundario y que determina el periodo de vida útil del medicamento. Se calcula a partir de la fecha de fabricación y toma en cuenta el periodo de caducidad.

**Periodo de caducidad:** Tiempo estimado durante el cual el lote de producto permanece dentro de las especificaciones si se conserva bajo condiciones de almacenamiento normal o particular. Este periodo no debe exceder de 5 años.

#### **1.4. Métodos analíticos**

##### 1.4.1. Técnicas analíticas.

La química analítica permite conocer la composición de una sustancia, empleando distintas técnicas de análisis como son:

- i. Gravimetría, (poco usada)
- ii. Volumetría (titulaciones).
- iii. Técnicas físicas o instrumentales.

Las técnicas comúnmente empleadas en los estudios de estabilidad acelerada en una interacción fármaco excipiente son: [Peckson, 1983]

- i. Cromatografía
- ii. Análisis térmico
- iii. Difracción de rayos X.

Sin embargo, frecuentemente se encuentran mezclas de sustancias, haciendo necesario separar primero la o las sustancias de interés y posteriormente cuantificarlas. Esto lleva al uso de Técnicas de separación, como:

- i. Extracción con solventes.
- ii. Cromatografía.

Las mejoras en los estudios de estabilidad han abarcado la parte analítica, desarrollando métodos que sean indicadores de estabilidad, no solo al

cuantificar el fármaco en presencia de productos de degradación y excipientes, sino hasta en la cuantificación del producto de degradación que se presente en forma mas abundante; es así como las técnicas cromatográficas y en especial la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC, como se le conoce), han contribuido a los estudios de estabilidad. [Kommanaboyina and Rhodes, 1999] Desde principios de siglo la cromatografía se uso por primera vez y desde entonces ha sido ampliamente usada en aplicaciones analíticas, primeramente se uso en la separación de pigmentos vegetales en distintas zonas coloreadas y de ahí su nombre.

En la actualidad hay una gran diversidad de métodos cromatográficos, sin embargo todos están dirigidos fundamentalmente a la separación de dos o más sustancias, la cual esta basada en la distribución de los componentes a separar entre dos fases, una móvil y otra estacionaria. La fase móvil puede ser un gas o un líquido y la fase estacionaria un líquido o un sólido. Cuando la fase estacionaria es un sólido esta se denomina cromatografía de absorción y cuando la fase estacionaria es un líquido se denomina cromatografía de reparto.

Un tipo particular de cromatografía de absorción es la llamada Cromatografía de Capa Fina (CCF), que adquirió una gran popularidad por su simplicidad, relativa economía y su rapidez en la obtención de resultados. [Browning, 1971 y Peckson, 1983].

#### 1.4.2. Error analítico.

En una determinación cuantitativa, los resultados obtenidos se ven afectados por cierto error, debido a que no es posible obtener el valor verdadero de una magnitud, aceptando como valor más probable, el promedio de una serie de determinaciones. [Cardone, 1983 y Thompson, 1980].

Por su naturaleza los errores se dividen en. errores sistemáticos y errores aleatorios.

Existe un error sistemático cuando el valor indica una tendencia a desviarse en una dirección con respecto al valor verdadero, y como consecuencia no se

puede compensar por cálculos estadísticos pero se puede prever, eliminar o disminuir. Las fuentes de este tipo de error son: Errores debidos a método, a instrumentos, a reactivos, errores personales y de operación.

Los errores aleatorios, se denominan errores indeterminados, puesto que carecen de valor, se cometen sin regularidad alguna y sus causas escapan al control que el analista pueda tener de ellos, pero es posible disminuirlos apreciablemente aumentando el número de observaciones, pues generalmente estos errores siguen una distribución normal como se puede observar en la figura 5, en donde el valor más probable de una serie de resultados es la media aritmética.

#### 1.4.3. Validación de métodos analíticos.

##### 1.4.3.1. Validación.

Para establecer si un determinado método analítico es capaz de producir resultados altamente confiables, éste es sometido a una prueba denominada validación. Este término, significa: reunir y documentar evidencia que proporcione un alto grado de seguridad de que un proceso (método), cumpla los propósitos para los cuales fue diseñado. Para el caso de métodos analíticos la evidencia consiste en determinar estadísticamente los siguientes parámetros.

[Guerra, 1986].

- ✓ Especificidad
- ✓ Linealidad del sistema de medición.
- ✓ Linealidad del método.
- ✓ Precisión y exactitud del método.
- ✓ Reproducibilidad del método.



### Curva de Distribución Normal

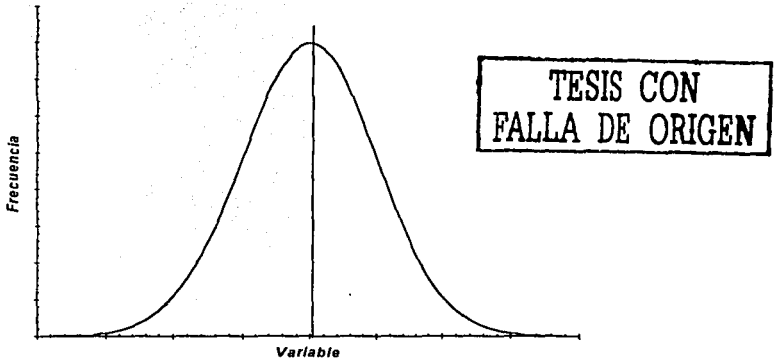


Figura 5. Curva de distribución Normal.

#### 1.4.3.2. Especificidad.

Determinar la habilidad que tiene el método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

#### 1.4.3.3. Linealidad del sistema o método analítico.

Determinar si los resultados analíticos, parámetros de medición o transformación matemática de éstos, tienen un comportamiento lineal en el rango de concentraciones utilizado.

#### 1.4.3.4. Precisión.

Determinar el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el método se aplica repetidamente.

Se denomina repetibilidad cuando las determinaciones se realizan bajo las mismas condiciones, mismo analista, mismo día y usando los mismos aparatos y técnicas.

Se denomina reproducibilidad cuando las determinaciones se realizan bajo diferentes condiciones: analista, equipo, laboratorio, día, etc.

Se evalúa conforme a la desviación estándar o el coeficiente de variación y de un análisis de varianza para factores anidados.

#### **1.4.3.5. Exactitud.**

Determina la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. [Hameker, 1986 y Vargas, 1990].

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La furaltadona base es un nitrofurano bactericida de amplio espectro, que se encuentra en un medicamento de uso veterinario.

Este medicamento está indicado para reducir la mortalidad clásica de los pollitos en los primeros 15 días de vida, para el control de infecciones bacterianas del aparato respiratorio que suelen presentarse después de las vacunaciones y para el tratamiento de la enfermedad respiratoria crónica complicada (infección de sacos aéreos) y de las salmonelosis (tifoidea aviar, pullorosis, y paratifoidea) en aves.

El medicamento es un polvo soluble en agua, de administración oral a dosis de 0.5 y 1.0 gramos por litro de agua de bebida. Sin embargo dada la baja solubilidad de la furaltadona base, 0.753 g/litro de agua, hacia que su manejo en las granjas avícolas presentara algunos problemas. La reformulación del producto empleando clorhidrato de furaltadona, cuya solubilidad es aproximadamente 88 veces más soluble que la furaltadona base, mejora la solubilidad del medicamento.

Demostrar que la nueva formula posee la estabilidad requerida evaluando su comportamiento mediante un estudio de estabilidad acelerada permitirá establecer el periodo durante el cual el medicamento conserva por lo menos el 90 % de su potencia como lo marca la especificación del mismo.

Para el estudio de estabilidad acelerada será necesario desarrollar y validar un método analítico.

Conjuntamente se desarrollara un método analítico de rutina que sea sencillo, rápido y confiable para la liberación de producto terminado por control de calidad.

### **3. OBJETIVOS**

1. Determinar el periodo de caducidad de la reformulación de clorhidrato de furaltadona, mediante el sometimiento de tres lotes de producto a condiciones extremas de temperatura (40 °C y 50 °C).
2. Desarrollar y validar un método analítico de CCF y espectrofotometría UV-Visible que será empleado en el estudio de estabilidad acelerada.
3. Desarrollar y validar un método analítico de espectrofotometría UV-Visible que será empleado como método de rutina para la liberación de lotes por control de calidad.

#### **4. HIPÓTESIS**

Sometiendo el medicamento a condiciones extremas de temperatura (40 °C y 50 °C), durante un periodo de tres meses, será posible obtener datos para calcular la constante de velocidad de reacción de acuerdo a la ecuación de Arrhenius y así calcular el periodo tentativo de caducidad, con el cual se pueda estimar la fecha de caducidad del producto.

## 5. MATERIAL Y MÉTODO

### 5.1. Material

Se trabajo con los siguientes materiales:

#### 5.1.1. Instrumentos.

- Espectrofotómetro, modelo Beckman DU-67
- Lámpara de luz UV de longitud de onda corta, Minegalight UVSL-25

#### 5.1.2. Equipos.

- Agitador, súper Mixer No. 1290
- Centrifuga, modelo Beckman TJ-6
- Estufa Thelco, modelo 19
- Estufas Caisa, modelo INC 2-42-TR

#### 5.1.3. Material de vidrio.

<u>Material</u>	<u>Capacidad</u>
➤ Matraz volumétrico	25, 100 y 1000 mL
➤ Pipetas graduadas	5 y 10 mL
➤ Vaso de precipitado	50 y 250 mL
➤ Microjeringa Hamilton	10 mcl
➤ Tubos para centrifuga de fondo cónico	15 mL
➤ Espátula cuchara, longitud 23 cm. no. 18.	
➤ Placas de cromatografía de capa fina, con silica gel F-254, de 5 X 20 cm. y espesor de capa de 0.25 mm.	

#### 5.1.4. Reactivos.

- Acetona, Baker Grado REACTIVO.
- Dimetilformamida, Baker Grado REACTIVO.
- Metanol, Baker, Grado REACTIVO.

## **5.2. Metodología**

Protocolos.

El trabajo experimental se realizó conforme al protocolo de validación de los métodos analíticos y al protocolo del estudio de estabilidad acelerada, que se dan a continuación:

**PROTOCOLO PARA LA VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS  
EMPLEADOS EN LA DETERMINACIÓN DE FURALTADONA EN EL  
PRODUCTO VETERINARIO, REFORMULADO**

**FORMA FARMACÉUTICA:** Polvo soluble.

**PRINCIPIO ACTIVO:** Clorhidrato de furaltadona.

**MÉTODO DE PRUEBA:** Se diseñarán dos métodos analíticos, uno para ser usado como método de rutina en control de calidad, método I, y otro para ser usado en el estudio de estabilidad acelerada, Método II.

**TÉCNICAS:**

- Método I: Espectrofotometría ultravioleta (UV).
- Método II: Espectrofotometría UV-Cromatografía de Capa Fina (CCF).

**EVALUACIONES:**

- I. Linealidad del sistema de medición.
- II. Especificidad.
- III. Exactitud.
- IV. Precisión: repetibilidad.  
reproducibilidad.
- V. Linealidad del método.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**PROCEDIMIENTO:**

- I. Longitud de onda de máxima absorción.

Se determinó la longitud de onda de máxima absorción realizando un barrido de longitudes de onda, desde, 200 hasta 460 nm, a una solución de clorhidrato de furaltadona en una concentración de 10 mcg/mL.

- II. Linealidad del sistema de medición.

Se registró la respuesta analítica del clorhidrato de furaltadona, absorbancia, a diferentes concentraciones. Estas fueron de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, y 20, mcg/mL, que se prepararon por disoluciones adecuadas a partir de una solución tipo estándar de clorhidrato de furaltadona en una concentración de 1.25 mg/mL.

- III. Lote placebo.



Para evaluar la especificidad, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad) y la linealidad de los métodos analíticos, se elaboraron 200 g de placebo, el cual consistió de la mezcla de excipientes, sin el principio activo, del producto a base de clorhidrato de furaltadona, reformulado, según la fórmula de fabricación.

#### IV. Especificidad.

La especificidad se realizó sometiendo muestras de placebo, placebo cargado (placebo más principio activo) y principio activo, a condiciones drásticas de temperatura, 178 °C por 7 hs, hasta obtener productos de degradación del principio activo; una vez detectados los productos de degradación, por CCF, se sometieron las muestras a los métodos para ver si se presentaban interferencias. También se sometieron al método muestras de placebo sin exposición previa a condiciones drásticas de temperatura.

#### V. Exactitud y repetibilidad.

Para evaluar la exactitud y la repetibilidad (precisión bajo las mismas condiciones) se hizo la determinación de 12 muestras independientes de placebo cargado, con una cantidad adicionada de principio activo de 100 mg.

#### VI. Reproducibilidad.

Para evaluar la reproducibilidad (precisión bajo diferentes condiciones) se incluyeron dos fuentes de variación que fueron: dos analistas y dos días; cada analista realizó la determinación de 6 muestras independientes de placebo cargado, con una cantidad adicionada del principio activo de 100 mg, en cada uno de los días.

#### VII. Linealidad de los métodos.

Para evaluar la linealidad de cada uno de los métodos, se trabajaron 4 grupos de cantidad adicionada, con tres muestras cada uno; las cantidades adicionadas fueron de 50, 85, 120 y 155 % de la cantidad empleada en los métodos, que correspondieron, también, a las cantidades de etiqueta.

**PROTOCOLO PARA EL ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADA DEL  
PRODUCTO VETERINARIO A BASE DE CLORHIDRATO DE FURALTADONA,  
REFORMULACIÓN**

**PRODUCTO:** Polvo soluble a base clorhidrato de furaltadona (reformulación)

**MATERIAL DE EMPAQUE:** Bolsa de polietileno transparente natural de  
aparición uniforme, sin perforaciones o material  
extraño. De las siguientes dimensiones: Largo:  
180.0 mm + 2.0 mm y Ancho: 90.0 + 2.0 mm.

**CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO:**

- Temperatura ambiente.
- Temperatura de 40 °C.
- Temperatura de 50 °C.

**PROGRAMA:**

- Temperatura ambiente: 0, 3, y 6 meses.
- Temperatura de 40 °C: 1, 2, 3, y 6 meses.
- Temperatura de 50 °C: 1, 2, 3, y 6 meses.

**PRUEBAS FÍSICAS:**

- I. Apariencia.
- II. Color.
- III. Olor.
- IV. Evaluación del empaque.
- V. Variación del peso.
- VI. pH.
- VII. Ensayo para furaltadona.

Los límites para las pruebas del producto veterinario a base de clorhidrato de furaltadona son:

- Apariencia: Polvo fino untuoso. Visualmente con ayuda de una espátula.
- Color: Amarillo claro pálido, distribuido homogéneamente. Visualmente con ayuda de una espátula

- Olor: Característico.
- pH: Se disolvió un gramo de polvo en 250 mL de agua, se agita y se determina pH en la solución. El pH debe estar entre 3.0 y 4.0.
- Evaluación del empaque: Se realizó visualmente para detectar alteraciones en la bolsa de polietileno, si presentaba fisuras, opacamiento o si había fuga de polvo.
- Variación de peso: Se realizó pesando 10 bolsas de cada lote a las tres temperaturas de almacenamiento, registrando los pesos durante el estudio de estabilidad.

Para el estudio de estabilidad se elaboraron tres lotes idénticos del producto veterinario a base de furaltadona; cada lote fue de aproximadamente 3.2 Kg., que se acondicionaron en las bolsas de polietileno conteniendo 100 g cada una. Cada lote se dividió en tres porciones una para cada condición de almacenamiento.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la investigación de las propiedades fisicoquímicas del clorhidrato de furaltadona, se obtuvo que presenta un máximo de absorción a aproximadamente  $363 \pm 2$  nm, como se observa en el espectrograma de absorción en la región ultravioleta-visible (figura 6).

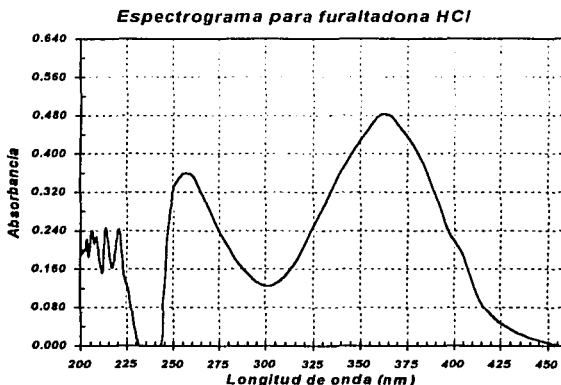


Figura 6. Espectrograma de absorción UV-VIS, para la furaltadona HCl.

Con base a esta propiedad se desarrollaron dos métodos analíticos; el primero (método I), para ser utilizado como método de análisis de rutina en control de calidad, el segundo (método II) será utilizado en el estudio de estabilidad acelerada, el cual incluye una separación por cromatografía de capa fina (CCF), como método indicativo de estabilidad. Ambos métodos se esquematizan en el diagrama de flujo I (figura 7).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

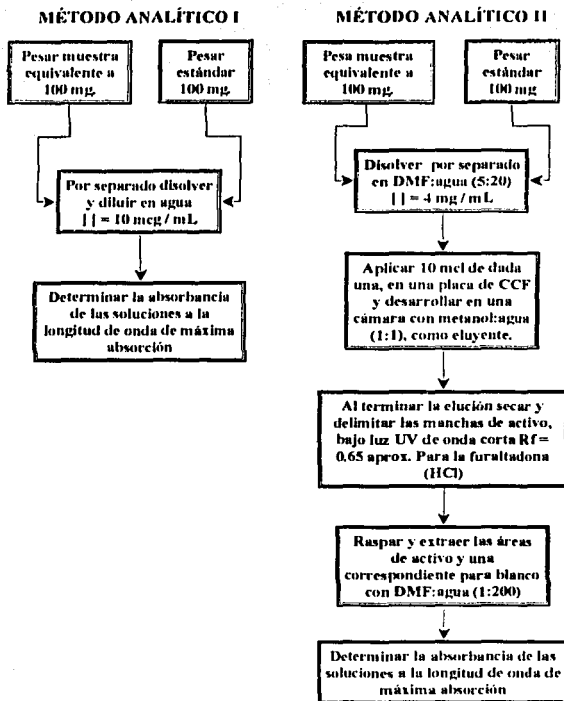


Figura 7. Diagrama de flujo para los métodos analíticos empleados.

## 6.1. Validación del método analítico I.

### 6.1.1. Linealidad del sistema de medición.

Para iniciar la validación de los métodos analíticos, se verificó la linealidad del sistema de medición, los resultados se muestran en la tabla 1 y figura 8. El análisis de correlación lineal de los resultados muestra que el sistema de medición, la absorbancia, tiene un comportamiento lineal en el rango de

concentraciones de 2.0 µg/mL a 20 µg/mL. Lo que significa que el clorhidrato de furaltadona cumple con la ley de Lambert-Beer para fenómenos de absorción de radiación monocromática.

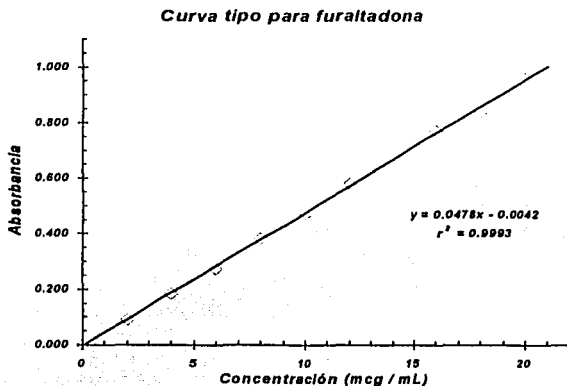


Figura 8. Curva patrón para linealidad del sistema de medición.

Tabla 1. Linealidad del sistema de medición.  
Absorbancia a diferentes concentraciones de estándar.

Número Solución	Concentración [mcg/mL]	Absorbancia
1	0.0	0.000
2	2.0	0.091
3	4.0	0.185
4	6.0	0.274
5	8.0	0.382
6	10.0	0.470
7	12.0	0.580
8	16.0	0.770
9	18.0	0.839
10	20.0	0.959
Ordenada al origen		A = -0.0042
Pendiente		B = 0.0478
Coeficiente de determinación		$r^2 = 0.9991$

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

### 6.1.2. Especificidad.

En la evaluación de la especificidad del método I, la figura 9, representa el espectrograma de absorción (de 200 nm a 460 nm) para una muestra de placebo en la cual se observa que no hay interferencia por parte de los excipientes a la longitud de onda analítica,  $363 \pm 2$  nm.

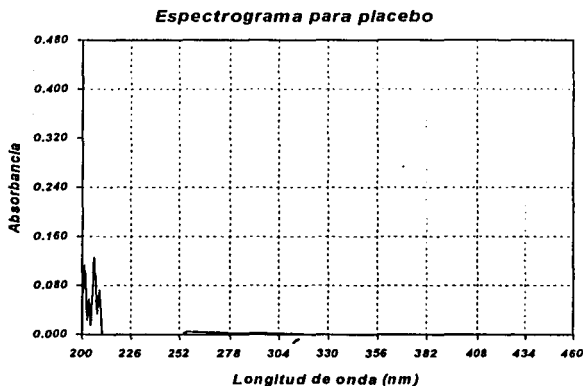
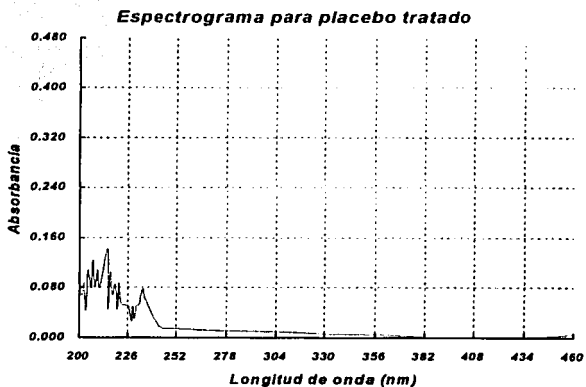


Figura 9. Espectrograma de absorción UV-VIS para el placebo.

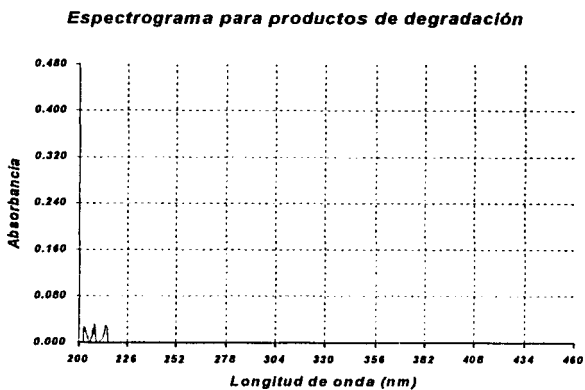
Para evaluar la especificidad frente a posibles productos de degradación; se sometieron muestras de placebo, placebo cargado y principio activo a condiciones drásticas ( $178\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 6 horas) para su degradación. La apariencia física de las muestras cambió ligeramente sólo en color. La figura 10, muestra que el espectrograma de absorción para el placebo tratado no presenta absorción a la longitud de onda analítica,  $363 \pm 2$  nm.

Para la observación de productos de degradación en las muestras tratadas de placebo, placebo cargado y principio activo, se realizó una separación por CCF, después de concentrar la mancha por aplicaciones repetidas, los productos de degradación aparecieron como manchas café oscuro con un  $R_f = 0.0$ . Estas manchas fueron extraídas con DMF-agua para realizar un espectrograma de absorción. Los productos de degradación no dan respuesta a  $360 \pm 2$  nm.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



**Figura 10. Espectrograma de absorción para el placebo tratado.**



**Figura 11. Espectrograma de absorción para los productos de degradación.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



### 6.1.3. Exactitud y repetibilidad.

La tabla 2, muestra los resultados para la evaluación de la exactitud y repetibilidad del método I; la cual se hizo a un solo nivel, realizando el análisis de 12 muestras individuales. Para la repetibilidad se realizó una prueba de hipótesis acerca de la desviación estándar poblacional ( $\sigma$ ), utilizando como estadígrafo de contraste la distribución ji cuadrada ( $\chi^2$ ).

Los resultados del análisis estadístico se muestran en la tabla 3, como el valor de  $\chi^2_c$  es menor que el de  $\chi^2_1$ , se acepta la hipótesis de prueba ( $H_0$ ) y el método tiene una variación menor al 1 %, con un intervalo de confianza para la desviación estándar poblacional de:  $IC_n = [0.32 \%, 0.76 \%]$ . Lo anterior indica que el método analítico I es repetible, preciso bajo las mismas condiciones de trabajo.

**Tabla 2. Validación del método analítico I.  
Evaluación de la exactitud y la repetibilidad.**

Cantidad Adicionada (mg)	Cantidad Recuperada (mg)	% recuperación
100.0	99.38	99.38
100.0	99.38	99.38
100.0	100.41	100.41
100.0	100.21	100.21
100.0	100.21	100.21
100.0	99.79	99.79
100.0	100.21	100.21
100.0	100.21	100.21
100.0	100.41	100.41
100.0	100.41	100.41
100.0	99.18	99.18
100.0	100.21	100.21
% de recuperación promedio (RP)		100.0008
Varianza $S^2$		0.2009
Desviación estándar (S)		0.4482
Coeficiente de variación (CV)		0.44 %

Para la exactitud se realizó una prueba de hipótesis acerca de la media de una población ( $\mu$ ), utilizando como estadígrafo de contraste la distribución "t" de Student. Del análisis estadístico se tiene que el valor de  $t_c$  es menor que el de  $t_r$ , aceptándose la hipótesis de prueba ( $H_0$ ) y el método es exacto, con un

intervalo de confianza para la media de la población de  $IC_{\mu} = 100.0008 \pm 0.2848$  %.

**Tabla 3. Evaluación estadística de la precisión y exactitud del método analítico I.**

Parámetro evaluado	Hipótesis de prueba	Estadígrafo de contraste Calculado	Tablas
Precisión	$H_0: \sigma \leq 1 \%$ $H_a: \sigma > 1 \%$	$\chi^2_c = 2.210$	$\chi^2_{1,21.92}$
Exactitud	$H_0: \mu = 100 \%$ $H_a: \mu \neq 100 \%$	$t_c = 0.0064$	$t_{\tau} = 2.2010$
Regla de decisión: El estadígrafo de contraste calculado es menor que el de tablas. $H_0$ no se rechaza Nivel de confianza = 95 %			

#### 6.1.4. Linealidad del método.

En la tabla 4 y figura 12, la linealidad del método se evaluó para cuatro niveles que abarcan cantidades adicionadas 50 mg. a 155 mg., es decir del 50 % al 155 % de la cantidad utilizada en la técnica analítica, (100 mg). Del análisis de regresión se obtienen los parámetros: Ordenada al origen (A) y Pendiente (B) acerca de los cuales se realizaron las pruebas de hipótesis (tabla 5), utilizando como estadígrafo de contraste la distribución "t" de Student.

El análisis estadístico, tabla 5, presento que valores de  $|t_A|$  y  $|t_B|$  son menores que el valor de  $t_{\tau}$ , no encontrando elementos suficientes para rechazar la hipótesis nula. Por lo anterior se considera que el comportamiento de los datos en la muestra se explica por un modelo de regresión lineal simple. El intervalo de confianza para la ordenada al origen es de:  $IC_A = 0.4858 \pm 1.8069$ , el intervalo de confianza para la pendiente es de:  $IC_B = 0.9971 \pm 0.0165$  y con un coeficiente de determinación de:  $r^2 = 0.9998$ .

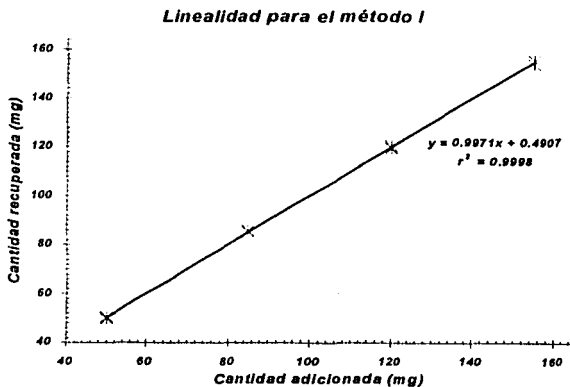


Figura 12. Evaluación de la linealidad para el método I.

**Tabla 4. Validación del método analítico I.**  
**Evaluación de la linealidad del método I.**

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)
50.0	49.80
50.0	50.20
50.0	50.41
85.0	85.37
85.0	85.77
85.0	85.77
120.0	119.92
120.0	120.53
120.0	119.51
155.0	154.07
155.0	155.49
155.0	155.49
Ordenada al origen (intercepto):	A = 0.4858
Pendiente:	B = 0.9971
Coefficiente de determinación:	$r^2 = 0.9998$

Tabla 5. Evaluación estadística de la linealidad del Método I.

Parámetro Evaluado	Hipótesis de prueba	Estadígrafo de contraste.	
		Calculado	Tablas
A	$H_0: A_0 = 0.0$ $H_a: A_0 \neq 0.0$	$t_c = 0.5990$	$t_r = 2.2281$
B	$H_0: B_0 = 1.0$	$t_c = 0.3929$	$t_r = 2.2281$
Regla de decisión: Si estadígrafo de contraste calculado es menor que el de tablas $H_0$ no se rechaza. Nivel de Confianza = 95 %			

### 6.1.5. Reproducibilidad del método.

Para la evaluación de la reproducibilidad del método, se introdujeron dos fuentes de error; uno fue el analista y el otro el día de análisis. Los resultados se muestran en la tabla 6, de los cuales se realizó un análisis de varianza (tabla 7), utilizando como estadígrafo de contraste la distribución F de Fisher.

De la tabla de análisis de varianza se observa que los valores de  $F_c$  son menores que sus valores respectivos de  $F_r$ , para cada una de las fuentes de error. El método es reproducible por los analistas y en distintos días por un mismo analista; es decir que estas fuentes de error no influyen significativamente sobre los resultados obtenidos por el método analítico.

Tabla 6. Validación de método analítico I.  
Evaluación de la reproducibilidad.

		Analista	
		1	2
Día	1	99.59	100.82
		100.41	101.22
		100.20	101.02
		100.20	101.02
		99.59	100.41
	100.41	101.22	
	2	100.00	101.69
		100.41	103.38
		100.00	102.11
		100.00	100.63
100.41		103.38	
100.41	99.16		

Las cantidades representan % de recuperación

Tabla 7. Evaluación de la reproducibilidad para el método I.

Tabla de ANADEV.

Fuente de error	Grados de Libertad	S. C	M. C	Fc	$F_{T(0.95, 1, 1)}$
Analista ( $\alpha_i$ )	(i-1) 1	8.6760	8.6760	9.37	38.51
Día ( $\beta_{ij}$ )	(j-1) 2	1.8515	0.9258	1.25	4.46
Error experimental ( $\epsilon_{kij}$ )	(k-1) 20	14.847	0.7424		
Total	23				

Nivel de confianza = 95 %

## 6.2. Validación del método analítico II.

### 6.2.1. Especificidad.

Para la especificidad del método II, en la tabla 8, se muestran los valores de  $R_f$  encontrados para el placebo, placebo cargado y principio activo, sin someter a condiciones de degradación y sometiéndolos a 178 °C por 7 hs.

El placebo presenta 2 manchas, una es la de los excipientes  $R_f = 0.0$  y la otra corresponde al colorante utilizado en la formulación,  $R_f 0.85 \pm 0.02$ .

El principio activo muestra un  $R_f = 0.65 \pm 0.02$ .

Tabla 8. Especificidad para el método II. Evaluación de la separación de productos por cromatografía de capa fina.

Muestra	Manchas presentes	$R_f$
Placebo	2	0.00
		0.85-0.87
P a	1	0.65-0.70
		0.00
Placebo cargado	3	0.65-0.70
		0.85-0.87
		0.00
P.a.*	2	0.65-0.70
		0.00
Placebo *	2	0.85-0.87
		0.00
Placebo cargado *	3	0.65-0.70
		0.85-0.87
		0.00

P a = Principio activo

\* Muestra sometida a 178 °C por 6 horas

De las muestras sometidas a degradación, el principio activo muestra una mancha adicional,  $R_f = 0.0$ , de color café oscuro, que se observa mejor cuando en la aplicación se concentra la mancha, esta corresponde a productos de

degradación. Esta mancha se observa también en el placebo y en el placebo cargado

Todas las manchas encontradas están perfectamente separadas, Así que no hay interferencias para el método II.

### 6.2.2. Exactitud y repetibilidad.

La evaluación se realizó a un solo nivel, con el análisis de 12 muestras individuales, tabla 9. Para la repetibilidad se realizó una prueba de hipótesis acerca de la desviación estándar poblacional ( $\sigma$ ), utilizando como estadígrafo de contraste la distribución ji cuadrada ( $\chi^2$ ).

**Tabla 9. Validación del método analítico II.  
Evaluación de la exactitud y la repetibilidad.**

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% de recuperación
100.0	100.35	100.35
100.0	100.35	100.35
100.0	99.65	99.65
100.0	104.58	104.58
100.0	100.00	100.0
100.0	101.41	101.41
100.0	99.65	99.65
100.0	99.30	99.3
100.0	98.94	98.94
100.0	104.58	104.58
100.0	100.00	100.0
100.0	102.46	102.46
% de recuperación promedio (RP)		100.94
Varianza ( $S^2$ )		3.7738
Desviación estándar (S)		1.9426
Coeficiente de variación		1.92 %

Para la exactitud se realizó una prueba de hipótesis acerca de la media de una población ( $\mu$ ), utilizando como estadígrafo de contraste la distribución "t" de Student.

El análisis estadístico, tabla 10, muestra que el método es repetible, su variación es menor a 2 % - el valor de  $\chi^2_c$  es menor que el de  $\chi^2_{1-}$  y el intervalo de confianza para la desviación estándar poblacional es de:  $IC_{\alpha} = [1.40 \%, 3.30 \%]$ .

Además el método es exacto - el valor de  $t_c$  es menor que el de  $t_T$  - con un intervalo de confianza para la media de la población de  $IC_{\mu} = 100.94 \pm 1.23 \%$ .

Tabla 10. Evaluación estadística de la precisión y exactitud del método analítico II.

Parámetro evaluado	Hipótesis de prueba	Estadígrafo de contraste Calculado	Tablas
Precisión	$H_0: \sigma \leq 1 \%$ $H_a: \sigma > 1 \%$	$\chi^2_c = 10.378$	$\chi^2_1 = 21.92$
Exactitud	$H_0: \mu = 100 \%$ $H_a: \mu \neq 100 \%$	$t_c = 1.6747$	$t_T = 2.2010$
Regla de decisión. El estadígrafo de contraste calculado es menor que el de tablas. $H_0$ no se rechaza. Nivel de confianza = 95 %			

### 6.2.3. Linealidad del método.

Se evaluó la linealidad para cuatro niveles, cada nivel por triplicado; las cantidades adicionadas abarcan del 50 % al 155 % de la cantidad utilizada en la técnica analítica (100 mg), los resultados se muestran en la tabla 11 y figura 13. Del análisis estadístico de los datos, tabla 12, se obtuvo que el método es lineal; los valores de la pendiente y la ordenada al origen de una población ( $B_0$  y  $A_0$ , respectivamente) en las hipótesis de probar no son rechazados, ya que los estadígrafos calculados  $|t_A|$  y  $|t_B|$  son menores que el valor de  $t_T$ . El intervalo de confianza para la ordenada al origen es:  $IC_A = -3.9279 \pm 4.1225$  y para la pendiente es:  $IC_B = 1.0322 \pm 0.0376$ , el coeficiente de determinación es:  $r^2=0.9977$ .

### Linealidad para el método II

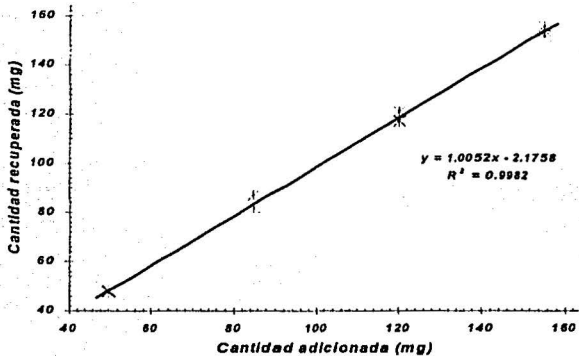


Figura 13. Evaluación de la linealidad para el método II.

Tabla 11. Validación del método analítico II  
Evaluación de la linealidad del método II.

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)
50.0	48.19
50.0	47.59
50.0	47.89
85.0	81.93
85.0	81.93
85.0	87.05
120.0	120.78
120.0	116.87
120.0	117.17
155.0	153.61
155.0	151.81
155.0	155.42
Ordenada al origen (intercepto)	A = -2.1758
Pendiente	B = 1.0052
Coefficiente de determinación	r <sup>2</sup> = 0.9982



Tabla 12. Evaluación estadística de la linealidad del Método II.

Parámetro Evaluado	Hipótesis de prueba	Estadígrafo de contraste.	
		Calculado	Tablas
A	$H_0: A_0 = 0.0$ $H_A: A_0 \neq 0.0$	$t_c = 2.1229$	$t_r = 2.2281$
B	$H_0: B_0 = 1.0$	$t_c = 1.9687$	$t_r = 2.2281$

Regla de decisión: Si estadígrafo de contraste calculado es menor que el de tablas  $H_0$  no se rechaza. Nivel de Confianza = 95 %

#### 6.2.4. Reproducibilidad del método.

Para evaluar la precisión bajo diferentes condiciones, analista y día, se realizó un análisis de varianza con los resultados de la tabla 13.

Tabla 13. Validación de método analítico II.  
Evaluación de la reproducibilidad.

		Analista	
		1	2
Día	1	100.58	100.00
		98.55	101.54
		100.29	100.62
		100.29	100.00
		100.58	100.92
	2	101.71	102.06
		100.00	101.18
		100.57	101.77
		100.00	101.47
		100.00	101.47

Las cantidades representan % de recuperación.

Del análisis de varianza, tabla 14, se obtiene que el método es reproducible por los analistas y en distintos días por un mismo analista; es decir que estas fuentes de error no influyen significativamente sobre los resultados obtenidos por el método analítico.

Tabla 14. Evaluación de la reproducibilidad para el método II.  
Tabla de ANADEV.

Fuente de error	Grados de Libertad	S C	M C	F <sub>c</sub>	F <sub>r</sub> F <sub>(0.95, 1, 1)</sub>
Analista ( $\alpha$ )	(i-1) 1	3 5786	3 5786	2 59	38 51
Día ( $\beta_{(j)}$ )	(j-1) 2	2 7677	1 3838	3 04	4 46
Error experimental ( $\epsilon_{k(ij)}$ )	(k-1)ij 16	7 2913	0 4557		
Total	23				

Nivel de confianza = 95 %

### 6.3. Estudio de estabilidad acelerada.

#### 6.3.1. Elaboración de los lotes de prueba.

Se elaboraron tres lotes de prueba de 3.0 Kg, cada uno. Estos se empaclaron en bolsas de plástico conteniendo cada una 100 g. Cada lote se dividió en tres partes para almacenarlas a las temperaturas de prueba: temperatura ambiente, 40 °C y 50 °C.

#### 6.3.2. Evaluación de las pruebas físicas.

La evaluación de las pruebas físicas se realizó al tiempo cero y en las fechas establecidas para el análisis de muestras. Los resultados globales se muestran en la tabla 15, en donde se observa que el producto no cambio su apariencia física en ninguna de las temperaturas durante todo el estudio.

**Tabla 15. Estudio de estabilidad acelerada.  
Resultados de las pruebas físicas para todo el tiempo de estudio.**

Prueba	t.a	40 °C	50 °C
Apariencia	Polvo fino untuoso	Polvo fino untuoso	Polvo fino untuoso
Color	Amarillo claro	Amarillo claro	Amarillo claro
Olor	Característico	Característico	Característico
Evaluación del empaque	Correcto	Correcto	Correcto
Variación de peso	100 ± 5 g	100 ± 5 g	100 ± 5 g
pH	3.0 - 4.0	3.0 - 4.0	3.0 - 4.0

#### 6.3.3. Estudio de estabilidad acelerada.

En las tablas 16, 17 y 18, se dan los resultados del análisis de las muestras extraídas a los diferentes tiempos durante el estudio de estabilidad, para las temperaturas: ambiente, 40 °C y 50 °C, respectivamente.

**Tabla 16. Estudio de estabilidad acelerada.**

**Porcentaje de activo no degradado. Temperatura ambiente.**

Tiempo (días)	Porcentaje no degradado			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	100.00	100.00	100.00	100.00
90	101.17	101.21	99.56	100.65
180	100.53	100.96	100.37	100.62
435	98.65	98.99	98.40	98.68
Análisis de regresión para los resultados:				
Ordenada al origen:			100.646	
Pendiente:			-0.00375	
Coeficiente de determinación $r^2$ :			0.5814	

**Tabla 17. Estudio de estabilidad acelerada.**

**Contenido de activo no degradado. Temperatura 40 ° C.**

Tiempo (días)	Porcentaje no degradado			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	100.00	100.00	100.00	100.00
30	101.76	100.23	101.46	101.15
90	101.61	101.07	101.20	101.31
180	100.53	99.88	101.05	100.49
435	99.20	97.48	99.58	98.75
Análisis de regresión para los resultados:				
Ordenada al origen:			101.006	
Pendiente:			-0.00451	
Coeficiente de determinación $r^2$ :			0.5975	

**Tabla 18. Estudio de estabilidad acelerada.**

**Contenido de activo no degradado. Temperatura 50 ° C.**

Tiempo (días)	Porcentaje no degradado			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	100.00	100.00	100.00	100.00
30	102.70	102.26	101.78	102.25
90	102.46	100.21	99.31	100.66
180	100.55	98.93	101.24	100.24
435	98.87	94.99	98.62	97.49
Análisis de regresión para los resultados:				
Ordenada al origen:			101.255	
Pendiente:			-0.00806	
Coeficiente de determinación $r^2$ :			0.7084	

En la tabla 19 y la figura 14, se muestran los resultados promedio de los tres lotes para cada una de las temperaturas de prueba y se observa como los resultados aunque dispersos mantienen cierta relación lineal entre ellos (del 60 al 70 %). Esto significa que la velocidad de degradación ( $dc / dt$ ) podría seguir una cinética de orden cero, del tipo:

$$\frac{dC}{dt} = -k$$

fórmula (4)

que expresado en forma lineal sería:

$$C = C_0 - (k * t)$$

fórmula (5)

donde: C = Cantidad de fármaco sin degradar

C<sub>0</sub> = Cantidad de fármaco inicial

k = Constante de velocidad de reacción

t = tiempo

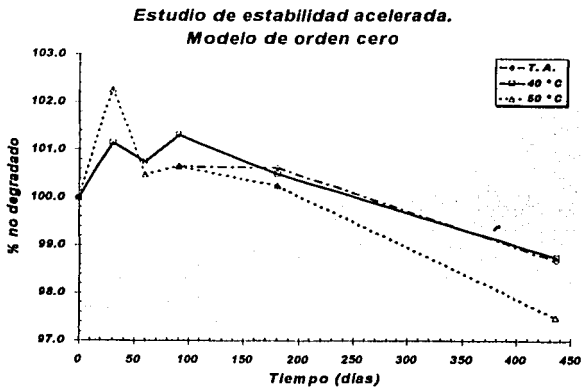


Figura 14. Resultados promedio para un modelo de orden cero.

**Tabla 19. Resultados promedio de los lotes para cada temperatura. Para un modelo de orden cero.**

Tiempo (días)	Porcentaje no degradado		
	Temperatura		
	Ambiente	40 °C	50 °C
0	100.00	100.00	100.00
30	*	101.15	102.25
60	*	100.75	100.48
90	100.65	101.31	100.66
180	100.62	100.49	100.24
435	98.68	98.75	97.49
Análisis de regresión para los resultados			
C <sub>0</sub>	100.646	101.006	101.255
K * 10 <sup>-3</sup>	-3.75	-4.51	-8.06
r <sup>2</sup>	0.5814	0.5975	0.7084
C <sub>0</sub> = Ordenada al origen K = pendiente r <sup>2</sup> = Coeficiente de determinación * = no evaluado			

En la tabla 20 y figura 15, se muestran los resultados suponiendo que el modelo cinético fuera de primer orden, donde la velocidad de degradación ( $dC / dt$ ) es directamente proporcional a la cantidad de fármaco presente (C):

$$\frac{dC}{dt} = -(k * t) \quad \text{fórmula (6)}$$

que expresado en forma lineal sería:

$$\ln C = \ln C_0 - (k * t) \quad \text{fórmula (7)}$$

donde:  $\ln C$  = Logaritmo natural de la Cantidad de fármaco sin degradar

$\ln C_0$  = Logaritmo natural de la Cantidad de fármaco inicial

$k$  = Constante de velocidad de reacción

$t$  = tiempo

se observa que los datos aunque dispersos tienen cierta relación lineal, (del 60 al 70 %).

**Estudio de estabilidad acelerada.  
Modelo de primer orden**

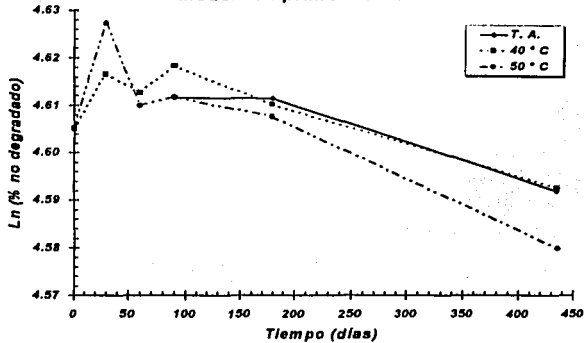


Figura 15. Resultados promedio para un modelo de primer orden.

Tabla 20. Resultados promedio de los lotes para cada temperatura. Para un modelo de primer orden.

Tiempo (días)	Logaritmo natural del % no degradado		
	Ambiente	40 °C	50 °C
0	4.6052	4.6052	4.6052
30	*	4.6166	4.6274
60	*	4.6126	4.6100
90	4.6116	4.6182	4.6117
180	4.6114	4.6101	4.6076
435	4.5919	4.5926	4.5798
Análisis de regresión para los resultados			
C <sub>0</sub>	4.6116	4.6152	4.6177
K * 10 <sup>-5</sup>	-3.77	-4.52	-5.85
r <sup>2</sup>	0.5836	0.8002	0.7139
In C <sub>0</sub> = Ordenada al origen K = pendiente r <sup>2</sup> = Coeficiente de determinación * = no evaluado			

Transformando los datos a un modelo cinético de segundo orden donde la velocidad de degradación (dC / dt) es directamente proporcional al cuadrado de la concentración de fármaco:

$$\frac{dC}{dt} = -(k * C^2)$$

fórmula (8)

que en forma lineal sería:

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_0} + (k * t) \quad \text{fórmula (9)}$$

donde:  $1 / C$  = Recíproco de la Cantidad de fármaco sin degradar

$1 / C_0$  = Recíproco de la Cantidad de fármaco inicial

$k$  = Constante de velocidad de reacción

$t$  = tiempo

Se observa en la tabla 21 y figura 16, que los resultados, al igual que en los dos modelos anteriores, guardan cierta relación lineal, esto significa que la degradación podría seguir una cinética de segundo orden.

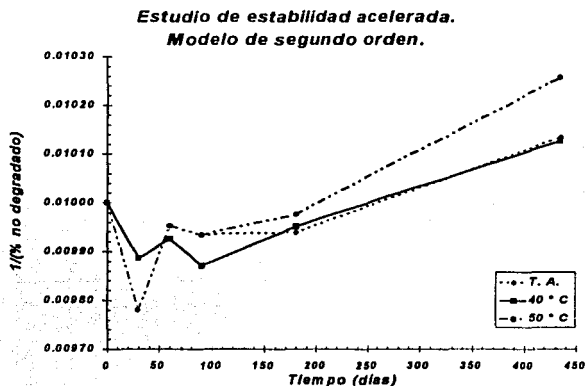


Figura 16. Resultados promedio para un modelo de segundo orden.

**Tabla 21. Resultados promedio de los lotes para cada temperatura. Para un modelo de segundo orden.**

Tiempo (días)	Recíproco del % no degradado Temperatura		
	Ambiente	40 °C	50 °C
0	0.01000	0.01000	0.01000
30	-	0.00988	0.00978
60	-	0.00992	0.00995
90	0.00993	0.00987	0.00993
180	0.00993	0.00995	0.00997
435	0.01013	0.01012	0.01025
Análisis de regresión para los resultados			
1 / C <sub>0</sub>	0.00993	0.00990	0.00987
K * 10 <sup>7</sup>	3.52	4.53	8.18
r <sup>2</sup>	0.5857	0.6028	0.7192
C <sub>0</sub> = Ordenada al origen K = pendiente r <sup>2</sup> = Coeficiente de determinación * = no evaluado			

En la tabla 22, se resumen los resultados del Análisis de los datos para cada una de los modelos cinéticos (orden cero, primer orden y segundo orden).

**Tabla 22. Resumen de los parámetros cinéticos. De acuerdo a la ecuación de Arrhenius, en donde se muestra el efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción.**

Modelo de reacción	Parámetros cinéticos	Temperatura de estudio		
		20 ° C	40 ° C	50 ° C
Orden cero	C <sub>0</sub>	100.646	101.006	101.255
	k	3.7 X 10 <sup>-3</sup>	4.5 X 10 <sup>-3</sup>	8.0 X 10 <sup>-3</sup>
	r <sup>2</sup>	0.5814	0.5975	0.7084
Primer orden	ln C <sub>0</sub>	4.61164	4.6152	4.6177
	k	3.77 X 10 <sup>-5</sup>	4.52 X 10 <sup>-5</sup>	5.85 X 10 <sup>-5</sup>
	r <sup>2</sup>	0.5835	0.6002	0.7139
Segundo orden	1 / C <sub>0</sub>	9.93 X 10 <sup>-3</sup>	9.90 X 10 <sup>-3</sup>	9.87 X 10 <sup>-3</sup>
	K	3.52 X 10 <sup>7</sup>	4.53 X 10 <sup>7</sup>	8.18 X 10 <sup>7</sup>
	r <sup>2</sup>	0.5857	0.6028	0.7192

Como se observa la relación entre la variable independiente (tiempo) y la variable dependiente (concentración o cantidad de fármaco no degradado) es parecida para cada uno de los modelos; también se observa como el coeficiente de determinación es bajo para cada modelo en cada temperatura, sin embargo hay una cierta linealidad en los resultados, entre el 0.60 y el 0.070. Esto puede ser explicado por el hecho de que los resultados se encuentran al inicio de las curvas correspondientes para cada modelo cinético, que en sus inicios puede considerarse lineal (Figura 17).



### Modelos de reacción

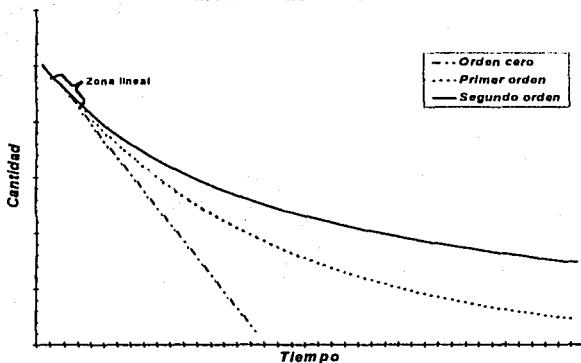


Figura 17. Representación gráfica de los modelos de reacción.

donde:

k = Constante de velocidad de reacción.

A = Constante conocida como factor de frecuencia.

E<sub>a</sub> = Energía de activación de Arrhenius.

R = Constante para los gases.

T = Temperatura absoluta.

Transformando la anterior ecuación en su forma lineal se tiene lo siguiente:

$$\ln K = \ln A - \left[ \left( \frac{E_a}{R} \right) * \frac{1}{T} \right] \quad \text{fórmula (10)}$$

Con base a lo anterior en la tabla 23, se muestra la relación existente entre la constante de velocidad determinada para cada modelo cinético y la temperatura absoluta. Se puede observar que el modelo cinético con mejor linealidad (0.9471) es el modelo de primer orden.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Tabla 23. Relación existente entre la constante de velocidad y la temperatura según la ecuación de Arrhenius.**

**Para cada modelo cinético.**

Temperatura * K	Orden cero	1er. Orden	2do. Orden
298.15	$-3.75 \times 10^{-3}$	$-3.77 \times 10^{-3}$	$3.52 \times 10^{-7}$
313.15	$-4.51 \times 10^{-3}$	$-4.52 \times 10^{-3}$	$4.53 \times 10^{-7}$
323.15	$-8.06 \times 10^{-3}$	$-5.85 \times 10^{-3}$	$8.18 \times 10^{-7}$
Parámetros de la ecuación			
ln A	3.6680	-4.7030	-4.5806
Ea/R	-2780.8	-1641.6	-3084.4
r	0.8304	0.9471	0.8730

Así pues como los resultados se ajustan mas a una cinética de primer orden con una constante de velocidad de  $-3.77 \times 10^{-3}$ , con la cual se calcula el tiempo que tarda en disminuir la potencia a un 90 % obteniendo un periodo de 7.8 años; es decir que el medicamento tiene un periodo de caducidad de aproximadamente 8 años, esto indica que el medicamento tiende a ser estable a temperatura ambiente.

## 7. CONCLUSIONES

Como resultado del presente trabajo se llegaron a las siguientes conclusiones:

1. Respecto a la investigación de las propiedades del clorhidrato de furaltadona, se desarrollaron los métodos analíticos I y II, basados en la propiedad que tiene la sustancia de absorber la luz, así los métodos utilizan la técnica de la espectrofotometría ultravioleta-visible. El método II además utiliza la técnica de cromatografía de capa fina, como técnica de separación para posibles productos de degradación.
2. La validación del método espectrofotométrico I, para clorhidrato de furaltadona, mostró que estadísticamente éste reúne las características de especificidad, linealidad, precisión y exactitud, requeridas para el análisis de rutina del producto en control de calidad.
3. La validación del método espectrofotométrico II, para clorhidrato de furaltadona, como método para ser utilizado en el estudio de estabilidad acelerada, mostró que estadísticamente este cumple con las características de especificidad, linealidad, precisión y exactitud requeridas para el análisis del producto.

Para el estudio de estabilidad acelerada realizado en el producto reformulado se encontró lo siguiente:

4. Los resultados muestran una linealidad de entre el 0.5857 y 0.7192 para cada uno de los modelos cinéticos, que puede deberse a que los resultados obtenidos se encuentran dentro de la etapa inicial en la curva respectiva, para cada uno de los modelos cinéticos. (Figura 17, página 47).
5. El Análisis posterior para la constante de velocidad en relación con la temperatura (según la ecuación de Arrhenius) mostró que el modelo de primer orden es el que mejor se ajusta a los resultados. Linealidad del 0.9471.
6. El periodo de caducidad del medicamento, estimada siguiendo una cinética de primer orden de acuerdo a la ecuación de Arrhenius, es de aproximadamente 8 años.

## **8. SUGERENCIAS**

Ampliar el estudio de estabilidad utilizando otros parámetros. La luz, podría ser otro parámetro para el estudio, debido a que está reportado que los nitrofuranos son sensibles a la luz, sin embargo esta estabilidad fotolítica es reportada en solución acuosa y a valores de pH altos (medios básicos).

Sería recomendable realizar el estudio como lo marca la norma NOM-073-SSA1-1993, "Estabilidad de medicamentos", pues información técnica del activo menciona una relativa estabilidad del activo a la temperatura y a la humedad además de que se reporta que algunos nitrofuranos como la nitrofurantoina presentan una gran estabilidad en forma de tableta y de suspensión, [Foley, K., 1976].

Es recomendable tratar de desarrollar un método de análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución para poder identificar trazas de productos de degradación si se presentaran, pues como se ha mencionado el activo es estable a la temperatura y posiblemente la CCF, no sea el método adecuado para detectar las posibles trazas de productos de degradación.

**ESTA TESIS NO SALI  
DE LA BIBLIOTECA**

## ANEXO A

### Glosario

- A = ordenada al origen.
- B = pendiente.
- CV = coeficiente de variación.
- = media poblacional.
- $F_c$  = percentil para una distribución del tipo "F" de Fisher, calculado a partir de una muestra.
- $F_T$  = percentil para una distribución del tipo "F" de Fisher, para una probabilidad de acierto de  $(1 - K/2)$ , obtenido de tablas.
- $H_a$  = hipótesis alterna.
- $H_o$  = hipótesis de prueba.
- $IC_A$  = intervalo de confianza para la ordenada al origen.
- $IC_B$  = intervalo de confianza para la pendiente.
- $IC_\mu$  = intervalo de confianza para la media poblacional.
- $IC_\sigma$  = intervalo de confianza para la desviación estándar poblacional.
- $\chi^2_T$  = percentil para una distribución del tipo "ji-cuadrada", para una probabilidad de acierto de  $(1 - K/2)$ , obtenido de tablas.
- $\chi^2_c$  = percentil para una distribución del tipo "ji-cuadrada", calculado a partir de una muestra.
- M.C. = media de cuadrados.
- K = probabilidad de que una estimación este fuera de una distribución dada.
- N = desviación estándar poblacional.
- $\sigma$  = varianza poblacional.
- r = coeficiente de correlación.
- $r^2$  = coeficiente de determinación.
- SC = suma de cuadrados.

S = desviación estándar de la muestra.

S<sup>2</sup> = varianza de la muestra.

|t<sub>A</sub>| = valor absoluto del percentil para una distribución tipo "t" de student calculada para la ordenada al origen.

|t<sub>B</sub>| = valor absoluto del percentil para una distribución tipo "t" de student calculada para la pendiente.

t<sub>c</sub> = percentil para una distribución tipo "t" de student calculada a partir de una muestra.

t<sub>τ</sub> = percentil para una distribución tipo "t" de student calculada a partir de una muestra, para una probabilidad de acierto de (1 - α / 2), obtenido de tablas.

ȳ = media de la muestra.

#### **Modelo para la precisión del método**

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{j(i)} + \varepsilon_{k(ij)}$$

Y<sub>ijk</sub> = Recobro experimental por el i-ésimo analista en el j-ésimo día de la k-ésima repetición.

μ = Media poblacional

α<sub>i</sub> = Efecto del i-ésimo analista

β<sub>j(i)</sub> = Efecto del j-ésimo día por el i-ésimo analista

ε<sub>k(ij)</sub> = Error experimental

#### **Formulas empleadas**

$$\bar{Y} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} y_i}{n-1}$$

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} y_i^2 - n\bar{Y}^2}{n-1}$$

$$S = \sqrt{S^2}$$

$$CV = \frac{S}{\bar{Y}} * 100$$

$$A = \bar{Y} - B\bar{X}$$

$$B = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} x_i y_i - n\bar{X}\bar{Y}}{\sum_{i=1}^{i=n} x_i^2 - n\bar{X}^2}$$

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} x_i y_i - n\bar{X}\bar{Y}}{(n-1)S_x S_y}$$

$$\chi_c^2 = \frac{(n-1)S^2}{\sigma^2}$$

$$IC_\sigma = \frac{(n-1)S^2}{\chi_{(1-\alpha/2)}^2} < \sigma < \frac{(n-1)S^2}{\chi_{\alpha/2}^2}$$

$$t_c = \frac{\bar{X} - \mu}{S/\sqrt{n}}$$

$$IC_\mu = \bar{X} \pm t_{(1-\alpha/2)} * \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} y_i - A * \sum_{i=1}^{i=n} y_i - B * \sum_{i=1}^{i=n} x_i y_i}{n}}$$

$$S_{y/x} = S_{y/x} * \sqrt{\frac{n}{n-2}}$$

$$t_{A_0} = \frac{A - A_0}{S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} x_i^2}{n * \sum_{i=1}^{i=n} x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^{i=n} x_i\right)^2}}}$$

$$IC_A = A \pm t_{(1-\alpha/2)} * S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} x_i^2}{n * \sum_{i=1}^{i=n} x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^{i=n} x_i\right)^2}}$$

$$t_B = \frac{(B - B_0) S_x \sqrt{n-1}}{S_{y/x}}$$

$$IC_B = B \pm \frac{S_y}{S_x \sqrt{n-1}}$$

## Análisis de varianza

Matriz de resultados

		Columnas $\alpha_i$				
Filas $\beta_j$		$Y_{111}$	$Y_{121}$	$Y_{131}$	...	$Y_{1j1}$
		$Y_{112}$	$Y_{122}$	$Y_{132}$	...	$Y_{1j2}$
		$Y_{113}$	$Y_{123}$	$Y_{133}$	...	$Y_{1j3}$
		...	...	...	...	...
		$Y_{11k}$	$Y_{12k}$	$Y_{13k}$	...	$Y_{1jk}$
		$Y_{211}$	$Y_{221}$	$Y_{231}$	...	$Y_{2j1}$
		$Y_{212}$	$Y_{222}$	$Y_{232}$	...	$Y_{2j2}$
		$Y_{213}$	$Y_{223}$	$Y_{233}$	...	$Y_{2j3}$
		...	...	...	...	...
		$Y_{21k}$	$Y_{22k}$	$Y_{23k}$	...	$Y_{2jk}$
		$Y_{311}$	$Y_{321}$	$Y_{331}$	...	$Y_{3j1}$
		$Y_{312}$	$Y_{322}$	$Y_{332}$	...	$Y_{3j2}$
		$Y_{313}$	$Y_{323}$	$Y_{333}$	...	$Y_{3j3}$
	...	...	...	...	...	
	$Y_{31k}$	$Y_{32k}$	$Y_{33k}$	...	$Y_{3jk}$	
	...	...	...	...	...	
	$Y_{11k}$	$Y_{12k}$	$Y_{13k}$	...	$Y_{1jk}$	

Matriz de totales

		Columnas $\alpha_i$				
Filas $\beta_j$		$Y_{.1}$	$Y_{.2}$	$Y_{.3}$	...	$Y_{.j}$
		$Y_{.1}$	$Y_{.2}$	$Y_{.3}$	...	$Y_{.j}$
		$Y_{.1}$	$Y_{.2}$	$Y_{.3}$	...	$Y_{.j}$
		...	...	...	...	...
		$Y_{.1}$	$Y_{.2}$	$Y_{.3}$	...	$Y_{.j}$

Tabla de análisis de varianza para dos factores anidados.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	$F_c$	$F_{(1-\alpha/2)}$
Analista $\alpha_i$	$gla=i$	$SC_A$	$MC_A$	$F_A$	$gla/gld$
Día $\beta_j$	$gld=(j-1)j$	$SC_D$	$MC_D$	$F_D$	$gld/gle$
Error $\epsilon_{k(ij)}$	$gle=(k-1)ij$	$SC_E$	$MC_E$		



$$SC_A = \frac{\sum_{i=1}^I y_{i.}^2}{jk} - \frac{y_{..}^2}{ijk}$$

$$SC_D = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J y_{ij}^2}{k} - \frac{\sum_{i=1}^I y_{i.}^2}{jk}$$

$$SC_E = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K y_{ijk}^2}{k} - \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J y_{ij.}^2}{k}$$

$$MC_A = \frac{SC_A}{gla}$$

$$MC_D = \frac{SC_D}{gld}$$

$$MC_E = \frac{SC_E}{gld}$$

$$F_A = \frac{MC_A}{MC_D}$$

$$F_D = \frac{MC_D}{MC_E}$$

## BIBLIOGRAFÍA

- Acheson, R. M. "An introduction to the chemistry of heterocyclic compounds". 3ª., John Wiley and Sons, 1976.
- Ansel, C. H. "Introduction of Pharmaceutical dosage forms", editorial Lea and Febiger, 1990.
- Banker, S. G. and Christopher, T. R., "Modern Pharmaceuticals", ed. Marcel Decker, 1990.
- Boohard, P. And Eugster, C. H., "Development of the Chemistry of furanos, 1952-1963". Advances in Heterocyclic Chemistry, Vol. 7. Academic Press, 1966.
- Browning, D. R., "Cromatografía", Toray Masson, 1971.
- Cardone, M. J. "Detection and Determination o Error in Analytical Methodology. Part 1. In the Method Verification Program", **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, **66** (5), 1257-1282 (1983).
- Carey, W. F.; Russel, E. H. And O'Connor, J. R. "Effect of nitrofurans on survival of bacteria in vivo". **Antimicrobial Agent Amm.**, **1960** (152-8), (1961).
- Carstensen, J. T., "Stability of solids an disperse systems", **Drug Development and Industrial Pharmacy**, **10** (8 y 9), 1277-1296, (1984).
- Foley, K. "Analytical Profiles of drug Substances, Vol. 5", Academic Press, 1976.
- Fuentes, V. O. "Farmacología y terapéutica veterinarias", Nueva editorial interamericana, 1987.
- Fumagalli, E. "Antibacterial action in vitro of some new nitrofurans derivatives". **Gazz. Med. Etal** **120** (7), 245-6 (1961).
- Garret, E. R. and Carper, R. F., *Journal Am. Pharm. Assoc. Sci.* (**44**), 515, (1955).
- Gómez, S. J. J., Mosqueda, T. A. y Ocampo, C. L. "Terapéutica avícola". Mendoza e Hijos Editores, 1987.
- Guerra, J. and Finkelson, M. J. "Validation of analytical Methods by FDA Laboratories". **Pharmaceutical Technology**, **10** (3), 74-84, (1986).
- Hamaker, H. C. "A Statistician's Approach to Repeatability and Reproducibility". **Assoc. Off. Anal. Chem.**, **69** (3), 417-428, 1986.

ICH, Harmonized Tripartite Guideline, "Stability testing of new drug substances and products", October, (1993).

Kalnbergs, R., et al. "Synthesis and antibacterial properties of some derivative of 5-nitro-2-furyl-substituted, 5-morpholinomethyl-3-amino-2-oxazolidinone". **Khim. Farm. Zh.** **1 (11)**, 47-49, (1967).

Kommanaboyina, B. and Rhodes, C. T., "Trends in Stability Testing, with emphasis on Stability during Distribution and Storage", **Drug Development and Industrial Pharmacy**, **25(7)**, 857-868, (1999).

Kommanaboyina, B. and Rhodes, C. T., "Effects of Temperature Excursions on Mean Kinetic Temperature and Shelf Life", **Drug Development and Industrial Pharmacy**, **25(12)**, 1301-1306, (1999).

Liberman and Lachman, "Pharmaceutical dosage forms tablets. Vol I" Marcel Decker, 1980.

Mariño, S. J., "Perspectivas de la producción de la carne de pollo en México, para el decenio 1980-1990". Trabajo presentado para examen de oposición, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 1981.

McCabe, W. R., Jackson, G. G. And Kozij, V. M. "Furaltadone pharmacological and clinical studies". **Antibiotics Ann. (1959-60)**, 770-84, (1960).

Peckson, L. R. Y Shields L. L. "Métodos modernos de análisis químicos" ed. Limusa, 1983.

Porn, P., "Manual de patología aviar". Acribia, 1973.

Remington, "Farmacia Vol. 2". Ed. Panamericana, 1982.

Rhodes, C. T. "An Overview of Kinetics for the Evaluation of the Stability of Pharmaceutical Systems". **Drug Development and Industrial Pharmacy**, **10 (8-9)**, 1163-1174 (1984).

Rojó, M. E., "Enfermedades de las aves". 2a., Trillas, 1987.

Thompson, M. and Howarth, R. J. "The Frequency Distribution of Analytical Error". **Analyst**, **105** (December), 1188-1195, (1980).

Singh, S., "Prueba de estabilidad de fármacos y determinación de la vida de anaquel conforme a los lineamientos internacionales", **Pharmaceutical Technology**, **5**, 35-47, (1999).

Vargas, E. J. "Procedimiento de validación, parámetros y criterios de aceptación". **Pharma News**, **1 (6)**, 15-20, (1990)

Vargas, E. J. "Un acercamiento a la validación de métodos analíticos", *Pharmanews*.

Waterbury, W. E. et. al., "Antimicrobial Agents Chemotherapy" 339-44, 1965.

Yang, N. H. "Statistical treatment of stability data". **Drug Development and Industrial Pharmacy**, **7 (1)**, 63-77, (1981)

Zangalia, O and Fantoni, S. "**Giorn Ital Chemioterap.**", **5-9**, 33-38, (1962).