



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA  
CUANTIFICAR CLORHIDRATO DE AMBROXOL EN JARABE POR  
ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A**

**MARÍA GUADALUPE MÉNDEZ QUINTERO**

**DIRECTOR DE TESIS: QFB. TERESA BENÍTEZ ESCAMILLA**



**MÉXICO, D.F.**

**OCTUBRE 2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES "ZARAGOZA"

DIRECCIÓN

JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN  
ESCOLAR  
PRESENTE.

Comunico a usted que la alumna MÉNDEZ QUINTERO MARÍA GUADALUPE  
con número de cuenta 404101833 de la carrera de Q. F. B.,  
se le ha fijado el día 20 del mes de Septiembre de 2010 a las 09:00 hrs.,  
para presentar examen profesional, que tendrá lugar en la sala de exámenes  
profesionales Campus II de esta Facultad, con el siguiente jurado:

PRESIDENTE	M. en C. CONSUELO BAUTISTA ARAGÓN	
VOCAL	MTRA. en DIIIE. MA. ISABEL GARDUÑO POZADAS	
SECRETARIO	Q.F.B. TERESA BENÍTEZ ESCAMILLA	
SUPLENTE	Q.F.B. LIDIA SÁNCHEZ ORTÍZ	
SUPLENTE	M. en F. LETICIA HUERTA FLORES	

El título de la tesis que se presenta es : **Desarrollo y Validación de un  
Método Analítico para Cuantificar Clorhidrato de Ambroxol en Jarabe por  
Espectrofotometría Ultravioleta.**

Opción de titulación: **Tesis Experimental**

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
México, D.F. a, 13 de Septiembre de 2010.

C. D. ALFREDO SALVADOR SÁNCHEZ FIGUEROA  
DIRECTOR  
ZARAGOZA  
DIRECCION

RECIBÍ:  
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES  
Y DE GRADO

Vo.Bo.   
DRA. MARTHA A. SÁNCHEZ RODRÍGUEZ  
JEFA DE LA CARRERA DE Q.F.B.

---

---

## AGRADECIMIENTOS

*A la Mtra Consuelo Bautista por interesarse en la mejora de éste proyecto e invertir parte de su valioso tiempo en su revisión.*

*A la Mtra Isabel Garduño y a la QFB Lidia Sánchez por la disposición y ayuda brindada.*

*A la Mtra. Lety Huerta por asesorarme en la revisión de éste trabajo y haberme compartido sus conocimientos y experiencia.*

*Y con especial cariño y admiración a la QFB. Teresa Benítez por la paciencia y profesionalismo que la caracterizan, por cada una de sus enseñanzas, por las facilidades que me otorgó al realizar éste trabajo, pero principalmente por haberme ayudado a concluir una más de mis metas.*

*Agradezco además, a todos y cada uno de los profesores que infundaron en mí sus conocimientos contribuyendo de esta manera en mi formación como Químico Farmacéutico Biólogo.*

*Y finalmente agradezco a nuestra máxima casa de estudios, a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme sobresalir con la realización de este maravilloso sueño.*

*“La humanidad también necesita soñadores, para quienes el desarrollo de una tarea sea tan cautivante que les resulte imposible dedicar su atención a su propio beneficio.”*

*Marie Curie*

---

---

## DEDICATORIAS

### *A Dios*

*Por estar conmigo en cada paso que doy e iluminar mi mente en los momentos más difíciles.*

*Gracias por permitirme llegar a la culminación de este proyecto y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante esta larga jornada.*

### *A mi madre Elsa Quintero*

*Gracias por mi oportunidad de existir, por tu sacrificio en algún tiempo incomprendido, por tu comprensión y confianza, por tu apoyo incondicional, por que sin ti no hubiera sido posible éste triunfo.*

### *A mis hijos Mariana y Sebastián*

*Por todo el tiempo que les robé sin querer, por siempre hacerme reír y aunque no lo entiendan también llorar de alegría, por ser la razón de mi existir...*

### *A mi esposo Vicente Jiménez*

*Por que solo tú sabes cuan largo se hace el camino al proponerse metas tan altas, pero al final de todo me complazco en decir que gracias a tu incansable apoyo y orientación soy ya una profesionalista.*

### *A mis hermanos Estela, Mari, Lety y Adrián*

*Que si bien es cierto que nunca compaginamos en nada, siempre serán parte de mí y quiero que sepan que a donde quiera que voy ustedes están siempre conmigo.*

### *A mis sobrinos Jaqueline, Fernanda y Alfredo*

*Por ser fundamentales en mi vida y por estar siempre tratando de ayudar, por que sé que dar ejemplo no es la principal manera de influir sobre los demás; es la única.*

### *A mi tío Asunción Quintero †*

*Que tal vez sin pensarlo, dejó una profunda huella en mí. Y sé que estás siempre detrás de cada cosa buena que nos pasa.*

### *A mi abuelita Lucrecia Ramos †*

*Por tratar siempre de hacernos personas de bien y por que sé que desde el lugar que Dios reservó para usted, nos esta cuidando.*

*Por lo que ha sido y será.....Gracias.*

---

---

## ÍNDICE

	Página
<b>1 INTRODUCCIÓN</b>	<b>10</b>
<b>2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA</b>	<b>11</b>
<b>2.1 Métodos Analíticos</b>	<b>11</b>
2.1.1 Definición	11
2.1.2 Clasificación de métodos analíticos	12
<b>2.2 Espectrofotometría</b>	<b>12</b>
2.2.1 Definición	12
2.2.2 Espectrofotometría de absorción ultravioleta	13
2.2.3 La radiación electromagnética	13
2.2.4 Espectrofotómetro	14
2.2.5 Espectro de absorción	16
2.2.6 Leyes de absorción de la radiación	16
2.2.6.1 Ley de Beer	17
2.2.6.2 Limitaciones de la ley de Beer	18
<b>2.3 Validación</b>	<b>19</b>
2.3.1 Definición	19
2.3.2 Parámetros de desempeño	20
2.3.3 Precisión del sistema	20
2.3.4 Linealidad del sistema	20
2.3.5 Especificidad	20
2.3.6 Exactitud y repetibilidad	20
2.3.7 Linealidad del método	20
2.3.8 Precisión del método	20
2.3.9 Estabilidad analítica de la muestra	20
2.3.10 Robustez	20
<b>2.4 Forma Farmacéutica</b>	<b>21</b>
2.4.1 Definición	21
2.4.2 Ventajas y desventajas de la forma farmacéutica	21
2.4.3 Métodos de fabricación	21
2.4.3.1 Solución con calor	21
2.4.3.2 Agitación sin calor	22
2.4.4 Formulación de jarabes	23
2.4.5 Problemas de la forma farmacéutica	23
<b>2.5 Generalidades del Clorhidrato de Ambroxol</b>	<b>25</b>
2.5.1 Características físicas y químicas	25
2.5.2 Propiedades terapéuticas	26
2.5.3 Farmacocinética	27
2.5.4 Farmacodinamia	28
2.5.5 Presentación y Dosis	28
2.5.6 Efectos secundarios	28
2.5.7 Toxicidad	28
<b>3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>29</b>

---

---

<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>30</b>
<b>5</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>31</b>
<b>6</b>	<b>MATERIAL</b>	<b>32</b>
<b>7</b>	<b>METODOLOGÍA</b>	<b>35</b>
<b>8</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>43</b>
<b>9</b>	<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	<b>55</b>
<b>10</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>58</b>
<b>11</b>	<b>SUGERENCIAS</b>	<b>59</b>
<b>12</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>60</b>
	<b>12.1 Espectros de absorción obtenidos en el parámetro de especificidad.</b>	<b>60</b>
	<b>12.2 Fórmulas empleadas para la validación del método analítico.</b>	<b>64</b>
	<b>12.3 Cálculos realizados en los parámetros de la validación.</b>	<b>69</b>
<b>13</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>73</b>

---

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1. Clasificación de métodos analíticos según su función.</b>	<b>12</b>
<b>Figura 2. Diagramas de los nombres, frecuencias y longitudes de onda (en el vacío) de la radiación electromagnética.</b>	<b>13</b>
<b>Figura 3. Se muestra únicamente las oscilaciones del campo eléctrico, la amplitud de la onda (A) y la longitud (<math>\lambda</math>).</b>	<b>14</b>
<b>Figura 4. Diseño general del equipo experimental para medir la absorción de la muestra o su transmitancia a una longitud de onda única.</b>	<b>15</b>
<b>Figura 5. Celda.</b>	<b>16</b>
<b>Figura 6. Variación de la transmitancia a diferentes concentraciones.</b>	<b>17</b>
<b>Figura 7. Esquema general de la instalación industrial para la producción de jarabes sin el empleo de calor.</b>	<b>22</b>
<b>Figura 8. Estructura química del clorhidrato de ambroxol.</b>	<b>25</b>
<b>Figura 9. Espectro de absorción del clorhidrato de ambroxol en agua destilada con una concentración de 35 <math>\mu\text{g/mL}</math>.</b>	<b>25</b>
<b>Figura 10. Gráfica obtenida en la linealidad del sistema.</b>	<b>45</b>
<b>Figura 11. Gráfica obtenida en la linealidad del método.</b>	<b>47</b>
<b>Figura 12. Espectro de absorción del blanco de reactivos de HCl 0.1N (200 – 400 nm).</b>	<b>64</b>
<b>Figura 13. Espectro de absorción del placebo analítico (200 – 400 nm).</b>	<b>64</b>
<b>Figura 14. Espectro de absorción del placebo cargado a una concentración de 60 <math>\mu\text{g/mL}</math> (200 – 400 nm).</b>	<b>65</b>
<b>Figura 15. Espectro de absorción del estándar de clorhidrato de ambroxol a una concentración de 60 <math>\mu\text{g/mL}</math> (200 – 400 nm).</b>	<b>65</b>
<b>Figura 16. Espectro de absorción del clorhidrato de ambroxol sometido a hidrólisis ácida con HCl 1N (200 – 400 nm).</b>	<b>66</b>
<b>Figura 17. Espectro de absorción del clorhidrato de ambroxol sometido a hidrólisis básica con NaOH 1N (200 – 400 nm).</b>	<b>66</b>
<b>Figura 18. Espectro de absorción del clorhidrato de ambroxol sometido a oxidación con <math>\text{H}_2\text{O}_2</math> al 30% (200 – 400 nm).</b>	<b>67</b>



---

---

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>Tabla 1. Parámetros de desempeño evaluados durante la validación.</b>	<b>19</b>
<b>Tabla 2. Principales ventajas y desventajas en el empleo de jarabes.</b>	<b>21</b>
<b>Tabla 3. Componentes empleados para la formulación de jarabes.</b>	<b>23</b>
<b>Tabla 4. Problemas frecuentes durante la fabricación de jarabes.</b>	<b>24</b>
<b>Tabla 5. Dosis establecidas para la administración de clorhidrato de ambroxol.</b>	<b>28</b>
<b>Tabla 6. Linealidad del sistema.</b>	<b>36</b>
<b>Tabla 7. Linealidad del método.</b>	<b>39</b>
<b>Tabla 8. Datos de absorbancia obtenidos para la precisión del sistema.</b>	<b>44</b>
<b>Tabla 9. Datos de absorbancia obtenidos para la linealidad del sistema.</b>	<b>44</b>
<b>Tabla 10. Resultados obtenidos en la especificidad del método con respecto a los excipientes de la formulación.</b>	<b>45</b>
<b>Tabla 11. Resultados obtenidos en la especificidad del método con respecto a productos de degradación.</b>	<b>45</b>
<b>Tabla 12. Datos obtenidos para exactitud y repetibilidad del método analítico.</b>	<b>46</b>
<b>Tabla 13. Resultados de linealidad del método.</b>	<b>46</b>
<b>Tabla 14. Valores obtenidos en porcentaje para reproducibilidad, evaluado por 2 analistas diferentes en 2 días diferentes. Formulación desarrollada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza.</b>	<b>48</b>
<b>Tabla 15. Valores obtenidos en porcentaje para reproducibilidad, evaluado por 2 analistas diferentes en 2 días diferentes. Formulación Comercial (Axol Bayer).</b>	<b>48</b>
<b>Tabla 16. Resultados obtenidos en porcentaje para la valoración de muestras independientes en estabilidad analítica. Temperatura ambiente.</b>	<b>49</b>
<b>Tabla 17. Resultados obtenidos en porcentaje para la valoración de muestras independientes en estabilidad analítica. Refrigeración.</b>	<b>49</b>
<b>Tabla 18. Datos obtenidos en porcentaje de las condiciones de operación establecidas para evaluar la Robustez. Depósito de la muestra.</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 19. Datos obtenidos en porcentajes de las condiciones de operación establecidas para evaluar la Robustez. Longitud de onda.</b>	<b>50</b>

---

---

<b>Tabla 20.</b>	<b>Resultados de la Validación.</b>	<b>51</b>
<b>Tabla 21.</b>	<b>Descripción del método Farmacopeico vs el método analítico Desarrollado.</b>	<b>52</b>
<b>Tabla 22.</b>	<b>Comparación de costos en consumibles para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol por el método farmacopeico y el método desarrollado.</b>	<b>53</b>
<b>Tabla 23.</b>	<b>Evaluación en costos para ambos métodos analíticos en un laboratorio con infraestructura.</b>	<b>53</b>
<b>Tabla 24.</b>	<b>Comparación de la generación de desechos obtenidos al realizar la valoración de clorhidrato de ambroxol por los métodos descritos con anterioridad.</b>	<b>54</b>

---

---

## 1. INTRODUCCIÓN

Durante casi tres décadas el ambroxol se ha utilizado en la terapia de enfermedades de las vías respiratorias, es una sustancia activa con una larga historia que influye en los parámetros que se consideran la base fisiológica para la producción y el transporte del moco bronquial absorbiéndose rápida y completamente por vía oral, debido a su acción secretolítica también posee actividad antiinflamatoria y antioxidante, además de poseer un efecto anestésico que es una de sus actividades farmacológicas descubiertas recientemente. El clorhidrato de ambroxol se encuentra en el mercado en diferentes presentaciones, sin embargo los jarabes tienen ciertas ventajas sobre otras formas farmacéuticas orales como cápsulas o tabletas, ya que el fármaco se encuentra en solución lo que asegura su absorción y garantiza su biodisponibilidad además de tener una gran aceptación por el paciente. **(1,2,3)**

Hoy en día los laboratorios farmacéuticos deben demostrar su competitividad en el mercado proporcionando productos que reúnan atributos de identidad, pureza, concentración, potencia, inocuidad y disponibilidad, para ello es necesario contar con métodos analíticos que permitan medir dichos componentes en una muestra, empleando metodologías farmacopeicas o bien, dedicando tiempo para su desarrollo, partiendo del hecho que deben ostentar el atributo de confiabilidad. La validación de métodos analíticos es el proceso por el cual se puede alcanzar este atributo siendo necesario en la mayoría de las ocasiones llevar a cabo estudios experimentales que permitan demostrar la confiabilidad de lo que se está midiendo. **(4,5,6)**

En la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 9ª edición, existe un método analítico para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol en solución, por espectrofotometría ultravioleta (UV), en el cual se realizan extracciones con éter dietílico para la preparación de las muestras, al ejecutar éste método para un jarabe de clorhidrato de ambroxol en una formulación comercial y en una formulación desarrollada internamente en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza, se observó que el tiempo de análisis es muy largo, además de que los resultados obtenidos no son reproducibles, presentando una desviación estándar relativa (DER) superior al criterio de aceptación establecido para métodos espectrofotométricos en la Guía de Validación de Métodos Analíticos; dicha variación se atribuye a la manipulación de las muestras con el disolvente mencionado, cuya finalidad se limita a la eliminación de excipientes pertenecientes a la formulación que pudieran llegar a causar interferencia durante la cuantificación del analito. **(5,6)**

Debido a esto se decidió desarrollar un método analítico práctico, en donde se modifica la forma de preparar la muestra para eliminar el empleo de éter dietílico y posteriormente poder cuantificar clorhidrato de ambroxol en jarabe por espectrofotometría UV. El método fue validado y es útil para la formulación desarrollada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza, además de que se probó en una formulación comercial (Axol de Bayer) obteniendo valores reproducibles y consistentes.

---

---

## 2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

### 2.1 Métodos analíticos

#### 2.1.1 Definición.

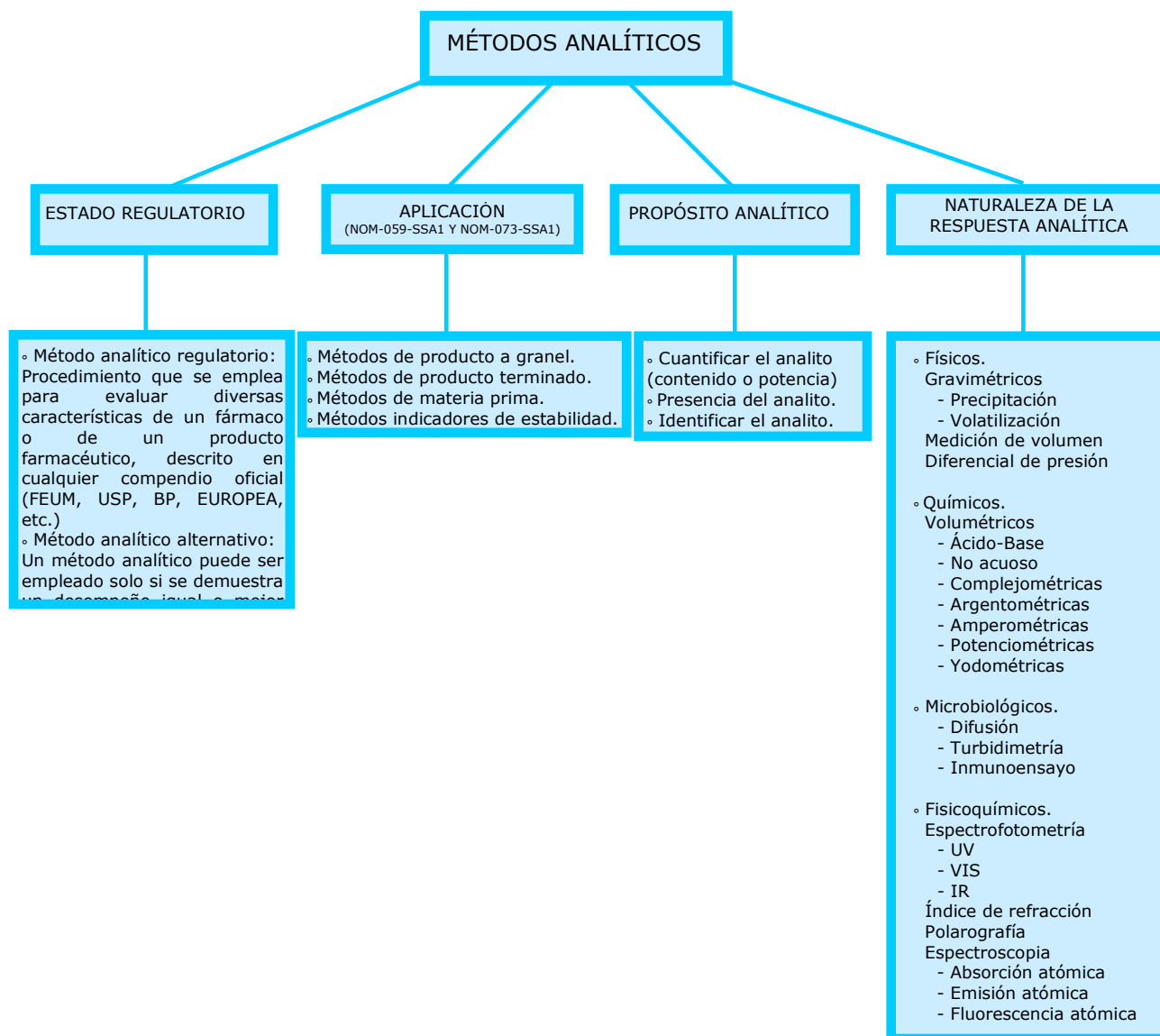
Un método analítico es aquel método de investigación que describe la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros, que se deben cumplir para llevar a cabo el estudio de un componente específico de la muestra que dependiendo del propósito para el cual se empleen estarán sujetos a diferentes requerimientos. <sup>(6,7,8,9)</sup>

Los siguientes términos son empleados para mayor comprensión de los métodos analíticos:

- **Analito:** es el componente (elemento, compuesto o ion) de interés analítico de una muestra.
- **Método analítico desarrollado internamente:** método desarrollado por el propio laboratorio.
- **Método analítico indicativo de estabilidad:** Método analítico validado capaz de detectar variaciones en las propiedades del material evaluado, debidas a las condiciones de almacenaje.
- **Método analítico oficial:** Método que aparece en la literatura oficial reconocida (pruebas de disolución, liberación de principio activo, etc).
- **Método analítico no oficial:** Método que no aparece en la literatura oficial reconocida que por lo general son desarrollados internamente en un laboratorio.
- **Muestra:** Porción del material a evaluar.
- **Muestra analítica:** Porción del material a evaluar de acuerdo con el método analítico.
- **Muestra adicionada:** Porción representativa del material a evaluar a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito.
- **Placebo analítico:** Muestra que contiene todos los componentes de un producto a excepción del analito.
- **Placebo cargado:** Muestra de un placebo analítico al cual se le adiciona una cantidad conocida del analito.

## 2.1.2 Clasificación de métodos analíticos.

En la figura 1 se presenta un diagrama que muestra la clasificación de los métodos analíticos según su función y se mencionan algunas de sus características. (6,9)



**Figura 1.** Clasificación de métodos analíticos según su función.

## 2.2 Espectrofotometría.

### 2.2.1 Definición.

Se llama espectrofotometría a la medición de la absorción y emisión de la energía radiante por un sistema químico. La energía radiante se encuentra constituida por fotones cada uno de los cuales tiene como característica una longitud de onda. Siempre que un átomo o molécula absorba un fotón, esa partícula de materia se vuelve más energética, esto es la partícula posee más energía que antes de la interacción y

viceversa, cuando una partícula de materia emita un fotón, la partícula queda en estado menos energético. Éstas dos consideraciones fundamentales están subyacentes en todos los métodos analíticos que se basan en la absorción y la emisión de la radiación electromagnética. (9,10,11,12,13,14,15,16)

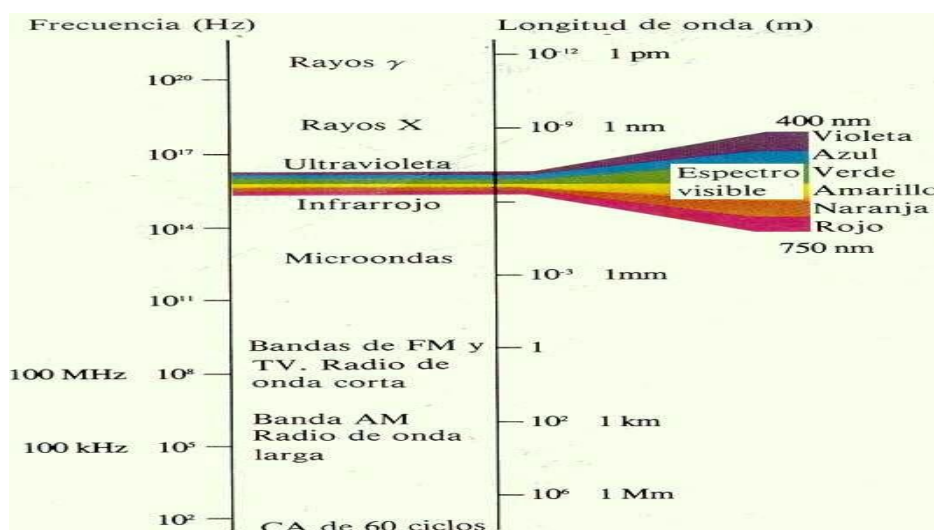
Si se consideran todas las muestras que se analizan en el mundo, es muy probable que alrededor del 50% de las mismas hayan sido analizadas por alguna espectroscopia de absorción. Éstas incluyen ultravioleta (UV), visible, infrarrojo (IR), fluorescencia, Raman y técnicas de dispersión de luz. Aunque las espectroscopias de absorción están desarrolladas para cualquier intervalo de longitudes de onda, las regiones más frecuentemente usadas especialmente en un laboratorio son las que corresponden al espectro ultravioleta (de 200 a 400 nm) y al visible (de 400 a 750 nm). La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que permiten puedan ser cuantificadas. (12,13,14)

### 2.2.2 Espectrofotometría de absorción ultravioleta.

La espectrofotometría de absorción ultravioleta fue uno de los primeros métodos físicos que se aplicaron al análisis cuantitativo y a la determinación de estructuras. Algunos enlaces de las moléculas, como los dobles, provocan coloración en las muestras ya que absorben energía en el espectro visible así como en el UV, lo que permite su cuantificación. La espectrofotometría se utiliza de manera general para identificar algunos grupos funcionales de moléculas, iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados. (12,15,16)

### 2.2.3 La radiación electromagnética.

En términos sencillos podemos definir a la radiación electromagnética como la propagación de un campo de fuerzas en el espacio con su frecuencia, velocidad e intensidad características cuya combinación de campos eléctricos y magnéticos oscilantes se propagan a través del espacio transportando energía de un lugar a otro. A diferencia de otros tipos de onda, como el sonido, que necesitan un medio material para propagarse, la radiación electromagnética se puede propagar en el vacío. (10,12,15)



**Figura 2.** Diagrama de los nombres, frecuencias y longitudes de onda (en el vacío) de la radiación electromagnética.

---

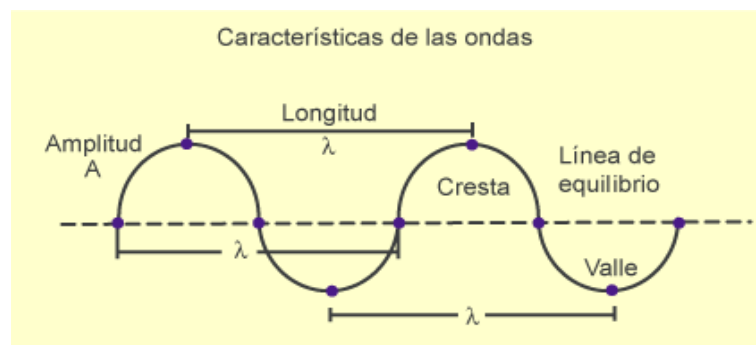
---

Los diferentes tipos de radiación electromagnética se caracterizan generalmente por su longitud de onda  $\lambda$  o su frecuencia  $\nu$ . El rango completo de longitudes de onda es lo que se denomina espectro electromagnético.

La longitud de onda se define como la longitud de un ciclo, o bien como la distancia entre los máximos o mínimos sucesivos. La frecuencia es el número de ciclos por segundo y tiene una relación inversa con el concepto de longitud de onda, a mayor frecuencia menor longitud de onda y viceversa. La frecuencia  $\nu$  es igual a la velocidad  $u$  de la onda dividido por la longitud de onda. Así la expresión que nos relaciona la longitud de onda y la frecuencia es:

$$\lambda = \frac{u}{\nu}$$

donde  $u$  es la velocidad de propagación.



**Figura 3.** Se muestra únicamente las oscilaciones del campo eléctrico, la amplitud de la onda (A) y la longitud ( $\lambda$ ).

### 2.2.4 Espectrofotómetro.

Desde hace muchos años se ha usado el color como ayuda para reconocer las diversas sustancias químicas, reemplazando el ojo humano por otros detectores de radiación. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia, en función de su longitud de onda. **(11,12,15)**

Aunque el conocimiento completo de los instrumentos espectrofotométricos no es indispensable para su uso, el entendimiento básico de su diseño y operación es muy útil para la obtención de datos consistentes y reproducibles. Este instrumento tiene la capacidad de proyectar un haz de luz monocromática a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra. Esto le permite al operador realizar dos funciones:

1. Dar información sobre la naturaleza de la sustancia en la muestra.
2. Indicar indirectamente qué cantidad de la sustancia que nos interesa está presente en la muestra.

Hay varios tipos de espectrofotómetros, sin embargo todos constan básicamente de los mismos componentes. A continuación, se mencionan los componentes de este instrumento y sus funciones: **(15)**

**Fuente de luz.** Ilumina la muestra. Debe cumplir con las condiciones de estabilidad, direccionalidad, distribución de energía espectral continua y larga vida. Las fuentes empleadas son lámpara de wolframio o tungsteno, lámpara de arco de xenón y lámpara de deuterio. Es preciso determinar los efectos de una sola longitud de onda de radiación electromagnética. Esta longitud de onda única puede surgir ya sea de la fuente o ser una emisión del propio analito.

**Monocromador.** El monocromador aísla las radiaciones de longitud de onda deseada que inciden o se reflejan desde el conjunto, se usa para obtener luz monocromática. Está constituido por las rendijas de entrada y salida, colimadores y el elemento de dispersión. El colimador se ubica entre la rendija de entrada y salida. Es un lente que lleva el haz de luz que entra con una determinada longitud de onda hacia un prisma el cual separa todas las longitudes de onda de ese haz y la longitud deseada se dirige hacia otra lente que direcciona ese haz hacia la rendija de salida.

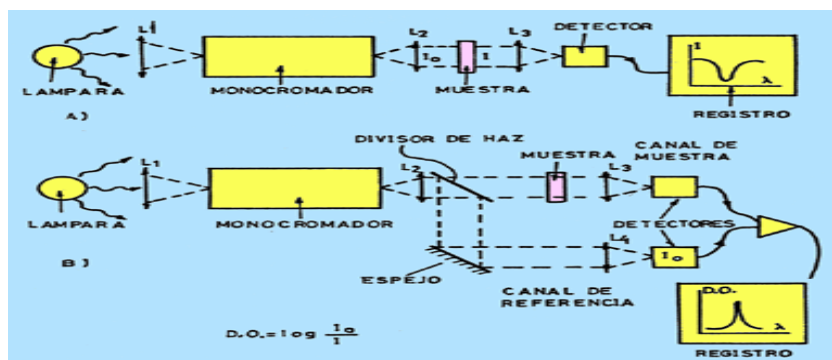
**Compartimiento de Muestra.** Es donde tiene lugar la interacción de la radiación electromagnética con la materia (debe producirse donde no haya absorción ni dispersión de las longitudes de onda). Es importante destacar, que durante este proceso, se aplica la ley de Lambert-Beer en base a sus leyes de absorción, en lo que concierne al paso de la molécula de estado fundamental-excitado.

**Transductor.** Un transductor es un dispositivo capaz de transformar o convertir un determinado tipo de energía en una señal eléctrica. Al mismo tiempo cumple la función de sensor. Se requiere un transductor para medir los cambios de la cantidad de radiación electromagnética que caen sobre él.

**Detector.** El detector, es quien percibe la radiación y la deja en evidencia, para posterior estudio. Hay de dos tipos: a) los que responden a fotones; y b) los que responden al calor.

**Registrador.** Convierte el fenómeno físico, en números proporcionales al analito en cuestión.

**Fotodetectores.** En los instrumentos modernos se encuentra una serie de hasta 16 fotodetectores para percibir la señal en forma simultánea en 16 longitudes de onda. Esto reduce el tiempo de medida y minimiza las partes móviles del equipo.



**Figura 4.** Diseño general del equipo experimental para medir la absorción de la muestra o su transmitancia a una longitud de onda única.



---

---

### 2.2.5 Espectro de absorción.

Un espectro de absorción se basa en la representación gráfica de la absorbancia, o de cualquier función de la absorbancia, trazada contra la longitud de onda o contra una función de longitud de onda. <sup>(5)</sup>

### 2.2.6 Leyes de absorción de la radiación.

Al interactuar la radiación electromagnética con la materia, tiene lugar la absorción siempre que la frecuencia de la radiación coincida con la energía necesaria para que el sistema pase a un nivel de energía superior y permitido. La fracción de la radiación incidente absorbida al pasar por una muestra dada esta regida por dos leyes fundamentales. La primera de estas leyes, formulada por Bouguer en 1729 y reestablecida por Lambert en 1768, se conoce como la ley de Lambert y predice el efecto que produce el espesor del medio-muestra sobre la fracción de la radiación que se absorbe. La segunda ley establecida en 1852 y llamada ley de Beer establece el efecto de la concentración. La forma combinada de estas dos leyes se conoce como ley de Beer, ya que la concentración de la especie absorbente es el factor más importante en la aplicación de estas leyes. <sup>(11)</sup>

Experimento de Lambert. Alrededor de 1760, Lambert estaba llevando a cabo experimentos para estudiar la interacción de las radiaciones electromagnéticas monocromáticas con materiales absorbentes de distinto espesor. Estas experiencias constituyen el fundamento de la espectroscopia moderna, así se puede considerar una solución como un material absorbente en el cual existen partículas de soluto capaces de absorber la radiación electromagnética y un solvente no absorbente; la solución así resultante estará contenida en una celda fabricada con materiales transparentes no absorbentes a la radiación.

En la figura 5 se puede observar una celda de  $b$  cm de lado. La celda está llena de una solución formada por un soluto absorbente y un solvente no absorbente. Un haz de luz monocromática de una longitud de onda absorbible penetra sobre la celda. El ángulo de incidencia es de  $90^\circ$  con respecto a la cara sobre la que incide. A la intensidad de la radiación incidente se le denominó  $P_0$  y  $P_1$  será la intensidad de la radiación transmitida. Como el compuesto en la solución absorbe parte de la radiación monocromática,  $P_1$  siempre será menor que  $P_0$ . La relación  $P_1/P_0$  se denomina transmitancia y se representa por el símbolo  $T$ .

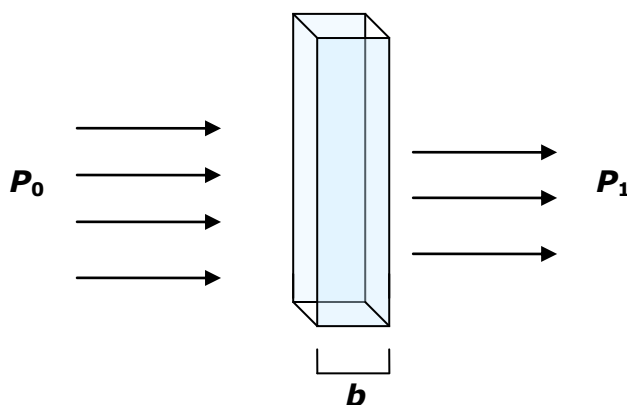
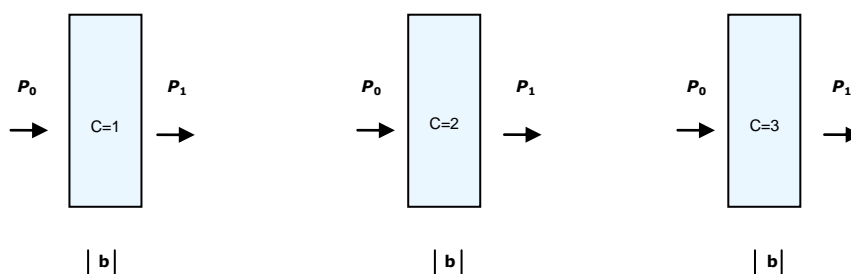


Figura 5. Celda

La ley de Lambert es exacta y aplicable a cualquier medio homogéneo y no dispersivo, con independencia de si se trata de un gas, un líquido, un sólido o una disolución, aunque en la mayor parte de los casos de interés analítico se trata de disoluciones. <sup>(11)</sup>

**2.2.6.1 Ley de Beer.** La ley de Beer es fundamental en los métodos ópticos de análisis, ya que nos permite calcular la concentración de una sustancia a partir de la medición de la radiación absorbida por una disolución de la misma. En 1850 Beer estudió como variaba la transmitancia de una solución de un compuesto dado a diferentes concentraciones. Este experimento mantuvo el espesor de la celda constante y utilizó radiación monocromática de onda absorbible. Sus trabajos demostraron que para un espesor de celda y compuesto determinado, al incrementarse la concentración en forma lineal se produce un descenso exponencial en el valor de la transmitancia (Figura 6). Si  $P_1/P_0$  fuera igual a 0,5 para la solución de la izquierda, entonces la transmitancia de la solución de en medio debería ser 0,25 y 0,125 la de la derecha.



**Figura 6.** Variación de la transmitancia a diferentes concentraciones.

Hay 3 términos distintos para expresar dicha proporción, el primero es simplemente la relación  $P_1/P_0$ , que se conoce como transmitancia y en general se abrevia como **T**, la segunda es el % de transmitancia  $\%T = T \times 100$  y la tercera es el logaritmo negativo de T, que se llama absorbancia y se abrevia como **A**.

$$A = \text{Log } P_1/P_0 = - \log T$$

De esta manera se estableció la siguiente ecuación:

$$A = abc = \log_{10}(1/T)$$

Donde:

**A=** Absorbancia: logaritmo en base 10 del inverso de la transmitancia (T).

**a=** Absortividad: cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración de la sustancia (c) y la longitud de la trayectoria de la energía luminosa (b).

**b=** Longitud de la trayectoria de la onda luminosa expresada en centímetros.

**c=** Concentración de la sustancia expresada en gramos por litro.

**T=** Transmitancia: cociente de dividir la energía radiante transmitida por la sustancia presente en el medio entre la energía radiante incidente.

---

---

La ley de Beer no considera el efecto de la temperatura, la longitud de onda o el tipo de disolvente, pero en la mayoría de las determinaciones analíticas el efecto de la variación normal de temperaturas es insignificante. **(5,11)**

**2.2.6.2 Limitaciones de la ley de Beer.** La ley de Beer solo describe el comportamiento de la absorción en soluciones diluidas y en este sentido, es una ley limitada. Con concentraciones superiores a 0.01M, la distancia promedio entre los iones o moléculas de la especie absorbentes disminuyen al punto en que cada partícula afecta la distribución de carga (y por tanto la absorción) de las partículas vecinas. **(5,11)**

La relación lineal entre la absorbancia y la longitud de la trayectoria de la radiación a una concentración fija es una generalización para la que hay pocas excepciones. Por el contrario es muy frecuente encontrar desviaciones a la proporcionalidad directa entre la absorbancia y la concentración, causadas por variables que pueden ser de origen químico o instrumental. Entre las desviaciones debidas al instrumento se encuentra la radiación policromática, el efecto de la amplitud de la rendija o luz difusa o parásita. Por otra parte ciertos errores pueden deberse también a cambios químicos asociados a las variaciones de concentración en las moléculas del soluto, que se presentan cuando las especies absorbentes experimentan asociación, disociación o reaccionan con el disolvente formado. **(5,11)**

## 2.3 Validación.

### 2.3.1 Definición.

La validación es el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para los cuales fue diseñado. **(6,17,18,19)**

### 2.3.2 Parámetros de desempeño.

Son aquellas características de la validación que necesitan ser evaluadas y que típicamente corresponden a exactitud, precisión, especificidad, linealidad, robustez y tolerancia. **(6,17,18,19)**

En función de la aplicación analítica de un método, la siguiente tabla nos indica los parámetros de desempeño a estudiar. **(6)**

**Tabla 1.** Parámetros de desempeño evaluados durante la validación.

PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	CONTENIDO/ POTENCIA / VALORACIÓN	PRUEBAS DE IMPUREZAS		IDENTIFICACIÓN
		CONTENIDO / VALORACIÓN	LÍMITE	
Precisión / Adecuabilidad del sistema	Si	Si	Si	*
Linealidad del sistema	Si	Si	No	No
Especificidad <sup>1</sup>	Si	Si	Si	Si
Exactitud y Repetibilidad <sup>3</sup>	Si	Si	No	No
Linealidad del método <sup>3</sup>	Si	Si	No	No
Precisión del método o precisión intermedia <sup>2</sup>	Si	Si	No	No
Estabilidad analítica <sup>2</sup> de la muestra	*	*	No	No
Límite de detección	No	No	Si	No
Límite de cuantificación	No	Si	No	No
Robustez	*	*	*	No
Tolerancia	*	*	*	No

\* Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método.

1. La falta de especificidad de un método analítico, puede ser compensada por otra alternativa analítica de soporte, como por ejemplo cromatografía de capa fina.
2. También es definido como un estudio de tolerancia.
3. Un método que es exacto y lineal, por definición es específico al placebo analítico o a los otros componentes de la muestra.

---

---

Las siguientes definiciones son empleadas para mayor comprensión de los parámetros empleados en la validación: **(19,20,21,22,24,25,26,27)**

**2.3.3 Precisión del sistema.** Verificar las características de reproducibilidad y resolución que permite determinar si es preciso para la ejecución del método analítico.

**2.3.4 Linealidad del sistema.** Verificar la habilidad del método para asegurar que la respuesta obtenida es directamente proporcional a la concentración, dentro de un intervalo determinado.

**2.3.5 Especificidad.** Verificar la habilidad del método analítico para obtener de manera inequívoca una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.

**2.3.6 Exactitud y repetibilidad del método.** Verificar la concordancia entre el valor experimental (cantidad recuperada) con su verdadero valor (cantidad adicionada). La exactitud de un procedimiento analítico debe establecerse en todo su intervalo.

**2.3.7 Linealidad del método.** Es la capacidad del método para mantener su exactitud a diferentes cantidades adicionadas del analito de interés determinando la posible presencia de un error sistemático constante en el método.

**2.3.8 Precisión del método.** Verificar el grado de reproducibilidad de los resultados de prueba obtenidos al analizar la misma muestra por analistas diferentes en días diferentes.

**2.3.9 Estabilidad analítica de la muestra.** Establecer el tiempo en el cual la muestra preparada permanece estable durante las condiciones normales de almacenamiento.

**2.3.10 Robustez.** Es la capacidad de un método analítico para producir resultados analíticos consistentes cuando se realizan pequeñas variaciones deliberadas en el método.

## 2.4 Forma farmacéutica.

### 2.4.1 Definición.

Un jarabe es una solución acuosa, con alta concentración de carbohidratos tales como: sacarosa, sorbitol, dextrosa, entre otros; de consistencia viscosa, en la que se encuentra disuelto el o los principios activos y aditivos. Su administración es por vía oral. **(5,28,29)**

### 2.4.2 Ventajas y desventajas de la forma farmacéutica.

Los jarabes presentan ciertas superioridades sobre otras formas farmacéuticas orales como las cápsulas o tabletas, ya que el fármaco se encuentra en solución, lo que asegura absorción y su biodisponibilidad, sin embargo también han sido reportados diversos inconvenientes en su empleo, en la siguiente tabla se mencionan algunos de éstos aspectos. **(28,29,30)**

**Tabla 2.** Principales ventajas y desventajas en el empleo de jarabes.

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Fácil administración.	Inexactitud de la dosificación.
Gran aceptación en pediatría y geriatría.	Exige la colaboración del paciente por lo que no puede ser administrada en personas inconscientes.
Rápida absorción del fármaco.	Inestabilidad de los fármacos susceptibles a hidrólisis.
Mayor biodisponibilidad con respecto a otras formas farmacéuticas sólidas.	Envases rompibles, voluminosos o pesados, incómodos de almacenar y transportar.
Enmascaramiento de fármacos amargos o salados.	El sabor desagradable de los fármacos es más pronunciado cuando están en solución.
El fármaco está distribuido de manera homogénea.	Proporciona un medio adecuado para el crecimiento de microorganismos.

### 2.4.3 Métodos de fabricación.

Los jarabes se preparan de diversas maneras y la selección del método apropiado depende de las características físicas y químicas de las sustancias que forman parte de la preparación. **(28,29,30)**

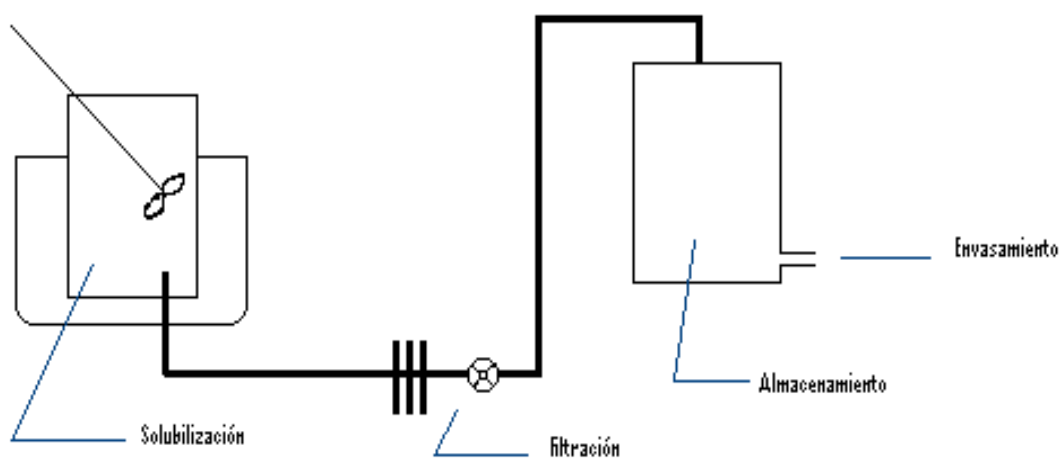
**2.4.3.1 Solución con calor:** Este es el método habitual para preparar jarabes cuando el componente principal no es volátil ni termolábil y cuando se desee una preparación rápida.

---

**2.4.3.2 Agitación sin calor:** Este proceso se utiliza en casos en los cuales el calor se asociaría con la pérdida de componentes volátiles importantes.

El único equipo que se necesita para la fabricación a pequeña y gran escala de las soluciones consiste en recipientes de mezclado, un medio de agitación y un sistema de filtración que garantice la transparencia de la solución definitiva. Durante la fabricación se añade simplemente el soluto al disolvente en el recipiente de mezclado, agitando hasta que la disolución es completa. Si el soluto es más soluble a temperaturas elevadas, puede ser útil aplicar calor al recipiente, en particular si la velocidad de la disolución es particularmente lenta. Sin embargo, se deben tomar precauciones en presencia de materiales volátiles o termolábiles. Por otro lado, el proceso de disolución también se acelerará si se reduce el tamaño del material sólido para aumentar su superficie.

Los solutos presentes en concentraciones bajas, en particular los colorantes, suelen disolverse previamente en pequeño volumen del disolvente y después se añaden a la solución a granel. Cuando es posible se añaden los materiales volátiles al final del proceso, y después de cualquier proceso de enfriamiento, para reducir la pérdida por evaporación. Por último, se debe probar que no se adsorben irreversiblemente cantidades significativas de ninguno de los materiales en el medio de filtración que se usa para el aclaramiento final.



**Figura 7.** Esquema general de la instalación industrial para la producción de jarabes sin empleo de calor.

#### 2.4.4 Formulación de jarabes.

El objetivo principal de una formulación es que sea segura, eficaz y estable. Un jarabe contiene además del principio activo algunos excipientes para mejorar el sabor, la estabilidad y aspecto estético o una combinación de dichos agentes. En la siguiente tabla se mencionan algunos ejemplos de excipientes y las principales funciones dentro de la formulación. **(5,30,31,32,33,34,35,36,37)**

**Tabla 3.** Componentes empleados para la formulación de jarabes.

EXCIPIENTES	FUNCION	EJEMPLO
Vehículo	Disolvente.	Agua purificada.
Conservadores	Retardar o inhibir el crecimiento de microorganismos.	Glicerina, metilparabeno, propilparabeno y ácido benzoico.
Amortiguadores	Regular el pH.	Fosfatos y citratos.
Antioxidantes	Evitar la oxidación del principio activo.	Sorbato de potasio, ácido ascórbico, ácido sórbico, bisulfito de sodio.
Edulcorantes	Potenciar a los saborizantes.	Sorbitol, sacarina, manitol, aspartame y glicerol.
Saborizantes y aromatizantes	Enmascarar sabores desagradables y proporcionar agradables aromas.	Vainilla, cereza, frutas, frambuesa.
Cosolventes	Aumentar la constante de disociación y mantener el principio activo en solución.	Etanol, glicerina, sorbitol, polietilenglicol.
Colorantes	Mejorar la apariencia del producto e identificarlo fácilmente.	Amarillo No.8 se asocia a sabores cítricos, azul No. 4 a sabores mentolados, rojo No.2 a frutas rojas como fresa y cereza.

#### 2.4.5 Problemas de la forma farmacéutica.

Como se ha mencionado antes, los jarabes se preparan de diversas maneras y la selección del método apropiado depende de las propiedades físicas y químicas de las sustancias que forman parte de la formulación. Esta operación debe ser conducida con cuidado utilizando agua purificada desprovista de sustancias extrañas, vasos y recipientes limpios, para evitar la contaminación y garantizar la estabilidad del producto. **(28,29,30,31,32,33,34)**



Es importante que la concentración de la sacarosa se aproxime al punto de saturación pero sin llegar a él, debido a que una solución diluida propicia un excelente medio de cultivo para hongos, levaduras y otros microorganismos, y por el contrario una solución saturada conduce a la cristalización de una fracción de la sacarosa al modificarse la temperatura.

Si se utiliza calor en la preparación de los jarabes es casi inevitable que se produzca la inversión de una pequeña porción de la sacarosa, dando formación a un azúcar invertido (dextrosa más levulosa) que es más fácilmente fermentable que la sacarosa y de color más oscuro. Sin embargo los dos azúcares reductores presentes en el azúcar invertido contribuyen a retardar la oxidación de otras sustancias presentes en la formulación.

A continuación se mencionan algunos inconvenientes que pueden presentarse durante la producción de jarabes, sus principales causas y soluciones:

**Tabla 4.** Problemas frecuentes durante la fabricación de jarabes.

<b>PROBLEMA</b>	<b>CAUSA</b>	<b>SOLUCION</b>
Insolubilidad del principio activo	Propiedades físicas y químicas del fármaco.	Empleo de cosolventes.
Inversión de la sacarosa	Empleo de calor durante la fabricación. Presencia de ácidos.	Control de la temperatura. Amortiguador adecuado.
Fermentación	Ebullición del jarabe durante la fabricación.	Control de la temperatura.
Crecimiento de microorganismos	Solución diluida. pH inadecuado. Conservador insuficiente.	Ajuste de pH con un buen amortiguador. Empleo adecuado de conservadores.
Inestabilidad del jarabe	Contaminación del medio de disolución. Partículas extrañas.	Agua purificada. Filtración. Recipientes limpios.
Cristalización	Solución sobresaturada. Mal almacenamiento.	Adición de alcoholes polihídricos. Concentración adecuada.

## 2.5 Generalidades del Clorhidrato de Ambroxol

### 2.5.1 Características físicas y químicas. (5,38,39,40,41,42,43)

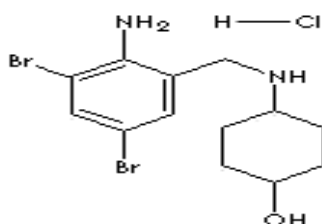
**Nombre genérico:** Clorhidrato de Ambroxol.

**Nombre químico:** Clorhidrato de trans-4-(2-amino-3,5-dibromobencilamino) ciclohexanol.

**Peso molecular:** 414.60 g/mol.

**Formula Molecular:** C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>ClN<sub>2</sub>O.

**Formula desarrollada:**



**Figura 8.** Estructura química del clorhidrato de ambroxol.

**Descripción:** El clorhidrato de ambroxol es un polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo.

**Solubilidad:** Soluble en metanol y ácido clorhídrico 0.1 N; poco soluble en agua; casi insoluble en cloruro de metileno; insoluble en éter dietílico.

**Punto de fusión:** 233 - 234.5°C.

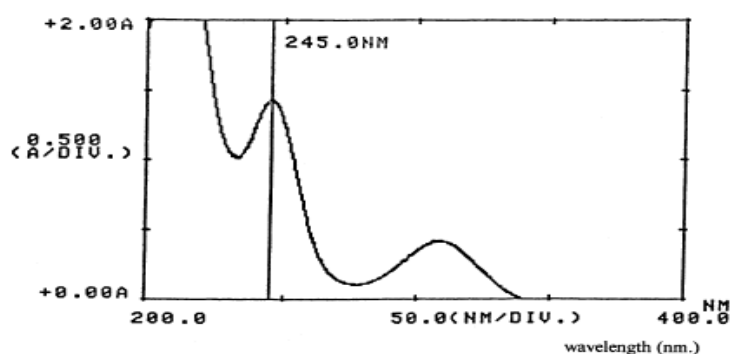
**pH:** Entre 4.5 y 6 en solución al 1%.

**pK<sub>b1</sub>**= 1.39                      **pK<sub>b2</sub>**= 7.16

**Osmolaridad:** 3250 mOsm/L

**Coefficiente de Extinción:** 120 µg mL<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> en una solución de ácido clorhídrico 0.1 N.

**Espectro de absorción UV:**



**Figura 9.** Espectro de absorción del clorhidrato de ambroxol en agua destilada con una concentración de 35 µg/mL.

---

---

**Conservación:** En envases cerrados y protegidos de la luz a no más de 30°C.

**Rutas de degradación:** En general es una molécula muy estable, no sufre hidrólisis básica por hidróxido de sodio (NaOH) y no sufre hidrólisis ácida por ácido clorhídrico (HCl).

**2.5.2 Propiedades Terapéuticas.** El ambroxol en su forma de clorhidrato es un agente mucolítico y expectorante, útil en procesos bronquiales donde se requiere aumentar la fluidez de las secreciones del tracto respiratorio para evitar el estancamiento del moco espeso en los alvéolos pulmonares, aumenta la secreción de vías respiratorias, potencia la producción de surfactante pulmonar y mejora el aclaramiento mucociliar, como consecuencia, facilita la expectoración y alivia la tos generada como mecanismo para facilitar la expulsión y es entonces que la reducción de la viscosidad puede ayudar a que el vaciamiento sea más fácil y exista una completa mejoría. El ambroxol es empleado como coadyuvante en diversas enfermedades como son la bronquitis aguda y crónica, asma bronquial, bronquiectasia, neumonía, bronconeumonía, rinitis, rinosinusitis, faringitis, otitis media, atelectasia por obstrucción mucosa, traqueostomía y en el preoperatorio y postoperatorio en cirugía principalmente geriátrica, es también útil en el tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria neonatal, dada su capacidad de elevar la producción y liberación de surfactante y de mejorar los mecanismos pulmonares. Este fármaco puede usarse solo (monofármaco) o en combinación con un broncodilatador, en México está aprobado su uso combinado. **(1,2,3,44,45,46)**

Investigaciones detalladas con modernos métodos farmacológicos adicionales han aportado resultados interesantes encontrándose que el ambroxol tiene efectos profundos sobre la tensión neuronal puerta- $\text{Na}^{(+)}$ , así como de canales  $\text{Ca}^{(2+)}$  reduciendo de manera eficaz la inflamación y dolor neuropático crónico en roedores. En 2002, se comercializaron tabletas de ambroxol para el tratamiento del dolor de garganta haciendo uso de su efecto anestésico local. **(2)**

En 2004 Stetinová V. et al pertenecientes al Instituto de Biofarmacéutica Experimental del Centro Común de Investigación de la Academia de Ciencias de la República Checa, reportaron la actividad antioxidante in vitro e in vivo de ambroxol, indicando que además de una acción mucolítica, ambroxol tiene propiedades antioxidantes y anti-inflamatorias. Los efectos antioxidantes de ambroxol estudiados mediante métodos in vitro fueron (1) la inhibición de la degradación del ácido hialurónico inducida por los radicales hidroxilo y (2) estándar de ensayo de la peroxidación de lípidos en las mitocondrias de hígado de rata y de la mucosa gástrica, inducida por el hidroperóxido de terc-butilo. El abordaje in vivo se basó en el estudio del efecto protector de pre-tratamiento con ambroxol en un modelo de cuerpo gástrico y lesiones antro inducidas por indometacina, obteniendo para ambos estudios resultados favorables dado que in vitro ambroxol a una concentración de 10 mmol/L inhibe la peroxidación lipídica en un 96% en las mitocondrias de hígado de rata y en un 74% en la mucosa gástrica. In vivo la inhibición del número de lesiones gástricas corpus y el índice de lesiones antro fueron inhibidas en menor medida hasta en un 27% por la misma dosis de ambroxol, administrados 30 minutos antes del tratamiento con indometacina. **(3)**

Thomas Weiser, reportó en 2008 el efecto anestésico del clorhidrato ambroxol como una nueva acción farmacológica beneficiosa en el tratamiento agudo de las

---

---

infecciones del tracto respiratorio. Ésta cuestión permitió volver a examinar la farmacocinética así como su toxicología planteándose la cuestión de si ambroxol afecta el sistema nervioso central (SNC) directamente, o si sus efectos pueden explicarse únicamente por una acción periférica. Se ha llegado a la conclusión de que, incluso en las más altas dosis utilizadas clínicamente ambroxol no tiene importantes efectos directos sobre el SNC en las concentraciones plasmáticas o no logra penetrar la barrera hematoencefálica o sus niveles son demasiado bajos para causar efectos pertinentes. Los efectos analgésicos de ambroxol ya sea por la administración sistémica en animales, o mediante la aplicación tópica en el ser humano pueden explicarse por el bloqueo de los canales iónicos en las neuronas periféricas inducidas por el ambroxol. De tal modo la eficacia y la seguridad de ambroxol están bien establecidas. **(1)**

**Precauciones importantes:** Dado que el ambroxol es una sustancia que irrita la mucosa gástrica, se recomienda no tomarlo si se padece gastritis o úlcera péptica. Las mujeres embarazadas o en período de lactancia deben evitar su consumo. **(44)**

### **2.5.3 Farmacocinética.**

La distribución de ambroxol de la sangre al tejido, tras la administración oral, es rápida y se absorbe casi completamente, alcanzándose la concentración máxima de principio activo en el pulmón. El tiempo de máxima absorción después de una administración oral es de 1-3 horas. La biodisponibilidad absoluta es de 70-80%, debido al efecto de primer paso hepático en el que se metaboliza de 20-30% de la dosis, durante el cual se forman varios metabolitos que carecen de efecto tóxico (por ejemplo, ácido dibromoatranílico y glucoronidos), se elimina por vía renal en forma de glucoronidos hasta 90% y 10% se elimina en forma inalterada. La unión a proteínas plasmáticas es de aproximadamente 85% (80-90%), la vida media plasmática terminal es de 7-12 horas. Debido a su alta unión a proteínas, gran volumen de distribución y lenta redistribución desde los tejidos hacia la sangre, no se espera eliminación sustancial de ambroxol mediante diálisis o diuresis forzada. **(44,45,48)**

El ambroxol fue estudiado usando compuestos marcados con C<sub>14</sub>, demostrando que enseguida de su absorción oral y después del paso por el hígado, actúa como enzima proteolítica, trabajando en la estructura molecular del esputo (rompiendo ligaduras) dando lugar a subunidades de la estructura, produciendo una activación de la sialiltransferasa con el consecuente aumento de las sialomucinas en el moco bronquial y pulmonar, tornando a la normalidad la cantidad secretada de moco. Igualmente, estimula la tasa de inmunoglobulina lo cual regula la viscosidad y la elasticidad del moco, facilitando su transporte por los cilios. Se observa que la vida media de eliminación del material radiactivo en sangre se estima entre 20 y 25 horas en el hombre, lo cual aparentemente se debe a la disposición de los metabolitos acidificados. Después de la segunda dosis oral se alcanzan niveles terapéuticos por arriba de 30 ng/mL y no se acumula en suero. La depuración renal de ambroxol es de aproximadamente 53 mL/min, en enfermedades hepáticas severas la depuración de ambroxol se reduce entre 20-40%. **(44,45,48)**

---

---

#### 2.5.4 Farmacodinamia.

El ambroxol, un derivado de la bencilamina, es un metabolito N-desmetil activo de la bromhexina (VIII metabolito), posee una actividad secretolítica y secretomotora en el tracto bronquial lo cual le permite tener propiedades fluidificantes y expectorantes. Estos efectos se han confirmado en diferentes estudios, sin embargo el mecanismo de la acción de ambroxol en función de la célula es aun desconocido. El ambroxol aumenta la proporción acuosa de las secreciones bronquiales facilita el transporte de moco mediante la disminución de la viscosidad y la activación del epitelio ciliado. Hay datos que sugieren aumento en la permeabilidad de la barrera que se encuentra entre los vasos y los bronquios después de la administración de ambroxol. La concentración plasmática máxima se alcanza entre 0.5 y 3 horas después de la administración por vía oral. El ambroxol administrado en dosis terapéuticas pasa a la leche materna, sin embargo, esto no afecta al lactante. **(44,45,49)**

#### 2.5.5 Presentación y Dosis.

El clorhidrato de ambroxol no requiere receta médica para su adquisición, debido a que pertenece al grupo VI de la clasificación de medicamentos dada por la Secretaria de Salud (SSA), se encuentra en el mercado en diferentes presentaciones tales como: cápsulas, tabletas, aerosoles, soluciones y jarabes. **(44,45,50)**

**Tabla 5.** Dosis establecidas para la administración de clorhidrato de ambroxol.

EDAD (años)	PESO (Kg )	DOSIS (mg)	
niños 1-2	< 12	7.5	2 veces al día
niños 2-5	12-16	7.5	3 veces al día
niños 6-12	16-22	15	2-3 veces al día
> 12 y adultos	+ 23	30	3 veces al día

#### 2.5.6 Efectos secundarios.

Los más comunes son de carácter gastrointestinal que desaparecen cuando deja de tomarse el medicamento, puede llegar a causar diarrea, náusea y vómito. Rara vez puede presentarse cefalea. **(1,2,44,45)**

#### 2.5.7 Toxicidad.

Hasta la fecha se desconocen los síntomas de intoxicación por clorhidrato de ambroxol en el ser humano. Aunque no se ha demostrado acción teratógena (siguiendo las reglas internacionales) el uso del ambroxol no se recomienda durante el primer trimestre del embarazo. **(1,2,44,45)**

---

---

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Los Laboratorios Farmacéuticos son los encargados de la fabricación de medicamentos empleados en el tratamiento y la prevención de enfermedades de la comunidad en general, por tanto hoy en día se tiende al mejoramiento continuo de métodos y procesos apegados a las exigencias del mercado y a la normatividad vigente del país para satisfacer las emergentes necesidades de salud de la población. Debido a esto los Laboratorios Farmacéuticos buscan y desarrollan nuevas técnicas de análisis con una mayor eficiencia, reduciendo tiempos, costos, materias primas, residuos tóxicos e incluso aumentando la seguridad del analista dentro del laboratorio.

Se han empleado diversos métodos analíticos para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol en sus distintas formas farmacéuticas, Koundourellis J. et al. reporta la determinación de ambroxol en presencia de diferentes conservadores por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) en el año 2002, en el 2003 Zafer D. et al. reporta la cuantificación de ambroxol en tabletas por espectrofotometría UV y HPLC, incluso se han publicado métodos más complejos para su determinación en fluidos biológicos, pero sólo uno de ellos se ha aplicado a un jarabe, Maarit Heinanen et al. reporta en 2001 múltiples inconvenientes debido a la presencia de excipientes, estabilizadores y sustancias aromatizantes en la formulación. La mayoría de éstas técnicas todavía no son empleadas como métodos prácticos en los Laboratorios de Control de Calidad Farmacéutica ya que no cumplen con la dinámica de trabajo dentro de un laboratorio, debido a que la preparación de la muestra es ardua y se consume mucho tiempo durante el análisis. **(36,39,40)**

El método analítico descrito en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 9ª edición, para la valoración de clorhidrato de ambroxol en solución, requiere el empleo de éter dietílico para la extracción de las muestras, dicho método al ser ejecutado tanto en una formulación comercial como en una formulación desarrollada internamente en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza, proporciona resultados no reproducibles con una DER superior al criterio de aceptación establecido en la Guía de Validación para métodos químicos y espectrofotométricos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C. **(5,6)**

Por tal motivo en el desarrollo experimental de éste trabajo se pretendió diseñar un método analítico por espectrofotometría ultravioleta para cuantificar clorhidrato de ambroxol en jarabe, de tal manera que el análisis de las muestras fuera más simple, rápido y preciso, sobreponiéndose a la complejidad normal de las técnicas de extracción y evitando así el manejo de disolventes tóxicos. El método analítico propuesto fue validado, obteniendo resultados satisfactorios, confiables y reproducibles, demostrando así que la capacidad del método satisface los requisitos para los que fue diseñado.



---

---

## 4. OBJETIVOS

### General

- Establecer un método analítico por espectroscopia ultravioleta para cuantificar clorhidrato de ambroxol en jarabe de manera rápida y sencilla, comprobando mediante la validación que el método cumple con los lineamientos estipulados para los cuales fue diseñado.

### Particulares

- Reducir el tiempo y costo del análisis de las muestras.
- Emplear un disolvente apropiado que minimice la exposición del analista a sustancias peligrosas y a su vez disminuya la generación de desechos tóxicos al medio ambiente.
- Evaluar la precisión del método analítico en una formulación comercial (Axol Bayer).



---

## **5. HIPÓTESIS**

El desarrollo y la validación del método analítico propuesto para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol en jarabe por espectrofotometría ultravioleta, garantiza la obtención de resultados confiables y reproducibles para la formulación desarrollada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza.

---

---

## 6. MATERIAL

### **Materiales:**

- Matraces volumétricos de 100 mL
- Matraces volumétricos de 50 mL
- Pipetas volumétricas de 1 mL
- Pipetas volumétricas de 5 mL
- Pipetas graduadas de 1 mL
- Pipetas graduadas de 2 mL
- Pipetas graduadas de 5 mL
- Probetas de 25 mL
- Probetas de 100 mL
- Bureta de 10 mL
- Vasos de precipitado de 100 mL
- Vasos de precipitado de 250 mL
- Vasos de precipitado de 500 mL
- Embudos de vidrio talle corto
- Tubos de ensaye 13X100
- Gradilla
- Soporte universal
- Pinzas dobles para bureta

### **Instrumentos:**

- Espectrofotómetro UV/VIS Perkin-Elmer Lambda 2
- Balanza analítica Mettler Toledo
- Termómetro -10 a 150 °C

### **Equipo:**

- Parrilla de calentamiento

### **Reactivos:**

- Peróxido de hidrógeno 30% ( $H_2O_2$ )
- Agua destilada

### **Sustancia de Referencia Secundaria:**

Clorhidrato de Ambroxol, Lote: 85225  
Pureza: Base húmeda 100.82%, Base seca 100.99%  
Proveedor: Sehyex SB

### **Soluciones:**

- Ácido clorhídrico 0.1 N (HCl)
- Ácido clorhídrico 1N
- Hidróxido de sodio 1N (NaOH)

---

---

### Preparación HCl 0.1N

En un matraz volumétrico de 1000 mL depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 8.5 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua. <sup>(5)</sup>

### Preparación HCl 1N

En un matraz volumétrico de 1000 mL depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 85 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua. <sup>(5)</sup>

### Preparación NaOH 1N

En un vaso de precipitados disolver 42 g de hidróxido de sodio con 150 mL de agua libre de dióxido de carbono, dejar enfriar la solución a temperatura ambiente, pasar a un matraz volumétrico de 1000 mL y llevar a volumen con agua libre de dióxido de carbono. <sup>(5)</sup>

### Insumos:

- Placebo de Jarabe de Clorhidrato de Ambroxol (Fabricado en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza).
- Jarabe de Clorhidrato de Ambroxol 3 mg/mL (Fabricado en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza).
- Jarabe de Clorhidrato de Ambroxol 3 mg/mL (Axol Bayer Lote: 08080516)

### Formulación del jarabe de clorhidrato de ambroxol elaborado en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza.

Formulación	1000 mL
Clorhidrato de ambroxol	3 g
Sacarosa	200 g
Fructuosa	200 g
Conservador 1	1 g
Conservador 2	0,15 g
Sabor cereza	0,4 g
Propilenglicol	60 mL
Glicerina	110 mL
Agua c.b.p.	1000 mL

Para la fabricación del jarabe de clorhidrato de ambroxol fue empleado el método de solución con calor debido a que las características físicas y químicas de los componentes que integran la formulación no se ven afectadas por éste método de fabricación, además de ser una preparación rápida y sencilla.

---

---

PROCEDIMIENTO:

- A. En dos vasos de acero inoxidable con capacidad de 500 mL, disolver por separado los 200 g de sacarosa y 200 g de fructuosa en 300 mL de agua caliente a 70 °C cada uno, con agitación constante y hasta disolución total.
- B. Filtrar en caliente ambas soluciones y recibirlas en un vaso de acero inoxidable de 2000 mL, agitar y dejar enfriar a una temperatura aproximada de 30 °C.
- C. En un vaso de acero inoxidable de 500 mL colocar 3 g de clorhidrato de ambroxol y disolverlo con agitación constante en 60 mL de propilenglicol, 60 mL de glicerina y 200 mL de agua caliente a 40 °C hasta disolución total.
- D. En un vaso de 125 mL de acero inoxidable colocar 1 g del conservador 1, 0.15 g del conservador 2 y los 50 mL restantes de glicerina, agitar constantemente hasta disolución total.
- E. En un vaso de acero inoxidable de 125 mL colocar 0.4 g de sabor cereza y disolverlo con 20 mL de agua.
- F. A la solución filtrada de los edulcorantes agregarle con agitación constante las soluciones obtenidas en el paso C, D y E.
- G. Ajustar el pH de la solución anterior a 6.5 utilizando la cantidad necesaria de NaOH 0.1 N y aforar con agua a un volumen final de 1000 mL.
- H. Realizar los controles de calidad y proceder a acondicionar en envases de vidrio color ámbar.

### **Preparación del placebo analítico**

El placebo analítico utilizado en la validación del método se elaboró con todos los excipientes de la formulación del jarabe a excepción del principio activo (clorhidrato de ambroxol), y fue fabricado por el método de solución con calor de igual forma que el jarabe.

### **Preparación del placebo cargado**

Pesar con exactitud 300 mg de clorhidrato de ambroxol y transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 100 mL; adicionar aproximadamente 70 mL de placebo y agitar mecánicamente hasta disolución total, llevar al aforo con el placebo analítico y mezclar. De ser necesario calentar para disolver y esperar a que se enfríe.

---

---

## 7. METODOLOGÍA

### **Desarrollo del método analítico.**

Realizar una revisión bibliográfica y de acuerdo a la literatura consultada efectuar pruebas de solubilidad del principio activo (clorhidrato de ambroxol).

Preparar muestras analíticas a distintas concentraciones con los solventes seleccionados y realizar barridos a todas ellas en un rango de lectura de 200 a 400 nm.

Analizar los espectros de absorción obtenidos y seleccionar el solvente apropiado y la longitud de onda adecuada para la máxima absorción del analito.

A continuación preparar el placebo analítico y el jarabe de Clorhidrato de Ambroxol por el método de fabricación mencionado con anterioridad.

Realizar barridos de 200 a 400 nm al placebo y analizar si existe interferencia alguna con el analito.

En seguida desarrollar la técnica apropiada para la preparación tanto de la sustancia de referencia como de las muestras analíticas necesarias para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol en jarabe y establecer las concentraciones de trabajo necesarias para obtener absorbancias de entre 0.5 y 0.6.

Una vez obtenido el método analítico, determinar las características de la validación que necesitan ser evaluadas para determinar si la capacidad del método satisface los requisitos para los cuales fue diseñado, evaluando los parámetros de precisión del sistema, linealidad del sistema, especificidad, exactitud, precisión del método, linealidad del método, estabilidad analítica de la muestra y robustez, con base a lo establecido en la Guía de Validación de Métodos Analíticos.

Finalmente realizar un análisis de tiempo y costos, así como de la generación de desechos para el método farmacopeico y el método analítico desarrollado.

### **Parámetros de desempeño evaluados durante la validación del método analítico.**

#### **Precisión del sistema**

Procedimiento:

Preparar un sextuplicado de soluciones a una concentración de 60µg/mL de clorhidrato de ambroxol por el método de pesadas independientes, posteriormente medir la respuesta analítica a una longitud de 308 nm utilizando como blanco de ajuste ácido clorhídrico (HCl ) 0.1 N.

---

Cálculos:

Realizar el cálculo de la desviación estándar (S), y el coeficiente de variación (CV) de la respuesta analítica.

Criterios de aceptación:

- $CV \leq 1.5\%$

Valores superiores se pueden presentar para métodos de contenido de impurezas ó en métodos que utilizan un sistema biológico de medición, estos deben ser justificados.

## Linealidad del sistema

### Preparación de la solución patrón

Pesar el equivalente a 30 mg de clorhidrato de ambroxol y transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 mL, llevar al aforo con HCl 0.1 N y mezclar. Concentración aproximada 0.6 mg/mL.

Procedimiento:

Preparar por triplicado cinco niveles de concentración por el método de diluciones tomando los volúmenes indicados en la Tabla 6 de la solución patrón de clorhidrato de ambroxol transferirlos a matraces volumétricos de 50 mL y llevar al aforo con HCl 0.1 N. Posteriormente medir la respuesta analítica de cada muestra a una longitud de onda de 308 nm utilizando HCl 0.1 N como blanco de ajuste. Reportar la relación concentración contra respuesta analítica.

**Tabla 6.** Linealidad del sistema

NIVEL DE CONCENTRACIÓN (%)	SOLUCIÓN PATRÓN (mL)	CONCENTRACIÓN REAL (mg/mL)
60	3	0,036
80	4	0,048
100	5	0,060
120	6	0,072
140	7	0,085

Cálculos:

Calcular el valor de la pendiente ( $b_1$ ), la ordenada al origen ( $b_0$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el intervalo de confianza para la pendiente ( $IC(\beta_1)$ ). Trazar la gráfica de la concentración (X) vs. señal analítica (Y), incluyendo la ecuación de la recta, su línea de ajuste y el coeficiente de determinación.

Criterios de aceptación:

- El intervalo de confianza para la pendiente  $IC(\beta_1)$  no debe incluir el cero.
- El coeficiente de determinación ( $r^2$ ) debe ser mayor o igual a 0.98.

---

---

## Especificidad

### Preparación de Referencia

Pesar con exactitud el equivalente a 30 mg de clorhidrato de ambroxol y transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 mL, llevar al aforo con HCl 0.1 N y mezclar. Transferir una alícuota de 5 mL a un matraz volumétrico de 50 mL y llevar al aforo con el mismo disolvente. Concentración aproximada 60  $\mu\text{g/mL}$ .

### Preparación de la muestra

Transferir 1 mL de jarabe de clorhidrato de ambroxol a un matraz volumétrico de 50 mL y llevar al aforo con una solución de HCl 0.1 N y mezclar. Concentración aproximada 60  $\mu\text{g/mL}$ .

Procedimiento:

Verificar la habilidad del método analítico para obtener respuestas debidas únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra, evaluando:

- Especificidad con respecto al blanco de reactivos. Realizar un barrido a una muestra de HCl 0.1 N en un rango de 200 a 400 nm. Utilizar agua como blanco de ajuste.
- Especificidad con respecto al placebo del producto. Transferir 1mL de placebo a un matraz volumétrico de 50 mL y llevar al aforo con HCl 0.1 N, posteriormente leer la muestra en un rango de 200 a 400 nm utilizando como blanco de ajuste HCl 0.1 N.
- Especificidad con respecto a sustancias de degradación como método indicativo de estabilidad.

Debido a que no se cuenta con los posibles productos de degradación, someter una serie de muestras a condiciones drásticas de temperatura, hidrólisis y oxidación, de acuerdo a lo indicado en la Guía de Validación de Métodos Analíticos.

Colocar las muestras en baño maría y monitorear la temperatura entre 60 °C y 80 °C por un tiempo apropiado, sometiendo las muestras a estrés por hidrólisis ácida con HCl 1N, hidrólisis básica con NaOH 1N y para favorecer la oxidación emplear peróxido de hidrógeno al 30%. Realizar barridos a todas las muestras analíticas en un rango de 200 a 400 nm, utilizando HCl 0.1 N como blanco de ajuste.

Cálculos:

Mostrar el espectro obtenido al analizar el blanco de reactivos y de manera independiente los registros de las señales del espectro obtenidas en la preparación de la muestra vs la sustancia de referencia y el placebo vs la sustancia de referencia.

Criterios de aceptación:

- La respuesta del método únicamente debe ser debida al analito.

---

---

## Exactitud y Repetibilidad

### Preparación de la muestra

Tomar una alícuota de 1 mL de placebo cargado, transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 mL y llevar al aforo con HCl 0.1 N y mezclar. Concentración aproximada 60  $\mu\text{g/mL}$ .

Procedimiento:

Analizar por un mismo analista y bajo las mismas condiciones de análisis, un sextuplicado de muestras. Preparar una sustancia de referencia a una concentración de 60  $\mu\text{g/mL}$ . Leer las muestras analíticas y la sustancia de referencia a una longitud de 308 nm y determinar la cantidad recuperada del analito, tomando como referencia la cantidad adicionada.

Cálculos:

Calcular la cantidad adicionada (mg/mL), cantidad recuperada (mg/mL) y porcentaje de recobro (%) de cada placebo cargado, calculando el promedio aritmético ( $\hat{y}$ ), la desviación estándar (S), el coeficiente de variación (CV) y el intervalo de confianza para la media poblacional IC( $\mu$ ) del porcentaje de recobro.

Criterios de aceptación:

- El intervalo de confianza para la media poblacional IC ( $\mu$ ) debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo del 97-103%.
- El CV  $_{\%rec} \leq 3 \%$ .

## Linealidad del Método

Procedimiento:

Analizar por triplicado cinco niveles de concentración, tomando los volúmenes indicados en la Tabla 7 del placebo cargado, transfiriéndolos a matraces volumétricos de 50 mL, llevar al aforo con HCl 0.1 N y mezclar. Analizar las muestras por el mismo analista, utilizando como referencia la cantidad adicionada para determinar la cantidad recuperada del analito. Preparar la solución de referencia a una concentración de 60  $\mu\text{g/mL}$ .

Medir la respuesta analítica de cada muestra a una longitud de onda de 308 nm utilizando HCl 0.1 N como blanco de ajuste.



**Tabla 7.** Linealidad del método

NIVEL DE CONCENTRACIÓN (%)	PLACEBO CARGADO (mL)	CANTIDAD ADICIONADA (mg)
60	0,6	1,8
60	0,6	1,8
60	0,6	1,8
80	0,8	2,4
80	0,8	2,4
80	0,8	2,4
100	1,0	3,0
100	1,0	3,0
100	1,0	3,0
120	1,2	3,6
120	1,2	3,6
120	1,2	3,6
140	1,6	4,2
140	1,6	4,2
140	1,6	4,2

**Cálculos:**

Reportar la relación cantidad adicionada vs cantidad recuperada, calcular el valor de la pendiente ( $b_1$ ), la ordenada al origen ( $b_0$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el intervalo de confianza para la pendiente ( $IC(\beta_1)$ ), el intervalo de confianza para la ordenada al origen ( $IC(\beta_0)$ ) y el coeficiente de variación de regresión ( $CV_{y/x}$ ). Calcular el porcentaje de recobro de cada muestra adicionada, y el promedio ( $\hat{y}$ ), la desviación estándar ( $S$ ), el coeficiente de variación ( $CV$ ) y el intervalo de confianza para la media poblacional  $IC(\mu)$  del porcentaje de recobro. Graficar los datos obtenidos.

Criterios de aceptación:

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada

- $r^2 \geq 0.98$
- El  $IC(\beta_1)$  debe incluir la unidad.
- El  $IC(\beta_0)$  debe incluir el cero.
- El  $CV_{y/x} \%_{rec} \leq 3 \%$ .

Porcentaje de recobro

- El  $IC(\mu)$  debe incluir el 100% o que el promedio aritmético del porcentaje de recobro se incluya en el intervalo del 97-103% si el método es químico o espectrofotométrico.
- El  $CV \%_{rec} \leq 3 \%$ .

---

---

## Precisión del método

Procedimiento:

Determinar la precisión del método en dos formulaciones como se describe a continuación:

Analizar por triplicado una muestra homogénea de la formulación desarrollada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza y la Formulación comercial (Axol Bayer) a un nivel de concentración de 60  $\mu\text{g/mL}$ , en dos días diferentes y por dos analistas diferentes. Utilizar el mismo espectrofotómetro (Perkin-Elmer Lambda 2), con la misma sustancia de referencia a una concentración de 60  $\mu\text{g/mL}$  y bajo las mismas condiciones de análisis.

Leer las muestras a una longitud de onda de 308 nm empleando HCl 0.1 N como blanco de ajuste.

Cálculos:

Reportar el contenido del analito en todas las muestras y calcular la media aritmética ( $\hat{y}$ ), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV) de cada formulación.

Criterios de aceptación:

- El CV  $\leq$  3%

No mayor a una magnitud preestablecida acorde a la especificación del analito en la muestra. Valores superiores deben ser justificados.

## Estabilidad analítica de la muestra

Procedimiento:

Determinar por triplicado la estabilidad analítica para muestras independientes provenientes de una muestra homogénea a una concentración de 60  $\mu\text{g/mL}$  bajo condiciones de Refrigeración (2 - 8 °C) y Temperatura ambiente (15 - 30 °C) a las 24 y 48 hrs. Preparar una solución de referencia a una concentración de 60  $\mu\text{g/mL}$ .

Leer las muestras a una longitud de onda de 308 nm, utilizando HCl 0.1 N como blanco de ajuste.

Cálculos:

Calcular la media aritmética del análisis inicial ( $\hat{y}_0$ ) y de cada condición de **almacenaje** ( $\hat{y}_i$ ). Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto del análisis inicial ( $|d_i|$ ).

---

---

Criterios de aceptación:

- $|d_i| \leq 3\%$  para métodos químicos o espectrofotométricos

No mayor a una magnitud preestablecida acorde a la especificación del analito en la muestra. Valores superiores deben ser justificados.

## Robustez

Procedimiento:

Establecer factores instrumentales y factores no instrumentales, para verificar la capacidad del método analítico de producir resultados consistentes al realizar pequeñas variaciones en el método.

Condiciones de operación establecidas:

- Longitud de onda (factor instrumental)

Tomar por triplicado muestras analíticas a una concentración de 60  $\mu\text{g/mL}$  y leer a las siguientes longitudes de onda: 307, 308 y 309 nm. Utilizar HCl 0.1 N como blanco de ajuste.

- Depósito de la muestra (factor no instrumental)

Tomar por triplicado muestras del jarabe de clorhidrato de ambroxol de 1 mL y transferir cuantitativamente a matraces volumétricos de 50 mL de la siguiente manera:

1. Realizando enjuagues a la pipeta con HCl 0.1 N.
2. Escurriendo la pipeta durante 2 minutos.
3. En forma directa dejando caer la muestra por gravedad.

Posteriormente llevar al aforo con HCl 0.1 N y mezclar.

Leer las muestras a una longitud de 308 nm, empleando como blanco de ajuste HCl 0.1 N.

Cálculos:

Calcular la media aritmética de la condición normal de operación ( $\hat{y}_0$ ) y de cada **condición de operación diferente a la condición normal** ( $\hat{y}_i$ ). Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de operación diferente a la condición normal ( $|d_i|$ ).

Criterios de aceptación:

- $|d_i| \leq 3\%$  para métodos químicos o espectrofotométricos.

No mayor a una magnitud preestablecida, acorde a la especificación del analito en la muestra. Cualquier otro criterio de aceptación, debe ser justificado.

---

Las fórmulas empleadas durante la validación del método analítico, así como los cálculos realizados en cada uno de los parámetros para la precisión del sistema, linealidad del sistema, especificidad, exactitud y repetibilidad, linealidad del método, precisión del método, estabilidad analítica de la muestra y robustez, pueden consultarse en su totalidad en los anexos 13.2 y 13.3 respectivamente.

---

---

## 8. RESULTADOS

### **Método analítico propuesto para cuantificar ambroxol en jarabe:**

#### Preparación de la sustancia de referencia.

Pesar con exactitud 30 mg de clorhidrato de ambroxol y transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 mL, llevar al aforo con una solución de HCl 0.1 N y mezclar. Transferir una alícuota de 5 mL a un matraz volumétrico de 50 mL y llevar al aforo con el mismo disolvente. Concentración aproximada 60  $\mu\text{g/mL}$  de clorhidrato de ambroxol.

#### Preparación de la muestra.

Transferir 1 mL de jarabe de clorhidrato de ambroxol a un matraz volumétrico de 50 mL y llevar al aforo con una solución de HCl 0.1 N y mezclar. Concentración aproximada 60  $\mu\text{g/mL}$  de clorhidrato de ambroxol.

Obtener la absorbancia de la preparación de referencia y de la muestra, a la longitud de onda de máxima absorbancia de 308 nm, utilizar celdas de cuarzo de 1.0 cm y solución de ácido clorhídrico 0.1 N como blanco de ajuste. Calcular la cantidad de  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{Br}_2\text{ClN}_2\text{O}$ , en el volumen de muestra tomado en base a los siguientes cálculos.

$$C = \frac{A_m}{A_{ref}} * \frac{P_{ref}}{V_m} * \frac{FD_m}{FD_{ref}} * \text{Pureza}$$

C= Cantidad de ambroxol en mg/mL

$A_m$ = Absorbancia de la muestra

$A_{ref}$ = Absorbancia de la referencia

$P_{ref}$ = Peso de la referencia en mg

$V_m$ = Volumen de la muestra mL

$FD_m$ = Factor de dilución de la muestra

$FD_{ref}$ = Factor de dilución de la referencia

Pureza= Pureza de la sustancia de referencia en base húmeda expresada en fracción decimal.

## Resultados obtenidos en la validación del método analítico:

### Precisión del sistema

**Tabla 8.** Datos de absorbancia obtenidos para la precisión del sistema.

CONCENTRACIÓN (µg/mL)	ABSORBANCIA
60	0,450
60	0,451
60	0,456
60	0,452
60	0,454
60	0,452

$\hat{y} = 0.450$   
 $S = 0.002$   
 $CV = 0.48\%$

Criterios de Aceptación:  
 $CV \leq 1.5\%$

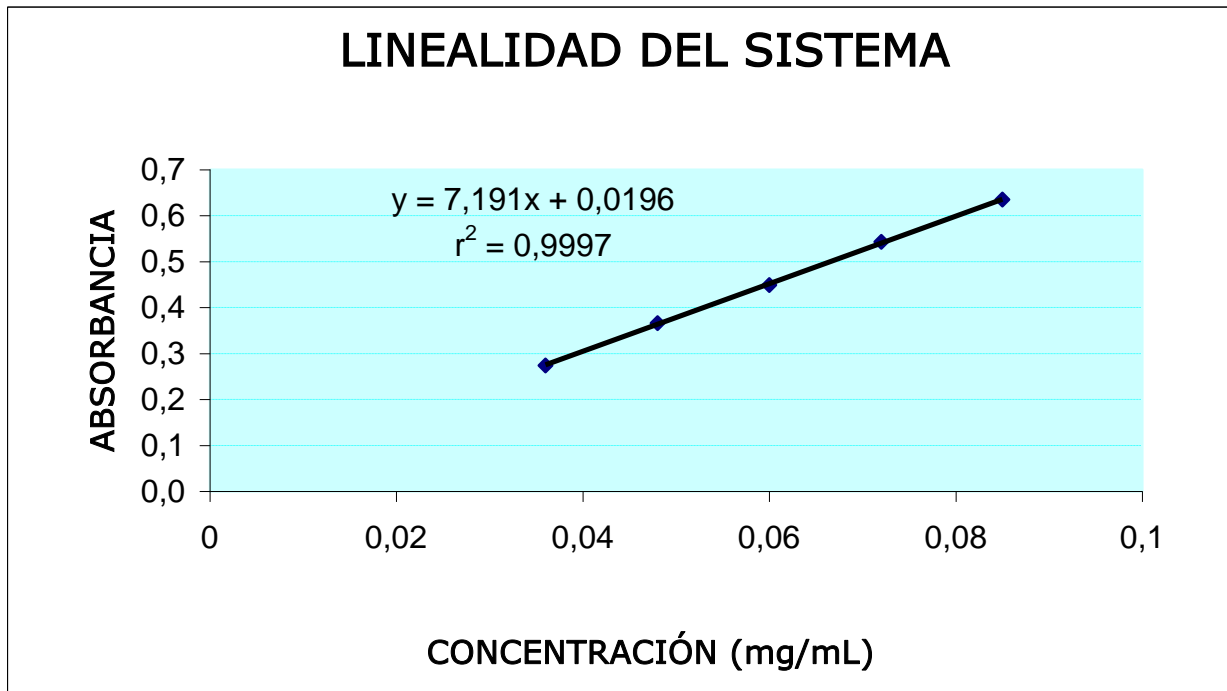
### Linealidad del sistema

**Tabla 9.** Datos de absorbancia obtenidos para la linealidad del sistema.

NIVEL DE CONCENTRACION (%)	CONCENTRACION (mg/mL)	ABSORBANCIA
60	0,036	0,274
60	0,036	0,271
60	0,036	0,275
80	0,048	0,366
80	0,048	0,367
80	0,048	0,358
100	0,060	0,449
100	0,060	0,450
100	0,060	0,448
120	0,072	0,543
120	0,072	0,542
120	0,072	0,543
140	0,085	0,635
140	0,085	0,635
140	0,085	0,632

$b_1 = 7.19$   
 $b_0 = 0.02$   
 $r^2 = 0.9997$   
 $IC(\beta_1) = \text{De } 6.94 \text{ a } 7.45$

Criterios de Aceptación:  
 $IC(\beta_1)$  no debe incluir el cero  
 $r^2 \geq 0.98$



**Figura 10.** Gráfica obtenida en la linealidad del sistema.

### Especificidad

En la Tabla 10 y 11 se observan los resultados obtenidos al evaluar la especificidad del método con respecto a los excipientes y a los productos de degradación de la formulación desarrollada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza. En el anexo 13.1 se muestran los espectros de absorción obtenidos.

**Tabla 10.** Resultados obtenidos en la especificidad del método con respecto a los excipientes de la formulación.

PRUEBA	RESPUESTA
Blanco de reactivos HCl 0,1N	No hay respuesta analítica
Placebo	No hay respuesta analítica
Placebo cargado	La respuesta se debe únicamente al analito

**Tabla 11.** Resultados obtenidos en la especificidad del método con respecto a productos de degradación.

PRUEBA	RESPUESTA
Hidrólisis ácida	La respuesta se debe únicamente al analito
Hidrólisis básica	La respuesta se debe únicamente al analito
Oxidación	La respuesta se debe únicamente al analito

## Exactitud y repetibilidad del método analítico

**Tabla 12.** Datos obtenidos para exactitud y repetibilidad del método analítico.

NIVEL DE CONCENTRACION (%)	CANTIDAD ADICIONADA (mg/mL)	CANTIDAD RECUPERADA (mg)	%RECOBRO
100	3,0	3,00	100,22
100	3,0	3,03	100,89
100	3,0	3,01	100,44
100	3,0	3,01	100,44
100	3,0	3,01	100,44
100	3,0	2,95	98,43

$$\hat{y} = 100.14$$

$$S = 0.87$$

$$CV = 0.87 \%$$

$$IC(\mu) = \text{De } 99.38 \text{ a } 100.90 \%$$

Criterios de Aceptación:

$IC(\mu)$  debe incluir el 100 % o dentro 97-103 %

$$CV\%_{rec} \leq 3\%$$

## Linealidad del método

**Tabla 13.** Resultados de linealidad del método

CANTIDAD ADICIONADA (mg/mL)	CANTIDAD RECUPERADA (mg/mL)	%RECOBRO
1,8	1,83	101,64
1,8	1,86	103,13
1,8	1,80	100,14
2,4	2,45	102,01
2,4	2,43	101,17
2,4	2,42	100,89
3,0	3,01	100,44
3,0	3,01	100,44
3,0	3,01	100,44
3,6	3,67	102,01
3,6	3,65	101,45
3,6	3,62	100,70
4,2	4,16	99,13
4,2	4,15	98,81
4,2	4,20	99,93

### Cantidad adicionada vs Cantidad recuperada

$$b_1 = 0.98$$

$$b_0 = 0.07$$

$$r^2 = 0.9984$$

$$IC(\beta_1) = \text{De } 0.94 \text{ a } 1.03$$

$$IC(\beta_0) = \text{De } 0.20 \text{ a } -0.06$$

$$CV_{y/x} = 2.14\%$$



Criterios de Aceptación:

$$r^2 \geq 0.98$$

IC( $\beta_1$ ) debe incluir la unidad

IC( $\beta_0$ ) debe incluir el cero

$$CV_{y/x} \% \text{ rec} \leq 3\%$$

### Porcentaje de Recobro

$$\hat{y} = 100.82$$

$$S = 1.10$$

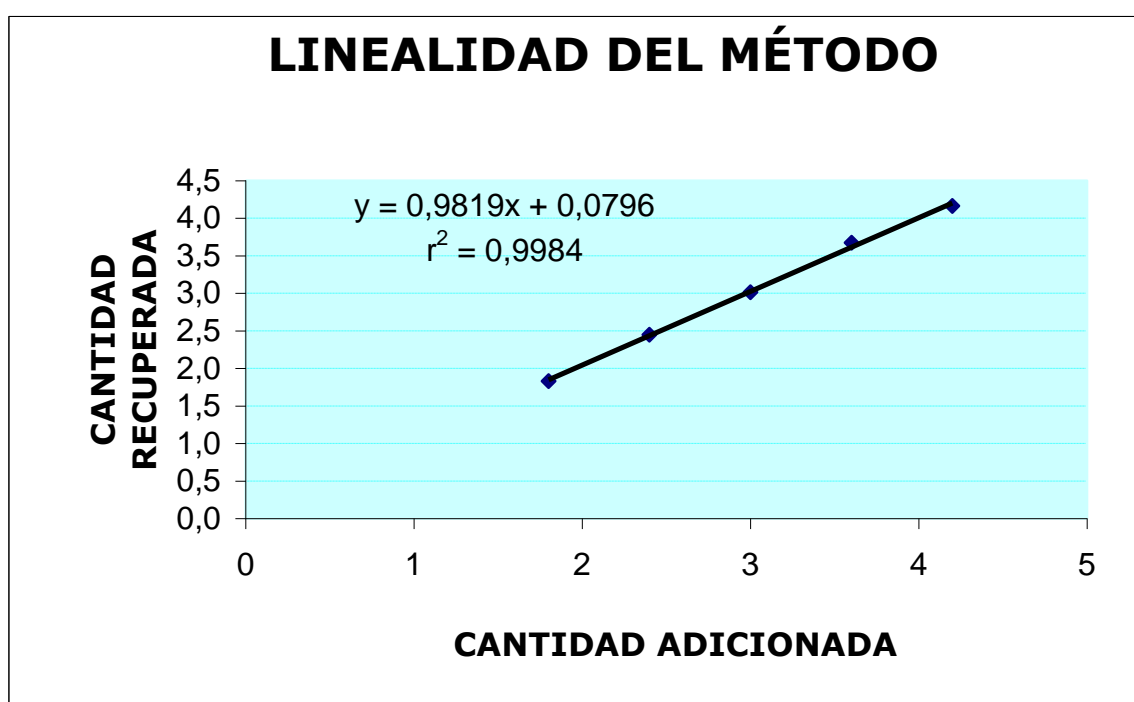
$$CV = 1.09 \%$$

$$IC(\mu) = \text{De } 100.22 \text{ a } 101.43 \%$$

Criterios de Aceptación:

El IC( $\mu$ ) Debe incluir el 100 % o dentro 97-103 %

$$CV \% \text{ rec} \leq 3\%$$



**Figura 11.** Gráfica obtenida en la linealidad del método.

## Precisión del método

En las tablas 14 y 15 respectivamente, se observan los resultados obtenidos al evaluar la precisión del método en la formulación desarrollada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza y en una formulación comercial, analizando la misma muestra por 2 analistas diferentes en 2 días diferentes.

**Tabla 14.** Valores obtenidos en porcentaje para reproducibilidad, evaluado por 2 analistas diferentes en 2 días diferentes.

FORMULACIÓN DESARROLLADA EN LOS LABORATORIOS FARMACÉUTICOS ZARAGOZA.

		ANALISTA	
		1	2
DÍA	1	104,79	102,85
		107,09	106,28
		107,55	107,42
DÍA	2	105,96	108,72
		106,66	108,96
		106,89	109,67

$\hat{y}$  = 106.90  
S = 1.86  
CV = 1.74%

Criterios de Aceptación:  
CV  $\leq$  3%

**Tabla 15.** Valores obtenidos en porcentaje para reproducibilidad, evaluado por 2 analistas diferentes en 2 días diferentes.

FORMULACIÓN COMERCIAL (AXOL BAYER).

		ANALISTA	
		1	2
DÍA	1	98,60	92,33
		97,23	99,73
		97,91	99,42
DÍA	2	96,75	102,32
		98,36	103,04
		98,13	102,90

$\hat{y}$  = 98.74  
S = 2.88  
CV = 2.92%

Criterios de Aceptación:  
CV  $\leq$  3%

## Estabilidad analítica de la muestra

A continuación se observan los resultados obtenidos al evaluar la estabilidad analítica para muestras independientes a una concentración de 60 µg/mL bajo condiciones de Temperatura ambiente (15 - 30 °C) y Refrigeración (2 - 8 °C) a las 24 y 48 hrs.

**Tabla 16.** Resultados obtenidos en porcentaje para la valoración de muestras independientes en estabilidad analítica.

### TEMPERATURA AMBIENTE

MUESTRA	INICIAL (y <sub>0</sub> )	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO	
		24 hrs y <sub>1</sub>	48 hrs y <sub>2</sub>
1	100,44	99,99	100,22
2	100,44	99,54	99,09
3	100,44	98,87	99,32
$\hat{y}$	100,44	99,47	99,54
CV	0	0,57	0,60
		d <sub>1</sub>  =0,97	d <sub>2</sub>  =0,90

Criterios de Aceptación:  
|d<sub>1</sub>| ≤ 3%

**Tabla 17.** Resultados obtenidos en porcentaje para la valoración de muestras independientes en estabilidad analítica.

### REFRIGERACIÓN

MUESTRA	INICIAL (y <sub>0</sub> )	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO	
		24 hrs y <sub>1</sub>	48 hrs y <sub>2</sub>
1	100,44	98,65	99,77
2	100,44	99,77	100,67
3	100,44	99,32	99,99
$\hat{y}$	100,44	99,25	100,14
CV	0	0,29	0,36
		d <sub>1</sub>  =1,19	d <sub>2</sub>  = 0,30

Criterios de Aceptación:

|d<sub>1</sub>| ≤ 3%

## Robustez

En tabla 18 y 19 se muestran los resultados obtenidos al evaluar la robustez del método analítico para muestras independientes realizando pequeñas variaciones en la longitud de onda y el depósito de la muestra.

**Tabla 18.** Datos obtenidos en porcentaje de las condiciones de operación establecidas para evaluar la Robustez.

DEPÓSITO DE LA MUESTRA

	CONDICION		
	ESCURRIR $y_1$	DIRECTA ( $y_0$ )	LAVADOS $y_2$
	99,58	101,76	107,20
	101,54	101,32	105,46
	102,63	101,54	105,90
$\hat{y}$	101,25	101,54	106,19
CV	1,53	0,22	0,85
		$ d_1 =0,29$	$ d_2 =4,93$

Criterios de Aceptación:

$$|d_1| \leq 3\%$$

**Tabla 19.** Datos obtenidos en porcentaje de las condiciones de operación establecidas para evaluar la Robustez.

LONGITUD DE ONDA

	CONDICION		
	307 nm $y_1$	308 nm $y_0$	309 nm $y_2$
	101,76	101,10	101,54
	102,19	102,63	102,85
	103,50	103,28	104,15
$\hat{y}$	102,48	102,34	102,85
CV	0,88	1,09	1,27
		$ d_1 =0,15$	$ d_2 =0,51$

Criterios de Aceptación:

$$|d_1| \leq 3\%$$

**Tabla 20.** Resultados de la Validación.

PARÁMETRO	VALOR EXPERIMENTAL	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
<b>PRECISIÓN DEL SISTEMA</b>	CV= 0.48 %	CV ≤ 1.5 %
<b>LINEALIDAD DEL SISTEMA</b>	$r^2 = 0.9997$ IC( $\beta_1$ )= de 6.94 a 7.45	$r^2 \geq 0.98$ IC( $\beta_1$ ) no debe incluir el cero
<b>ESPECIFICIDAD</b>	La respuesta del método se debe únicamente al analito.	La respuesta del método únicamente debe ser debida al analito.
<b>EXACTITUD Y REPETIBILIDAD</b>	IC( $\mu$ )= de 99.38 a 100.90 % CV= 0.87 %	IC( $\mu$ ) debe incluir el 100 % o dentro 97-103 % CV ≤ 3 %
<b>LINEALIDAD DEL MÉTODO</b>	<u>ADICIONADO VS RECUPERADO</u> $r^2 = 0.9984\%$ IC( $\beta_1$ )= de 0.94 a 1.03 IC( $\beta_0$ )= 0.20 a -0.06 CV <sub>y/x% rec</sub> = 2.14%  <u>PORCENTAJE DE RECOBRO</u> IC( $\mu$ )= De 100.22 a 101.43%  CV <sub>% rec</sub> = 1.09 %	<u>ADICIONADO VS RECUPERADO</u> $r^2 \geq 0.98$ IC( $\beta_1$ ) debe incluir la unidad IC( $\beta_0$ ) debe incluir el cero CV <sub>y/x% rec</sub> ≤ 3%  <u>PORCENTAJE DE RECOBRO</u> IC( $\mu$ ) debe incluir el 100% o dentro 97-103% CV <sub>% rec</sub> ≤ 3%
<b>PRECISIÓN DEL MÉTODO</b>	<u>Formulación Desarrollada</u> CV= 1.74%  <u>Formulación Comercial</u> CV= 2.92%	CV ≤ 3%
<b>ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA</b>	<u>Temperatura Ambiente</u> 24 hrs  d <sub>1</sub>  = 0.97% 48 hrs  d <sub>2</sub>  = 0.90%  <u>Refrigeración</u> 24 hrs  d <sub>1</sub>  = 1.19% 48 hrs  d <sub>2</sub>  = 0.30%	d <sub>1</sub>   ≤ 3%
<b>ROBUSTEZ</b>	<u>Depósito de la muestra</u>  d <sub>1</sub>  = 0.29%  d <sub>2</sub>  = 4.93%  <u>Longitud de onda</u>  d <sub>1</sub>  = 0.15%  d <sub>2</sub>  = 0.51%	d <sub>1</sub>   ≤ 3%

**Tabla 21.** Descripción del método Farmacopeico vs el método analítico Desarrollado.

<b>MÉTODO</b>	
<b>FEUM 9ª Edición</b>	<b>DESARROLLADO</b>
<p><b>Preparación de referencia.</b> Preparar una solución de clorhidrato de ambroxol a una concentración de 90 µg/mL, en una solución de ácido clorhídrico 0.1 N.</p> <p><b>Preparación de la muestra.</b> Pasar una alícuota de la muestra, equivalente a 9 mg de clorhidrato de ambroxol, a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con solución de ácido clorhídrico 0.1 N y mezclar.</p> <p><b>Procedimiento.</b> Pasar por separado a embudos de separación de 250 mL, la preparación de referencia y la preparación de la muestra, agitar durante 1 minuto cada embudo con 2 porciones de 20 mL cada una de éter dietílico, pasar las fases ácidas a matraces Erlenmeyer de 200 mL, agregar a cada matraz perlas de vidrio y colocarlos en un desecador durante 30 minutos, con aplicación de vacío. Obtener la absorbancia de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra, a la longitud de onda de máxima absorbancia de 307 nm aproximadamente, utilizar celdas de 1,0 cm y solución de ácido clorhídrico 0.1 N como blanco de ajuste. Calcular la cantidad de C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>ClN<sub>2</sub>O presente en el volumen de la muestra.</p>	<p><b>Preparación de referencia.</b> Preparar una solución de clorhidrato de ambroxol equivalente a 60 µg/mL, en una solución de ácido clorhídrico 0.1 N.</p> <p><b>Preparación de la muestra.</b> Transferir 1 mL de la muestra a un matraz volumétrico de 50 mL y llevar al aforo con una solución de ácido clorhídrico 0.1 N y mezclar. Concentración final aproximada de clorhidrato de ambroxol 60 µg/mL.</p> <p><b>Procedimiento.</b> Obtener la absorbancia de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra, a la longitud de onda de máxima absorbancia de 308 nm aproximadamente, utilizar celdas de 1,0 cm y solución de ácido clorhídrico 0.1 N como blanco de ajuste. Calcular la cantidad de C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>ClN<sub>2</sub>O presente en el volumen de la muestra.</p>

**Tabla 22.** Comparación de costos en consumibles para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol por el método farmacopeico y el método desarrollado.

	<b>Método</b>	<b>Consumibles</b>	<b>Presentación</b>	<b>Proveedor</b>	<b>Costo</b>	<b>Total</b>
<b>Cuantificación de clorhidrato de ambroxol</b>	FEUM 9 <sup>a</sup> Edición	Éter dietílico Ácido Clorhídrico SRef Ambroxol Clorhidrato	1 L 1 L 500 mg	J. T. Baker J. T. Baker Cosufar	\$268.87 \$101.83 \$660	\$ 1030.70
	Desarrollado	Ácido Clorhídrico SRef Ambroxol Clorhidrato	1 L 500 mg	J. T. Baker Cosufar	\$101.83 \$660	\$ 761.83

Como se puede observar en la Tabla 22 el costo de los consumibles del método farmacopeico es 35% mayor al de la metodología propuesta para cuantificar clorhidrato de ambroxol en jarabe.

**Tabla 23.** Evaluación de costos para ambos métodos analíticos en un laboratorio con infraestructura.

	<b>Prueba</b>	<b>Tiempo (hrs)</b>	<b>Horas hombre</b>	<b>Consumibles</b>	<b>Total</b>
FEUM 9 <sup>a</sup> Edición	Valoración de Clorhidrato de Ambroxol	5	\$324.45	\$ 1030.70	\$ 1355.15
Desarrollado	Valoración de Clorhidrato de Ambroxol	2	\$129.78	\$ 761.83	\$ 891.61

Sueldo Promedio \$ 10 382<sup>a</sup>  
 Horas mensuales 160  
 Pago por hora \$ 64.89

<sup>a</sup> INEGI, 2004.

En la Tabla 23 se ejemplifican los costos al implementar ambos métodos, partiendo de que el laboratorio ya cuente con la infraestructura necesaria, como lo es el equipo, la cristalería, las instalaciones de agua, luz, etc. En éste caso se observa que el método farmacopeico es 52% mayor al gasto generado por el método propuesto.

**Tabla 24.** Comparación de la generación de desechos obtenidos al realizar la valoración de clorhidrato de ambroxol por los métodos descritos con anterioridad.

	<b>Reactivos</b>	<b>Desechos</b>	<b>Total</b>
FEUM 9 <sup>a</sup> Edición	Éter dietílico Ácido Clorhídrico	160 mL 400 mL	560 mL
Desarrollado	Ácido Clorhídrico	250 mL	250 mL

En la Tabla 24 se demuestra que la generación de desechos al realizar el método farmacopeico es 124% mayor al método propuesto para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol en jarabe.



---

---

## 9. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 9ª edición, se describe el método analítico oficial para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol en solución, el cual al ser reproducido en una formulación desarrollada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza proporciona discrepancias en la obtención de resultados atribuidas principalmente a la complejidad normal de las técnicas de extracción y a los conservadores presentes en la formulación del jarabe.

Lo anterior se ve reflejado en diversos artículos, Maarit H. et al reporta en 2001, la validación de un método por HPLC para la cuantificación de ambroxol (combinado con ácido benzoico) en jarabe, reportando inconvenientes debidos a excipientes, estabilizadores y otras sustancias presentes en la formulación. En 2003, Zafer D. et al reporta la determinación cuantitativa de ambroxol en tabletas por espectrofotometría UV de derivada y HPLC, sin embargo dichas técnicas analíticas resultan complejas en el empleo de sustancias y equipos, además de no ser específicas para la valoración de clorhidrato de ambroxol en un jarabe. **(39, 40)**

Debido a esto se decidió modificar el método farmacopeico diseñando un método analítico específico para la cuantificación de ambroxol en jarabe por espectrofotometría UV para una formulación elaborada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza empleando como disolvente ácido clorhídrico a una concentración 0.1 N y una longitud de onda de 308 nm como óptimas. Dicho método fue validado y se probó en una Formulación Comercial. **(5)**

Las muestras analizadas fueron de un rango de concentración de 0.036 mg/mL a 0.085 mg/mL, obteniendo para la precisión y la linealidad del sistema un CV= 0.48% y un  $r^2= 0.9997$  respectivamente. El sistema resultó ser lineal y preciso con base en los resultados obtenidos dentro de los criterios de aceptación establecidos para un método espectrofotométrico. Se observa que existe concordancia entre los datos analíticos individuales, además de un comportamiento lineal dentro del rango establecido en la curva de calibración.

La especificidad del método con respecto al blanco de reactivos (HCl 0.1 N) y el placebo no produce respuesta analítica. De igual manera los resultados obtenidos en la especificidad con respecto a las sustancias de degradación se deben únicamente al clorhidrato de ambroxol.

En la exactitud y repetibilidad del método se obtuvo un IC( $\mu$ )= **de 99.38 a 100.90** y un CV= 0.87%. Se observa que hay concordancia entre la cantidad recuperada y la cantidad adicionada, además de que la exactitud se establece en todo su intervalo.

Los valores del IC y CV obtenidos en la linealidad del método se encuentran dentro de las especificaciones establecidas, tanto para la cantidad adicionada vs cantidad recuperada como para el porcentaje de recobro, con lo cual se concluye que los datos presentan linealidad dentro del rango establecido (0.036 -0.085 mg/mL) y que bajo las condiciones de análisis establecidas, no existe interacción con otros componentes de la muestra.

---

---

De igual modo para la validación del método se obtuvieron valores de precisión de CV= 1.74% para la Fórmula desarrollada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza y CV= 2.92% para la Fórmula Comercial, observándose que para ambas formulaciones el coeficiente variación se encuentra dentro de los criterios de aceptación establecidos, lo que indica que el método tiene la capacidad de ser realizado varias veces y por diferentes analistas sin comprometer los datos por variaciones de los mismos siempre y cuando se lleve a cabo bajo las condiciones de análisis anteriormente establecidas.

Por otra parte se observa que los resultados de la valoración de la Fórmula Comercial cumplen con lo establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 9ª edición, en donde se establece que el clorhidrato de ambroxol en un vehículo adecuado, contiene no menos del 95.0 por ciento y no más del 105.0 por ciento de la cantidad de clorhidrato de ambroxol indicada en el marbete, sin embargo los valores obtenidos para la Fórmula Desarrollada demuestran que la valoración se encuentra fuera de especificación, lo cual puede atribuirse al proceso de fabricación en el cual se lleva a un volumen final en donde puede realizarse un aforado incorrecto, lo que modifica la concentración del principio activo en la solución, así como también al surtido inadecuado de las materias primas.

Al evaluar la estabilidad analítica de una serie de muestras almacenadas en Refrigeración y a Temperatura ambiente, se observan datos consistentes a las primeras 24 y 48 horas, obteniendo valores de  $|d_1| = 1.19\%$  y  $|d_2| = 0.30\%$  para las muestras en refrigeración y  $|d_1| = 0.97\%$  y  $|d_2| = 0.90\%$  para las muestras a temperatura ambiente, observándose que la integridad fisicoquímica y la concentración se conservan manteniéndose dentro de los valores de especificación  $|d_1| \leq 3\%$ .

Por otra parte la evaluación de la Robustez del método demuestra que la variación de la longitud de onda en las condiciones antes establecidas, sí proporcionan resultados analíticos consistentes, encontrándose  $|d_1| = 0.15\%$  y  $|d_2| = 0.51\%$  dentro del criterio de aceptación  $|d_1| \leq 3\%$ , sin embargo los valores de  $|d_1| = 0.29\%$  y  $|d_2| = 4.9\%$  obtenidos al analizar el efecto de los distintos depósitos de las muestras, demuestran que no se mantiene el desempeño del método, esto debido a que al forzar la caída de las muestras o al realizar enjuagues con el disolvente, se modifica la precisión que se obtiene al emplear pipetas volumétricas.

Los resultados obtenidos son de gran importancia ya que permiten realizar el análisis del método analítico desarrollado al observar que los datos son reproducibles y confiables, comprobando de esta manera que el diseño y la implementación del método es específico para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol jarabe por espectrofotometría UV, comprobando mediante la validación que cumple con los lineamientos estipulados para los cuales fue diseñado, garantizando así la confiabilidad de las determinaciones realizadas.

Finalmente el análisis de tiempo y costos de ambos métodos analíticos (Tablas 21-23), así como de la generación de desechos (Tabla 24), demuestran que el método propuesto no solo es más sencillo, sino también más rápido y menos oneroso, ya que disminuye el tiempo y costo del análisis de las muestras al igual que minimiza la generación de desechos al medio ambiente lo cual es un beneficio para la Industria Farmacéutica, ya que la carrera de muchas empresas esta encaminada justamente en alcanzar una productividad elevada a costes menores, debido entre otros factores al

---

dictamen del producto en menor tiempo, utilizando métodos de prueba de menor costo, mantenimiento o tiempo de análisis y minimizando en todo lo posible el impacto ambiental en todos sus procesos.

---

---

## 10. CONCLUSIONES

- Se logró desarrollar un método analítico el cual es específico para la cuantificación de clorhidrato de ambroxol en jarabe desarrollado en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza.
- Los resultados obtenidos en la validación demuestran la confiabilidad del método analítico.
- El método analítico obtenido no solo es selectivo y confiable, es también más rápido y sencillo en comparación con otros métodos reportados recientemente.

---

## 11. SUGERENCIAS

- Realizar el parámetro de linealidad del método para el jarabe comercial de clorhidrato de ambroxol (Axol de Bayer), considerando que no se conocen los componentes de dicha formulación.

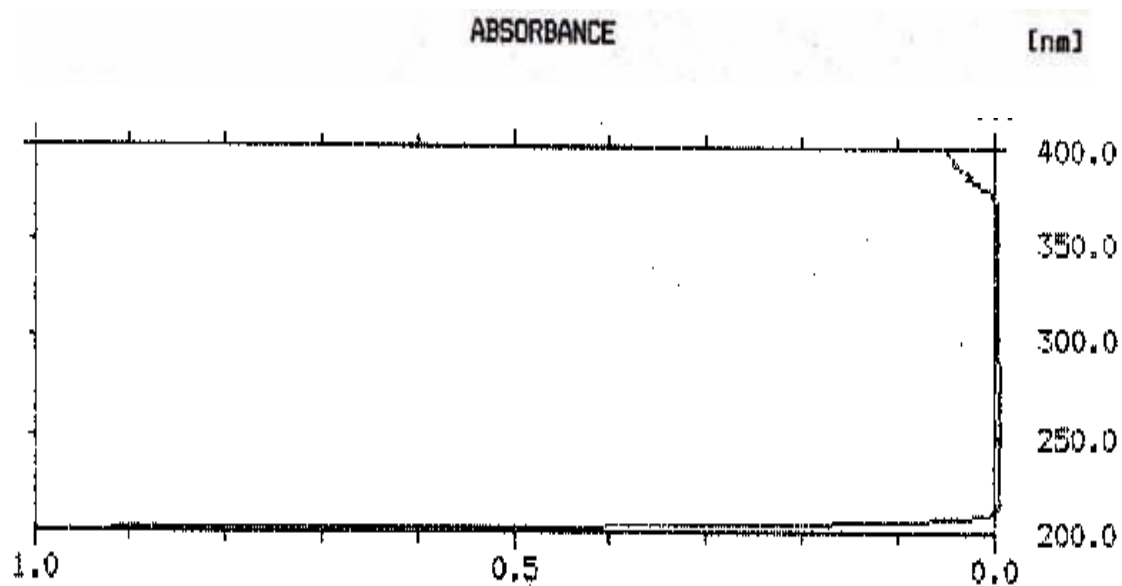
---

---

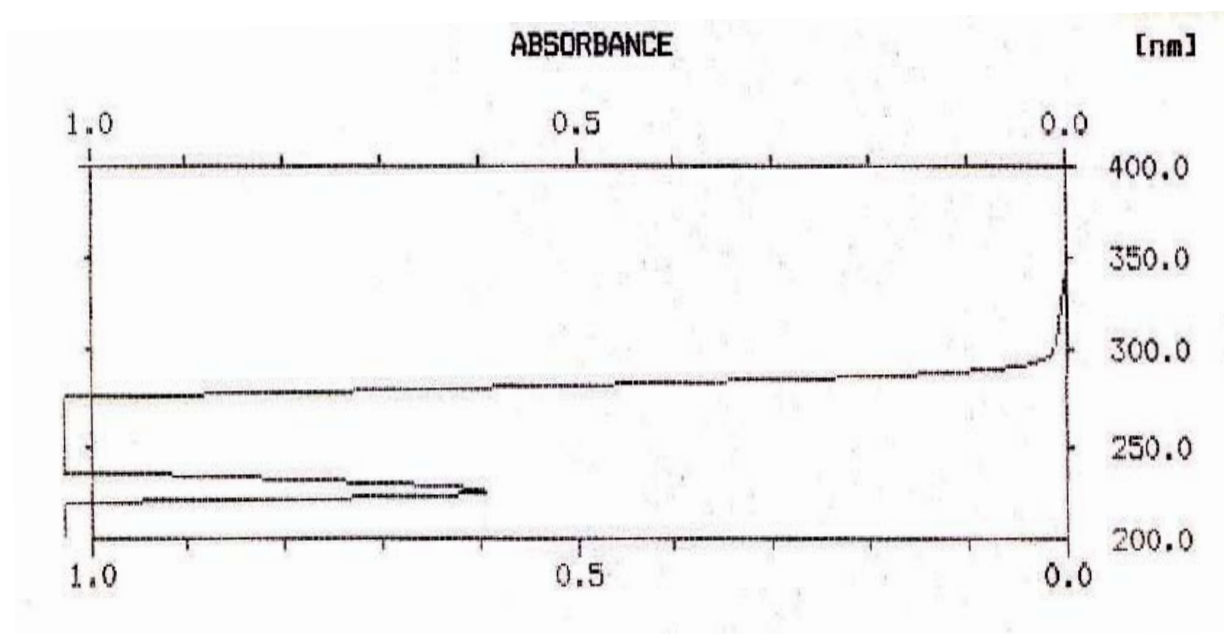
## 12. ANEXOS

### 12.1 Espectros de absorción obtenidos en el parámetro de especificidad.

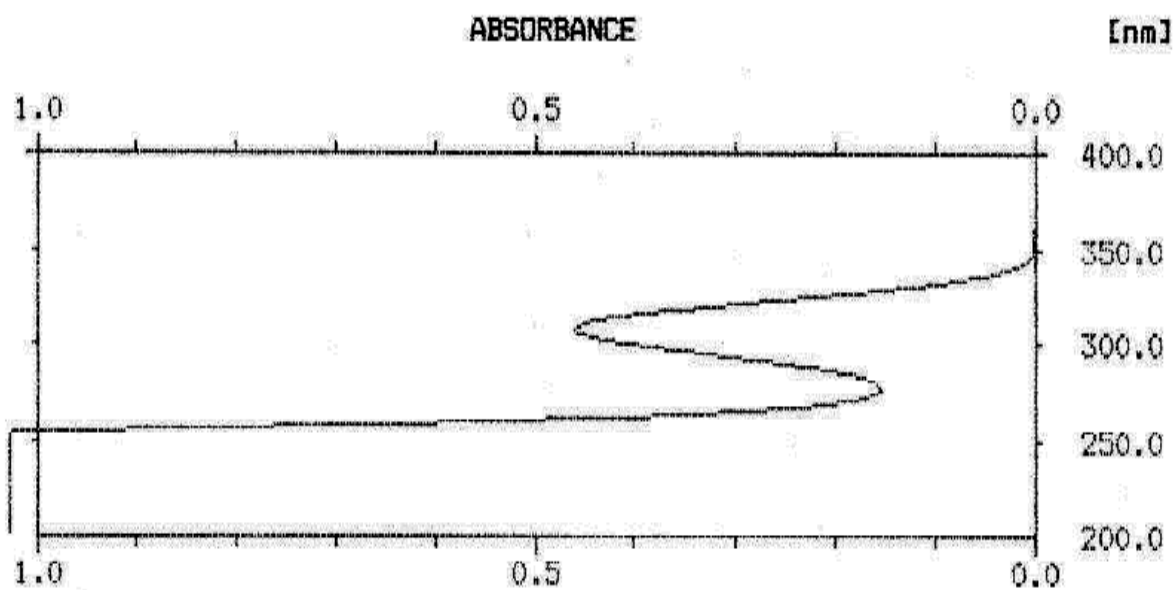
A continuación se observan los espectros de absorción obtenidos al evaluar la especificidad del método con respecto a los excipientes de la formulación.



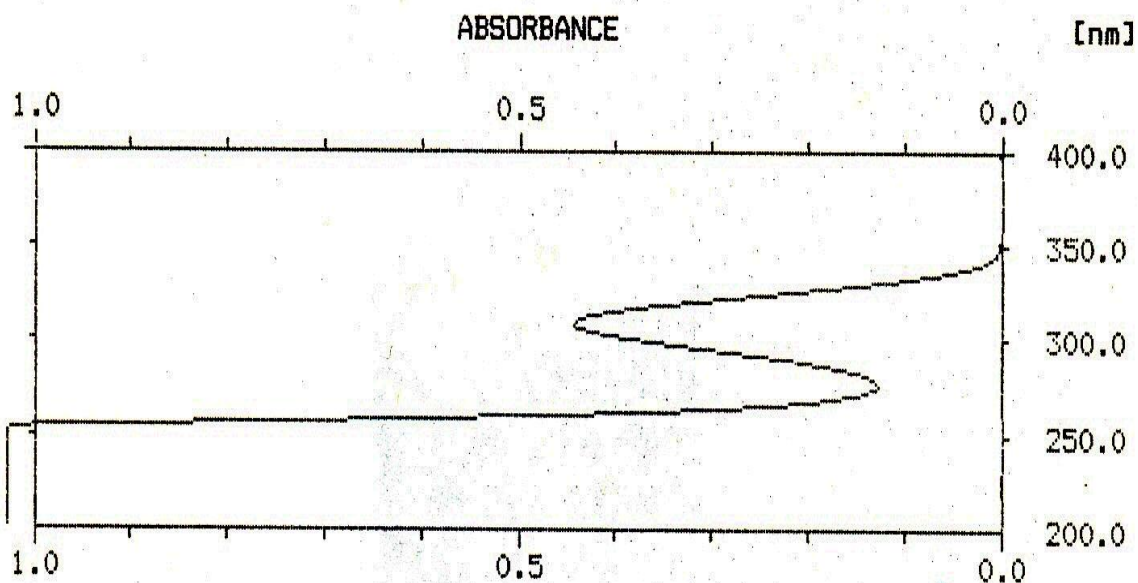
**Figura 12.** Espectro de absorción del blanco de reactivos de HCl 0.1N (200 – 400 nm).



**Figura 13.** Espectro de absorción del placebo analítico (200 – 400 nm).



**Figura 14.** Espectro de absorción del placebo cargado a una concentración de 60 µg/mL (200 – 400 nm).



**Figura 15.** Espectro de absorción del estándar de clorhidrato de amoxicilina a una concentración de 60 µg/mL (200 – 400 nm).

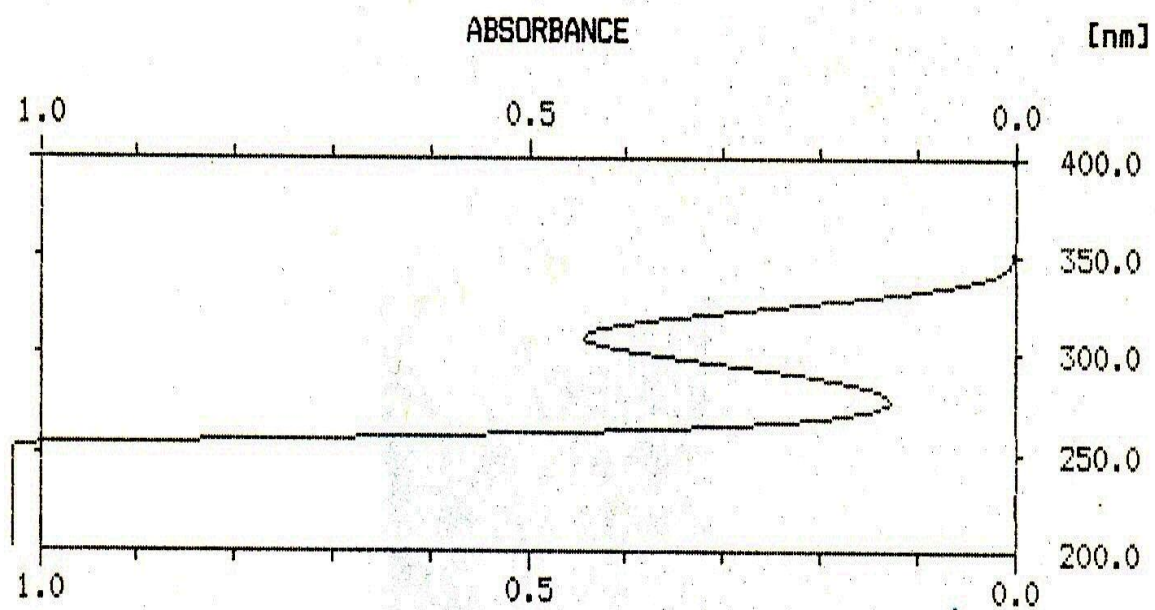


Figura 16. Espectro de absorción del clorhidrato de ambroxol sometido a hidrólisis ácida con HCl 1N (200 - 400 nm).

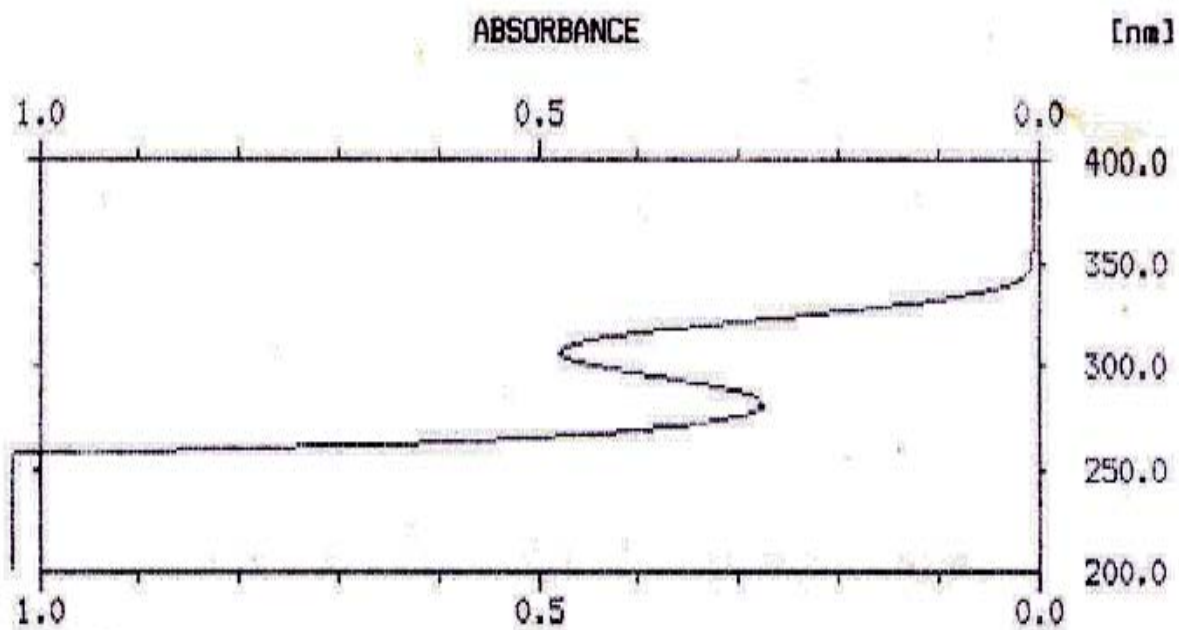
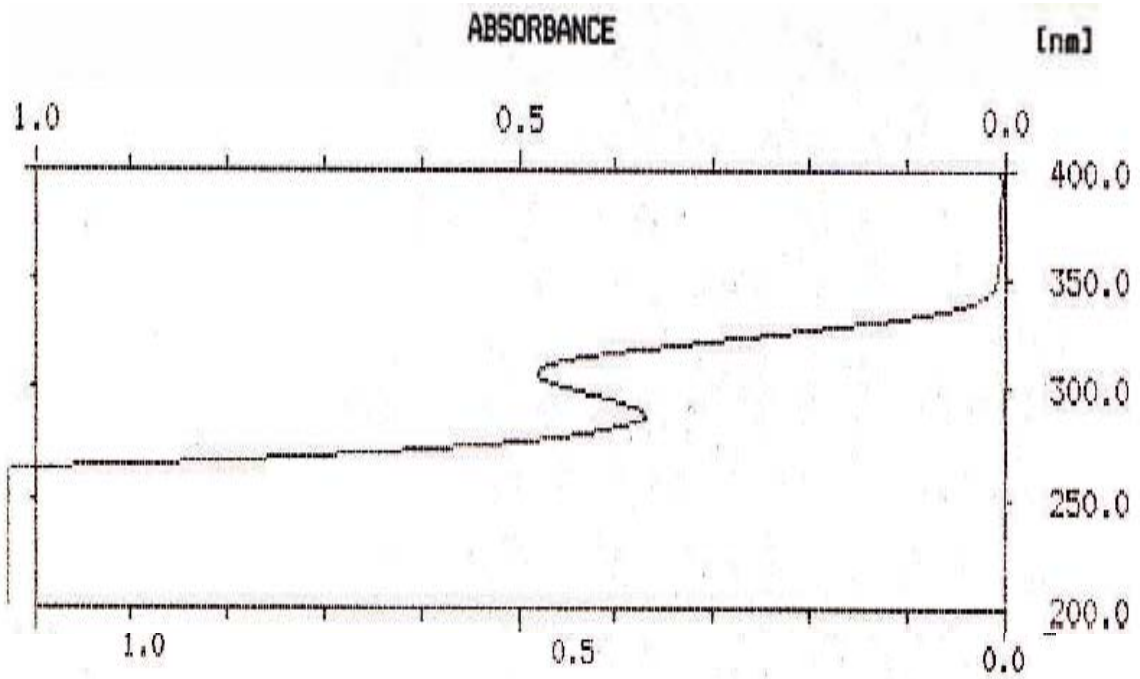


Figura 17. Espectro de absorción del clorhidrato de ambroxol sometido a hidrólisis básica con NaOH 1N (200 - 400 nm).





**Figura 18.** Espectro de absorción del clorhidrato de ambroxol sometido a oxidación con  $H_2O_2$  al 30% (200 – 400 nm).

---

---

## 12.2 Fórmulas empleadas para la validación del método analítico.

### PRECISIÓN DEL SISTEMA

MEDIA ARITMÉTICA

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

DESVIACIÓN ESTÁNDAR

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

COEFICIENTE DE VARIACIÓN

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100$$

n= número de mediciones

$$\begin{aligned}\sum Y &= Y_1 + Y_2 \dots + Y_n \\ \sum Y^2 &= Y_1^2 + Y_2^2 \dots + Y_n^2\end{aligned}$$

### LINEALIDAD DEL SISTEMA

PENDIENTE

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

n= número de mediciones

ORDENADA AL ORIGEN

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN

$$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)}$$

---

## INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{(0.975, n-2)} S b_1$$

$$S b_1 = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}}$$

$t_{0.975, n-2}$  = determinar el valor de la *t de Student*

## EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

### MEDIA ARITMÉTICA

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

### DESVIACIÓN ESTÁNDAR

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

### COEFICIENTE DE VARIACIÓN

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100$$

## INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA POBLACIONAL

$$IC(\mu) = \bar{y} \pm t_{(0.975, n-1)} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$t_{0.975, n-1}$  = determinar el valor de la *t de Student*

---

---

## LINEALIDAD DEL MÉTODO

PENDIENTE

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

n= número de mediciones

ORDENADA AL ORIGEN

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN

$$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)}$$

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{(0.975, n-2)} S_{b_1}$$

$$S_{b_1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}}$$

$t_{0.975, n-2}$  = determinar el valor de la *t de Student*

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ORDENADA AL ORIGEN

$$IC(\beta_0) = b_0 \pm t_{(0.975, n-2)} S_{b_0}$$

$$S_{b_0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

---

---

COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE REGRESIÓN

$$CV_{y/x} = \frac{S_{y/x}}{\bar{y}} \times 100$$

### **PRECISIÓN DEL MÉTODO (PRECISIÓN INTERMEDIA)**

MEDIA ARITMÉTICA

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

DESVIACIÓN ESTÁNDAR

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

COEFICIENTE DE VARIACIÓN

$$CV = \frac{S}{\bar{y}} \times 100$$

n= número de muestras de contenido/ potencia/valoración

### **ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA**

MEDIA ARITMÉTICA DEL ANÁLISIS INICIAL

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum y_0}{n_0}$$

MEDIA ARITMÉTICA DEL ANÁLISIS DE CADA CONDICIÓN DE ALMACENAJE

$$\bar{y}_1 = \frac{\sum y_1}{n_1}$$

n= número de muestras del análisis de la i-ésima condición de almacenaje

DIFERENCIA ABSOLUTA DE LA MEDIA ARITMÉTICA DE CADA CONDICIÓN DE ALMACENAJE RESPECTO DE LA MEDIA ARITMÉTICA DEL ANÁLISIS INICIAL

$$|d_i| = \left| \bar{y}_1 - \bar{y}_0 \right|$$

---

## ROBUSTEZ

MEDIA ARITMÉTICA DE LA CONDICIÓN NORMAL DE OPERACIÓN

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum y_0}{n_0}$$

$n_0$  = número de muestras de la condición normal de operación

MEDIA ARITMÉTICA DEL ANÁLISIS DE CADA CONDICIÓN DE OPERACIÓN, DIFERENTE A LA CONDICIÓN NORMAL

$$\bar{y}_1 = \frac{\sum y_1}{n_1}$$

$n_1$  = número de muestras de la i-ésima condición de operación

DIFERENCIA ABSOLUTA DE LA MEDIA ARITMÉTICA DE CADA CONDICIÓN RESPECTO DE LA MEDIA ARITMÉTICA DE LA CONDICIÓN NORMAL

$$|d_1| = \left| \bar{y}_1 - \bar{y}_0 \right|$$

---

---

### 12.3 Cálculos realizados en los parámetros de la validación.

#### PRECISIÓN DEL SISTEMA

$\Sigma y =$	2.72
$\Sigma y^2 =$	1.23
$n =$	6
$(\hat{y}) =$	0.45
$(S) =$	0.002
CV (%) =	0.48

#### LINEALIDAD DEL SISTEMA

$\Sigma x =$	0.90
$\Sigma y =$	6.79
$\Sigma x^2 =$	0.06
$\Sigma y^2 =$	3.32
$\Sigma xy =$	0.44
$n =$	15
$(b_1) =$	7.19
$(b_0) =$	0.02
$r^2 =$	0.9997
$S_{y/x} =$	0.01
$Sb_1 =$	0.12
$t_{0.975,13} =$	2.16
LIC ( $\beta_1$ ) =	6.94
LSC ( $\beta_1$ ) =	7.45

#### EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

$\Sigma y =$	600.86
$\Sigma y^2 =$	60176.15
$n =$	6
$\hat{y} =$	100.14
$S =$	0.87
CV (%) =	0.87
$t_{0.975,5} =$	2.15
LIC ( $\mu$ ) =	99.38
LSC ( $\mu$ ) =	100.91

---

---

## LINEALIDAD DEL MÉTODO

### Cantidad Adicionada vs Cantidad Recuperada

$\Sigma x =$	45
$\Sigma y =$	45.28
$\Sigma x^2 =$	145.8
$\Sigma y^2 =$	147.16
$\Sigma xy =$	146.47
$n =$	15
$b_0 =$	0.07
$b_1 =$	0.98
$r^2 =$	0.9984
$S_{x/y} =$	0.07
$S_{b_1} =$	0.02
$t_{0.975, n-2} =$	2.16
$LIC(\beta_1) =$	0.94
$LSC(\beta_1) =$	1.03
$x =$	3
$S_{b_0} =$	0.06
$LIC(\beta_0) =$	-0.06
$LSC(\beta_0) =$	0.20
$\hat{y} =$	3.02
$CV_{y/x}(\%) =$	2.14

### Porcentaje de Recobro

$\Sigma z =$	1512.35
$\Sigma z^2 =$	152498.15
$n =$	15
$\hat{y} =$	100.82
$S =$	1.10
$CV(\%) =$	1.09
$t_{0.975, 14} =$	2.15
$LIC(\mu) =$	100.22
$LSC(\mu) =$	101.43



---

---

## PRECISIÓN DEL MÉTODO

### Formulación desarrollada en los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza

$\Sigma y =$	1283.89
$\Sigma y^2 =$	137400.05
$\hat{y} =$	106.90
$n =$	12
$S =$	1.86
$CV (\%) =$	1.74

### Formulación comercial

$\Sigma y =$	1186.69
$\Sigma y^2 =$	117447.49
$n =$	12
$\hat{y} =$	98.74
$S =$	2.88
$CV (\%) =$	2.92

## ESTABILIDAD ANALÍTICA DE LA MUESTRA

### Refrigeración

$\Sigma y_0 =$	301.33
$\Sigma y_1 =$	297.74
$\Sigma y_2 =$	301.33
$n_0 =$	3
$n_0 =$	3
$n_0 =$	3
$\hat{y}_0 =$	100.44
$\hat{y}_1 =$	99.25
$\hat{y}_2 =$	100.14
$ d_1  =$	1.19
$ d_2  =$	0.30

---

---

## Temperatura ambiente

$\Sigma y_0 =$	301.78
$\Sigma y_1 =$	298.41
$\Sigma y_2 =$	298.63
$n_0 =$	3
$n_0 =$	3
$n_0 =$	3
$\hat{y}_0 =$	100.44
$\hat{y}_1 =$	99.47
$\hat{y}_2 =$	99.54
$ d_1  =$	0.97
$ d_2  =$	0.90

## ROBUSTEZ

### Depósito de la muestra

$\Sigma y_0 =$	303.74
$\Sigma y_1 =$	304.62
$\Sigma y_2 =$	318.56
$n_0 =$	3
$n_1 =$	3
$n_2 =$	3
$\hat{y}_0 =$	101.25
$\hat{y}_1 =$	101.54
$\hat{y}_2 =$	106.19
$ d_1  =$	0.29
$ d_2  =$	4.93

### Longitud de onda

$\Sigma y_0 =$	307.44
$\Sigma y_1 =$	307.01
$\Sigma y_2 =$	308.54
$n_0 =$	3
$n_1 =$	3
$n_3 =$	3
$\hat{y}_0 =$	102.34
$\hat{y}_1 =$	102.48
$\hat{y}_2 =$	102.85
$ d_1  =$	0.15
$ d_2  =$	0.51

---

---

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.** Weiser, Thomas. Efecto anestésico del ambroxol. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2008; 14 (1): 17-24.
- 2.** Schutz, Alexander. Propiedades anestésicas locales de tabletas de clorhidrato de ambroxol en vista de prueba clínica de dolor de garganta. *Journal Arzneimittelforschung*, 2002; 52 (3): 194-199.
- 3.** Stetinová V. et al. Actividad antioxidante in vivo e in vitro de ambroxol. *Institute of Experimental Biopharmaceutics*, 2004; 4: 152-8.
- 4.** Garvey William. *Pharmaceutical Technology. Bases de la Administración de Proyectos de Validación*. May/jun 2008; 4 (2): 16-28.
- 5.** *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. 9ª edición. Secretaría de Salud. México; 2008.
- 6.** Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C. *Guía de Validación de Métodos Analíticos*; 2002.
- 7.** Harris Daniel C. *Exploring Chemical Analysis*. 3ª edición. W.H. Freeman and Company NY; 2003.
- 8.** Cohen, Yves et al. *Análisis Químicos Farmacéuticos de Medicamentos*. 1ª edición. UTEHA Noriega Editores, México D.F.; 1998.
- 9.** Skoog Douglas A. et al. *Química analítica*. 7ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana editores S.A. DE C.V. México; 2001.
- 10.** Robinson Judith F. et al. *Química Analítica Contemporánea*. 2ª edición. Editorial Prentice Hall, México; 2000.
- 11.** Bender T. Gary. *Métodos instrumentales de análisis en química clínica*. Editorial Acibia, S.A. Zaragoza, España; 2005.
- 12.** Docket et al. *Foundations of Spectroscopy*. Oxford Science Publications, Avon Zeneca Great Britain; 2000.
- 13.** Settle, Frank. *Handbook of Instrumental Techniques for analytical Chemistry*. Prentice Hall PTR, Upper Sadle River NJ; 1997.
- 14.** Channesian Lena et al. *Handbook of Pharmaceutical Analysis*. Marcel Decker Inc NY Basel; 2002.
- 15.** Olsen Eugene D. *Métodos ópticos de análisis*. Editorial Reverté Barcelona, S.A. México; 2003.

- 
- 
- 16.** Fifier F. W. et al. Principles and Practice of analytical chemistry. 4<sup>a</sup> edition. Blackie Academic & Professional; 1995.
  - 17.** FDA. Guideline for Industry. Analytical Procedures and Methods Validation. August; 2000.
  - 18.** ICH Q2A. Guideline for Industry: Text on Validation of Analytical Procedures. March; 1995.
  - 19.** ICH Q2A. Guideline on the Validation of Analytical Procedures; Methodology; Availability. November; 1996.
  - 20.** Zavas, José. Et al. Pharmaceutical Technology. Validación de Métodos analíticos. Nov/ Dec 2005; 3 (5): 30-51.
  - 21.** Comisión Interinstitucional de Prácticas adecuadas de Fabricación. Buenas Prácticas de Validación. Monografía técnica 24. México; 2006.
  - 22.** Comisión Interinstitucional de Prácticas adecuadas de Fabricación. Documentación. Monografía técnica 13. México; 1999.
  - 23.** United States Pharmacopeia. The National Formulary NF 30. First supplement. United States Pharmacopeia convention, Inc; 2007.
  - 24.** Haider, Syed Imitiaz. Validation Standard Operating Procedures. 2<sup>a</sup> edition. Taylor & Francis Group, NY London; 2006.
  - 25.** Carleton Frederick J. et al. Validation of Pharmaceutical Process. Marcel Dekker, Inc NY Basel; 1999.
  - 26.** NOM-059-SSA1-2006, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos (modifica a la NOM-059-SSA1-1993, publicada el 31 de julio de 1998). Secretaría de Salud. México, D.F.; 2008.
  - 27.** Bush Laura, et al. ¿El fin del proceso de validación como lo conocemos?. Pharmaceutical Technology. Nov/ Dec 2005; 3 (5): 8-13.
  - 28.** Remington G.A. Farmacia. Editorial Médica Panamericana. TI 20<sup>a</sup> edición. México; 2003.
  - 29.** Remington G.A. The science and practice of pharmacy. 21<sup>st</sup> edition. Buenos Aires; 2006.
  - 30.** Aulton M. E. Farmacia la ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. 2<sup>a</sup> edición. Editorial Elsevier, Madrid; 2004.
  - 31.** Lachman, Leon et al. The theory and practice of industrial pharmacy. 3<sup>a</sup> edition. Lea & febiger. Philadelphia; 1996.

- 
- 
- 32.** Thompson Judith E. et al. *Práctica Contemporánea en Farmacia*. 2ª edición. Mc Graw-Hill, Interamericana; 2006.
- 33.** Windfield A. J. *Pharmaceutical Practice*. 2ª edition. Churchill Livingstone; 1999.
- 34.** Niazi S.K. *Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations. Liquid Products*. V III 2ª edition. CRC Prees, USA; 2004.
- 35.** Huclov'a Jitka et al. Determination of ambroxol hydrochloride, methylparaben and benzoic acid in pharmaceutical preparations based on sequential injection technique coupled with monolithic column. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*; 2006.
- 36.** Koundourellis, John E. et al. High performance liquid chromatographic determination of ambroxol in the presence of different preservatives in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2002; 23: 469-475.
- 37.** Shozo, Miyazaki. The effect of taste masking agents on in situ gelling pectin formulations for oral sustained delivery of paracetamol and ambroxol. *International Journal of Pharmaceutics*; 2005.
- 38.** O'Neil M. J. et al. *The Merck Index*. 14ª Edition. Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, New Jersey; 2006.
- 39.** Zafer, Dincer et al. Quantitative determination of ambroxol in tablets by derivative UV spectrophotometric method and HPLC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2003; 31: 867-872.
- 40.** Maarit Heinanen, et al. Validation of an HPLC method for the quantification of ambroxol hydrochloride and benzoic acid in a syrup as pharmaceutical form stress test for stability evaluation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2001; 24: 1005-1010.
- 41.** Sarabia, Miriram et al. *Estabilidad de Fármacos y Medicamentos*. 2ª edición. UNAM, Cuautitlán Izcalli, Estado de México; 2004.
- 42.** Rubinstein, M.H. *Pharmaceutical Technology drug stability*. Chichester Ellis Horwood Limited; 1998.
- 43.** Milne, GW. *Drugs Synonyms & Properties*. 2ª edition. Ashgate editorial. Aldershot, Hampshire; 2002.
- 44.** PLM *Diccionario de Especialidades Farmacéuticas*. Editorial Thomson, México; 2008.
- 45.** *Vademecum Farmacéutico*. Información Profesional Especializada S.A. DE C.V. Reza Editores S.A. México; 2004.
- 46.** Moreno, L.P. et al. *Farmacología*. 17ª edición. Editorial Médica Panamericana, México; 2004.

---

**47.** The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biological, 14<sup>a</sup> edition. Published by Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ USA; 2006.

**48.** Action of N-Acylated ambroxol derivatives on secretion of chloride ions in human airway epithelia. Biochemical and Biophysical Research Communications; 2009: 586-590.

**49.** Bernd, G. et al. Pharmacodynamic Mechanism and Therapeutic Activity of Ambroxol in Animal Experiments. MIMS USA - Drug information of ambroxol [www.mims.com/Page.aspx?menuid=mng&name=ambroxol](http://www.mims.com/Page.aspx?menuid=mng&name=ambroxol).

**50.** NOM-072-SSA1-1993, Etiquetado de medicamentos. Secretaría de Salud. México, D.F.; 2000.