

33
20j



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"**

ESTUDIOS DE PREFORMULACION Y VALIDACION
DEL METODO ANALITICO POR CROMATOGRAFIA
DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCION DE
QUINFAMIDA EN TABLETAS

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
ELSA MARTHA MARTINEZ SOMOHANO



MEXICO, D. F.

1990

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**Estudios de Preformulación y Validación del
Método Analítico por Cromatografía de Líquidos
de Alta Resolución de Quinfamida en Tabletas**

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCION	1
I. ANTECEDENTES	
A. Quinifamida	
1. Descripción	3
2. Propiedades farmacológicas	3
a. Usos	3
b. Absorción, metabolismo y excreción	3
c. Toxicidad	4
3. Dosis y vía de administración	4
B. Preformulación	
1. Definición	4
2. Metodología	5
a. Etapa 1	7
b. Etapa 2	8
3. Reporte	8
C. Cromatografía	
1. Definición	10
2. Cromatografía de líquidos	
a. Clasificación	10
b. Teoría de la cromatografía líquida	13
c. Equipo	15
D. Validación de un Método Analítico	
1. Definición	16
2. Parámetros estadísticos	16
a. Linealidad	17
b. Especificidad	19
c. Precisión	19
1) Repetibilidad	19
2) Reproducibilidad	19
a) Estabilidad de la muestra	21
d. Exactitud	21
e. Tolerancia	21
f. Sensibilidad	21

	Página
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
III. OBJETIVOS	23
IV. HIPOTESIS DE TRABAJO	24
V. MATERIAL Y METODOS	25
VI. RESULTADOS	
A. Preformulación	46
B. Validación del Método Analítico	58
VII. DISCUSION	69
VIII. CONCLUSIONES	71
IX. PROPUESTAS	72
BIBLIOGRAFIA	73
APENDICES	
A. Formulario	76
B. Miscelaneas	78
C. Termogramas	80
D. Cromatogramas	91

INTRODUCCION

Dentro de la Industria Farmacéutica, una actividad que juega un papel importante es el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos.

Un compuesto relativamente nuevo es la quinfaida, que es un éster tetrahidroquinolinil que muestra actividad contra *Entamoeba histolytica*. Quizá se pueda pensar que en el mercado existen ya varios compuestos eficaces contra este tipo de organismos, sin embargo un factor de ventaja, en comparación con los otros compuestos, es que la quinfaida no muestra efectos secundarios⁽¹⁾ y se administra en un periodo de tratamiento más corto.

Es importante por lo tanto, caracterizar a la quinfaida con el fin de obtener la mayor información que permita realizar una formulación óptima. De esta manera, en los estudios de preformulación se determinan propiedades físicas y químicas importantes que facilitan el diseño de la fórmula de un medicamento.

Por otro lado, para asegurar la calidad en cada una de las diferentes etapas por las que pasa un producto farmacéutico, es necesario desarrollar técnicas analíticas confiables.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es su validación para establecer su confiabilidad. La forma de validar un método de análisis depende de su futura aplicación, como por ejemplo en análisis rutinario, pruebas de estabilidad, etc. Sin embargo, todos deben cubrir ciertos requisitos como el ser exactos, específicos, precisos y lineales. Finalmente, el método debe ser tan práctico como sea posible, ésto es, que sea económico, rápido, eficaz y factible.

Por lo tanto, el presente trabajo se dedicó a determinar por un lado, las propiedades físicas y químicas de la quinfaida que no están reportadas, así como posibles interacciones fármaco - excipiente para una fórmula de tabletas y por el otro lado, la validación del método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR).

Los resultados obtenidos permitieron determinar algunas de las propiedades más importantes de la quinfaida y su compatibilidad con los excipientes propuestos.

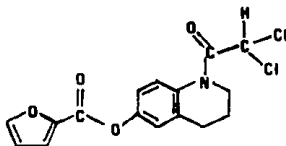
Así mismo, quedó establecido que el método analítico por CLAR es específico para la quinifanida, lineal, preciso, exacto y reproducible. También se estableció que las muestras preparadas para ese método son estables, por lo menos dentro del tiempo probado (24 horas) y se estableció la tolerancia del sistema al variar el gradiente de concentración de la fase móvil. Por lo tanto, el método es confiable tanto para el análisis rutinario como para pruebas de estabilidad.

I. ANTECEDENTES

A. Quinfamida

1. DESCRIPCION

Nombre Genérico: Quinfamida
 Nombre Químico: 1-(Dicloroacetil)-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinil-2-furancarboxilato.
 Fórmula Condensada: $C_{19}H_{13}Cl_2NO_4$
 Peso Molecular: 354.19
 Fórmula Desarrollada:



2. PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

a. Usos:

La quinfamida es un amebicida intraluminal que ha mostrado, a través de estudios clínicos, una gran efectividad en el tratamiento de amebiasis intestinal crónica y subaguda causada por *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba criceti*. Puede utilizarse tanto en la quimioprofilaxis como en la supresión de la infección amebiana.

La tasa de curación registrada⁽¹⁵⁾ es de un 86% al 100% lo cual la hace un potente amebicida.

b. Absorción, metabolismo y excreción:

La quinfamida se absorbe en forma mínima en el intes-

4

tino delgado. Sólo se tienen datos del metabolismo en ratas, que después de una dosis oral de 20 mg/Kg a las 7 horas se obtiene un nivel sanguíneo de 2.3 µg/ml. El recobro urinario por esta vía es del 48%. Los niveles del fármaco en todos los tejidos examinados es bajo.⁽¹⁴⁾ La principal ruta metabólica comprende una hidrólisis del grupo éster; la acetilación del producto de-acilado a 1-acetil-1,2,3,4-tetrahidro-6-quinolinol; la oxidación al metabolito 1-glicolil; y la aromatización al 6-hidroxi-quinolina.

El mecanismo de acción de la quinfaida, al igual que muchos otros antiamebianos se desconoce.

C. Toxicidad.

No existen reportes de toxicidad y las reacciones adversas que pudiesen presentarse (mareo ligero, dolor abdominal leve) son pasajeras y no son significativas, excepto para aquellas personas que presenten hipersensibilidad a la quinfaida.⁽¹⁵⁾

3. DOSIS Y VIA DE ADMINISTRACION

Se han realizado estudios para determinar la dosis terapéutica efectiva, recomendándose una dosis oral para adultos de 100 mg, en tres administraciones en un día. En el tratamiento pediátrico, se recomienda una dosis oral a menores de 6 años de 50 mg cada 12 horas durante un día y en niños de 7 a 9 años una dosis de 100 mg cada 12 horas durante un día.

B. PREFORMULACION

1. DEFINICION

La preformulación es un proceso destinado a seleccionar y optimizar un fármaco en un sistema farmacéutico por medio de la definición y la determinación de todas

aquellas propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas importantes que permitan la formulación de un medicamento seguro, eficaz y estable.

Estos estudios son de gran importancia y gracias a ellos es posible:

- Seleccionar la(s) forma(s) (cristalina, amorfa, hidratada, etc.) más adecuada(s) del fármaco:
 - * Física y químicamente estables
 - * Sin problemas anticipados de biodisponibilidad
- Seleccionar los excipientes más compatibles y convenientes para combinarlos con el fármaco.
- Desarrollar procesos de manufactura adecuados en base a criterios de simplicidad, fáciles de controlar y factibles de realizar con el equipo que se tiene.
- Economizar tiempo y dinero en las diferentes etapas por las que tiene que pasar el fármaco para llegar a integrarse en una forma farmacéutica.

2. METODOLOGIA

Los trabajos de preformulación, generalmente se inician después del estudio farmacológico. Simultáneamente, son desarrollados los procedimientos analíticos que permitirán establecer la estabilidad del producto.

En la figura 1.1 se presenta la metodología que podemos seguir en un trabajo de preformulación.⁽¹⁾

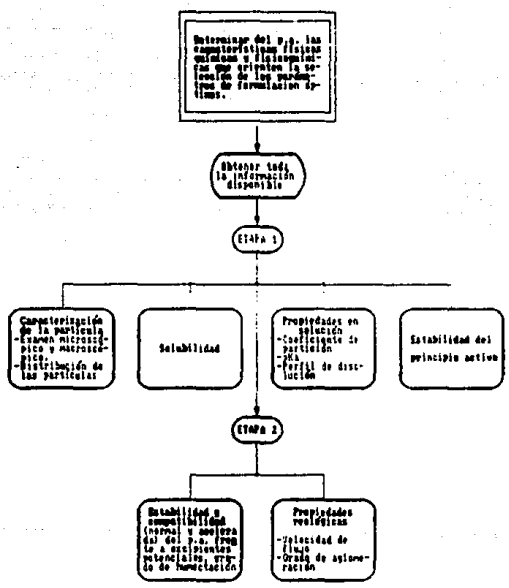


Fig. 1.1 Metodología de un trabajo de preformulación

En primer lugar, se informa al equipo de investigación qué fármaco y qué formas farmacéuticas son las que interesan a la Compañía. Posteriormente, deben establecerse qué características físicas y químicas del fármaco relacionadas a las formas farmacéuticas a desarrollar tienen que determinarse.

Con el fin de facilitar esta tarea, en primera instancia se recurre a reportes previos en la literatura, si es posible. En el caso de que esto no sea factible, se debe generar, dirigiendo la atención a:

- Características químicas del compuesto bajo estudio
- Definición del producto: forma farmacéutica, unidad de dosis, presentación, consideraciones de mercadotecnia, etcétera.

a. Etapa I.

Dentro de la primera etapa se pretende determinar aquellas propiedades físicas y fisicoquímicas del fármaco, como son:

- * Determinar propiedades físicas del fármaco.
 - Organolépticas (sabor, color, apariencia, olor)
 - Macroscópicas (densidad, higroscopicidad)
 - Microscópicas (forma cristalina, tamaño de partícula, hábitos cristalinos).
- * Solubilidad.
 - Agua
 - pH
 - Disolventes analíticos
- * pKa.
- * Coeficiente de partición.
- * Disolución intrínseca.
- * Estabilidad a corto plazo.
 - Sólido - temperatura y humedad
 - Solución - pH, disolventes, temperatura
- * Datos espectrofotométricos.

* Datos técnicos.

b. Etapa II.

En la segunda etapa, se determinan aquellas propiedades del fármaco que faciliten su formulación:

* Propiedades físicas del fármaco.

- Flujo
- Grado de aglomeración
- Compresibilidad, etc.

* Solubilidad.

- Vehículos comunes factibles de ser usados en el proceso farmacéutico y en la metodología analítica por ser desarrollada.

* Estabilidad.

- Sólido - (humedad, luz, temperatura, oxígeno)
- Solución - (oxígeno, luz)
- Compatibilidad en vehículos y con excipientes comunes.

3. REPORTE

Con el fin de conservar y localizar rápida y efectivamente toda la información, es conveniente recogerla y resumirla en hojas de trabajo como las que a continuación se presentan en la figura 1.2⁽¹⁹⁾

DESARROLLO FARMACÉUTICO INFORME DE PREFORMULACIÓN		DESARROLLO FARMACÉUTICO INFORME DE PREFORMULACIÓN																									
Nombre del producto: _____		Hoja _____ de _____																									
Nombre del proyecto: _____		Proyecto No. _____																									
_____		Lote No. _____																									
<p>1. Descripción.</p> <p>1.1 Nombre genérico _____</p> <p>1.2 Nombre químico _____</p> <p>1.3 Fórmula condensada _____</p> <p>1.4 Fórmula desarrollada _____</p> <p>1.5 Peso molecular _____</p> <p>1.6 Aspecto _____ 1.8 Sabor _____</p> <p>1.7 Color _____ 1.9 Olor _____</p>		<p>5. Propiedades físicas en solución.</p> <p>5.1 Aspecto _____ 5.4 Olor _____</p> <p>5.2 Color _____ 5.5 pH _____</p> <p>5.3 Sabor _____ 5.6 Cmf. de partícula _____</p> <p style="text-align: right;">CHCl₃/H₂O _____</p>																									
<p>2. Propiedades físicas y funcionales.</p> <p>2.1 Examen microscópico _____</p> <p>2.2 Tamaño de partícula, microscopio, tamiz _____</p> <p>2.3 Polimeros _____</p> <p>2.4 Solvatos _____</p> <p>2.5 Temperatura de fusión y CEB _____</p> <p>2.6 Densidad, absoluta, aparente, compactada _____</p> <p>2.7 Propiedades reológicas _____</p> <p>2.8 Grado de hinchazón</p> <p>agua _____ glicerina _____</p> <p>isotón 2% _____ citos _____</p> <p>2.9 Contenido de agua incluido: _____ %</p>		<p>6. Estabilidad (entorno): _____</p> <p>6.1 Sólido, i.e.,</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">condición</th> <th style="text-align: center;">CEB</th> <th style="text-align: center;">SI</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>_____</td><td style="text-align: center;">_____</td><td style="text-align: center;">_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td style="text-align: center;">_____</td><td style="text-align: center;">_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td style="text-align: center;">_____</td><td style="text-align: center;">_____</td></tr> </tbody> </table> <p>6.2 Solución, i.e.,</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">condición</th> <th style="text-align: center;">CEB</th> <th style="text-align: center;">SI</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>_____</td><td style="text-align: center;">_____</td><td style="text-align: center;">_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td style="text-align: center;">_____</td><td style="text-align: center;">_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td style="text-align: center;">_____</td><td style="text-align: center;">_____</td></tr> </tbody> </table>		condición	CEB	SI	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	condición	CEB	SI	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
condición	CEB	SI																									
_____	_____	_____																									
_____	_____	_____																									
_____	_____	_____																									
condición	CEB	SI																									
_____	_____	_____																									
_____	_____	_____																									
_____	_____	_____																									
<p>3. Caracterización</p> <p>3.1 Espectro I.R. _____</p> <p>3.2 Espectro U.V. _____</p> <p>3.3 Calorimetría de Exploración Diferencial (CED). _____</p>		<p>7. Compatibilidades.</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Equipamento</th> <th style="text-align: left;">Conexión</th> <th style="text-align: center;">CEB</th> <th style="text-align: center;">SI</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>_____</td><td>_____</td><td style="text-align: center;">_____</td><td style="text-align: center;">_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td>_____</td><td style="text-align: center;">_____</td><td style="text-align: center;">_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td>_____</td><td style="text-align: center;">_____</td><td style="text-align: center;">_____</td></tr> </tbody> </table>		Equipamento	Conexión	CEB	SI	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____								
Equipamento	Conexión	CEB	SI																								
_____	_____	_____	_____																								
_____	_____	_____	_____																								
_____	_____	_____	_____																								
<p>4. Solubilidad (mg/ml): agua _____ etanol _____</p> <p>otro: _____</p> <p>4.1 Velocidad de disolución (ml/min): _____</p> <p>4.2 Perfil pH/solubilidad</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">pH</th> <th style="text-align: left;">solubilidad</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>_____</td><td>_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td>_____</td></tr> <tr><td>_____</td><td>_____</td></tr> </tbody> </table>		pH	solubilidad	_____	_____	_____	_____	_____	_____																		
pH	solubilidad																										
_____	_____																										
_____	_____																										
_____	_____																										
Elaboró: _____	Revisó: _____	Aprobó: _____	Fecha de emisión: _____																								
_____	_____	_____	_____																								

Fig. 1.2 Hojas de trabajo de un estudio de preformulación.

C. Cromatografía

1. DEFINICION

La cromatografía es un término general aplicado a una gran variedad de técnicas analíticas y de separación basadas en la distribución de la muestra entre una fase móvil líquida o gaseosa y una fase estacionaria sólida o líquida. En principio, la cromatografía es un método físico de separación.

Las técnicas cromatográficas incluyen todo proceso en el que la separación de una mezcla es realizada por la adsorción diferencial o disolución de los componentes individuales entre dos fases inmiscibles. La forma común de la separación cromatográfica es la retención selectiva de cada uno de los componentes de una muestra en la fase estacionaria; esta retención se debe a diferencias en adsorción, partición, solubilidad, presión, tamaño molecular o carga iónica entre el soluto y la fase estacionaria participando también un sistema de transporte o fase móvil. Las diferentes velocidades de elución de cada compuesto dependen de la distribución relativa o partición de dicho soluto entre las dos fases (estacionaria y móvil).

Se puede decir en general, que si la fase estacionaria es un sólido, el proceso se denomina "cromatografía de adsorción", mientras que si la fase estacionaria es un líquido el proceso se conoce como "cromatografía de partición". De acuerdo a la naturaleza de la fase móvil se puede clasificar en "cromatografía de líquidos" y "cromatografía de gases".

2. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS

a. Clasificación.

Existen muchas formas de clasificar a la cromatografía líquida. Basándose en la naturaleza de la fase estacionaria y en los procesos de separación, se pueden tener cuatro tipos:

- Cromatografía de adsorción: la fase estacionaria es un adsorbente y la separación se basa por lo tanto en un fenómeno de adsorción - desorción.
- Cromatografía de partición: la separación no se basa en la adsorción, sino en una verdadera partición entre la fase móvil y la fase estacionaria.
- Cromatografía de intercambio iónico: la fase estacionaria se encuentra cargada iónicamente con carga contraria a la de la muestra. Se utiliza con compuestos iónicos o ionizables. La fase móvil es una solución reguladora en el que el pH y la polaridad se utilizan para controlar el tiempo de elución.
- Cromatografía de exclusión: la columna se encuentra empacada con un material poroso de diversas dimensiones que retienen o filtran a la muestra según su tamaño molecular. Esta técnica también es conocida como cromatografía sobre geles o tamiz molecular, aunque en realidad la fase estacionaria no queda restringida a un "gel".

En base a la polaridad de las fases, se dividen en:

- Cromatografía de fase normal: la naturaleza del lecho estacionario es fuertemente polar y la fase móvil es no polar, esto provoca que las muestras polares queden retenidas mayor tiempo en la columna.
- Cromatografía de fase inversa: el lecho estacionario es no polar y la fase móvil es un líquido polar, normalmente agua o un alcohol. En este caso, cuanto más no polar sea la muestra, mayor tiempo será retenida.

En la figura 1.3 se representan estos dos tipos de cromatografía, indicándose al mismo tiempo el orden de elución de distintos componentes de una muestra, en función de sus diferentes polaridades.

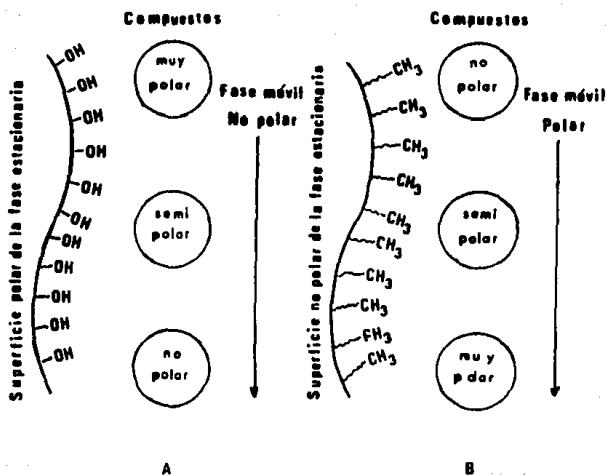


Fig. 1.3 Ilustración gráfica de la cromatografía líquida en fase normal (A) y en fase inversa (B). Se indica la posición relativa de los distintos compuestos presentes en la muestra según la dirección del flujo.

b. Teoría de la cromatografía líquida. ^(18,34)

Para la comprensión del proceso de separación, es necesario ver lo que ocurre con un componente único de la muestra. Al inyectar una muestra, si no existiera interacción las moléculas del soluto se desplazarían a la misma velocidad de la fase móvil [cuando el volumen total de la fase móvil es igual al volumen intersticial (V_c)], pero debido a las interacciones, las moléculas de la muestra se difunden y salen retrasadas, necesitando un volumen mayor [volumen de retención del soluto (V_r)]. En la actualidad debido a la instrumentación empleada, la separación se registra de acuerdo al tiempo transcurrido y no al volumen eluido, por lo que se utiliza tiempo de retención (t_r) y tiempo de trayectoria (t_m), siendo este último el tiempo necesario para que las moléculas de la fase móvil se trasladen de un extremo a otro de la columna. El tiempo de retención es el mismo concepto que el tiempo de trayectoria sólo que está aplicado a las moléculas de la muestra.

Un valor que nos indica el tiempo durante el cual se puede retener cada componente es la relación o factor de capacidad (k) y que está determinado por:

$$k = \frac{t_r - t_m}{t_m}$$

El factor de separación o retención relativa (α), describe la posición relativa de dos picos adyacentes:

$$\alpha = \frac{t_r - t_{mB}}{t_r - t_{mA}}$$

Siempre se coloca el valor del pico que sale al último en el numerador para asegurar un valor del factor de separación igual o mayor que 1.0. Si $\alpha=1$, los dos picos tienen iguales tiempos de retención y por lo tanto no existe separación.

La resolución (R_s) indica la separación real de los picos y se expresa como el cociente entre la distancia de los máximos de los picos (Δt) y el valor medio de la la base de cada pico:

$$R_s = \frac{\Delta t}{\frac{W_{b1} + W_{b2}}{2}} = \frac{2 \Delta t}{W_{b1} + W_{b2}}$$

en donde;

R_s = Resolución

Δt = Distancia entre los puntos máximos

W_{b1} = Longitud de la base del pico 1

W_{b2} = Longitud de la base del pico 2

En la siguiente figura se muestra un cromatograma con las mediciones para determinar tanto α como R_s .

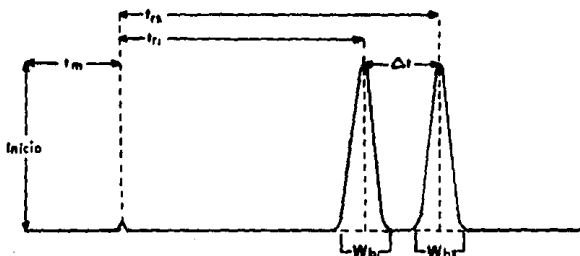


Fig. 1.4 Valores medidos sobre un cromatograma

c. Equipo.

Existe una gran diversidad de equipo fácilmente disponible, variando de acuerdo a su costo, versatilidad y complejidad. En general, todos los componentes deben ser contruidos de materiales resistentes a la corrosión tales como acero inoxidable, vidrio o teflón.

En la figura 1.5 se muestra el esquema funcional de un equipo general de cromatografía líquida.

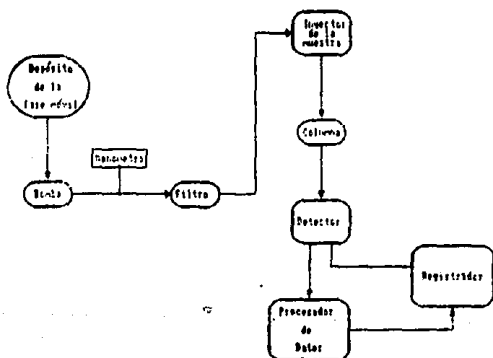


Fig. 1.5 Diagrama de un sistema de cromatografía de líquidos de alta resolución

Como se aprecia en el diagrama, los componentes básicos del equipo son: una **bomba** para impulsar la fase móvil; un mecanismo para la introducción de la muestra; una **columna** que contenga la fase estacionaria; y un **detector** para determinar la separación realizada de los componentes de la muestra.

D. Validación de un método analítico

1. DEFINICION

El término validación puede definirse como: "evidencia documentada que proporciona un alto grado de seguridad de que un proceso específico producirá consistentemente un producto que cumple con sus especificaciones determinadas previamente y sus atributos de calidad".

En base a lo anterior, se puede decir que la validación de un método analítico es el proceso mediante el cual queda establecido que tanto la capacidad analítica como su confiabilidad satisfacen los requisitos para las aplicaciones deseadas.

La importancia de la validación de los métodos analíticos es que con ellos se permitirá asegurar la calidad de cada una de las diferentes etapas de proceso por las que pasa un producto farmacéutico hasta que este es administrado.⁽¹⁾

La forma de validar un método de análisis depende de su futura aplicación, esto es, según el área de aplicación en que va a ser utilizado, por ejemplo en pruebas de estabilidad, en análisis rutinario, etc.⁽²⁾

2. PARAMETROS ESTADISTICOS

Para que una técnica se considere estadísticamente válida, se deben establecer parámetros estadísticos para evaluar la exactitud, precisión, especificidad, linealidad, límite de detección (sensibilidad) del método que está siendo evaluado.

Por otra parte, cualquier proceso de medición está sujeto a error.⁽³⁾ Es de esperarse que el error de un método analítico deba de ser evaluado para determinar su exactitud y establecer su precisión. El error de un método analítico se divide en error sistemático y error aleatorio, los cuales son independientes y aditivos.

El error sistemático es aquel que da lugar a medidas incorrectas y por lo tanto la exactitud se ve afectada por este error. Se divide en error constante o absoluto el cual es independiente de la concentración del fármaco en el medicamento y en error proporcional o relativo el cual depende de la concentración del fármaco en el medicamento. Se clasifica en:

- Error instrumental: debido a la mala calibración de los equipos.
- Error de método: debido a reacciones incompletas o no cuantitativas, etc.
- Error operativo: debido a la falta de experiencia del analista con el método analítico y que por ello omite o realiza defectuosamente la técnica correspondiente.
- Error personal: debido a la mala apreciación de un resultado, un mal cálculo o una lectura errónea.

El error aleatorio es aquel error que permanece aún cuando se ha eliminado el error sistemático por lo que da lugar a medidas imprecisas y por lo tanto la precisión del método está determinada por esta clase de error.

Los parámetros estadísticos a definir son:

a. Linearidad.

La linearidad de un sistema o método analítico⁽⁴⁾ es su capacidad para asegurar que los resultados analíticos son directamente proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado. Los niveles de concentración generalmente se establecen en cinco, teniendo como punto central el 100%. Se grafica la cantidad adicionada (X) contra la cantidad recuperada (Y).

La linearidad queda determinada por:

- Pendiente: indica la magnitud en la que la variable Y cambia por cada unidad de incremento en X.
- Ordenada al origen: punto por donde la recta cruza el eje vertical.

El coeficiente de correlación (r) mide el grado de la relación lineal⁽¹⁶⁾ entre las variables X y Y , tomando los valores entre -1 y 1 . Si $r = 1$, existe una correlación lineal directa perfecta entre las dos variables, mientras que $r = -1$ indica una correlación lineal inversa perfecta. Si $r = 0$, las dos variables no están correlacionadas linealmente.

Por otra parte, el coeficiente de variación (CV) nos indica la desviación estándar relativa de los valores obtenidos, expresada como una fracción de la media:⁽¹⁷⁾ S / \bar{X} . Al ser multiplicada por cien, queda expresado como un porcentaje.

En la siguiente figura se observan los diferentes tipos de error proporcional y las curvas que se obtienen en cada uno de ellos.

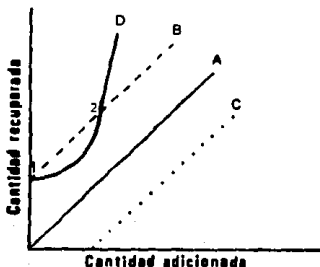


Fig. 1.6 Tipos de Error Proporcional

Como podrá observarse en el figura 1.6 la línea A representa una situación ideal, en la cual el método es lineal y tiene un intercepto de cero. La línea B muestra la misma situación pero se le ha adicionado estándar. En este caso el intercepto debería corresponder a la cantidad de estándar adicionado. La línea C muestra que un método puede exhibir linealidad pero aún ser inadecuado para análisis a bajas concentraciones del fármaco. La línea D es un ejemplo típico de un método no lineal, sólo si el recobro se hace únicamente en un punto (ya sea punto 1 ó 2) parecerá que el método trabaja satisfactoriamente, pero para otra concentración no lo será.

b. Especificidad.

La especificidad es la medida del grado de interferencia o ausencia de ella en el análisis de mezclas. Es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.⁽²⁰⁾

Se puede realizar corriendo muestras en donde:

MUESTRA	RESPUESTA
Placebo	No
Placebo añadido	Igual al std.
Estándar	Sí
Bco. de reactivos	No

En pruebas de estabilidad se realiza la especificidad para comprobar que el método analítico sea capaz de evaluar al principio activo sin degradar. Se confronta la respuesta del principio activo intacto y del degradado.

c. Precisión.

La precisión es el grado de concordancia de mediciones repetidas de una misma propiedad derivado de la desviación estándar estimada en una serie de mediciones y expresada en términos de repetibilidad y reproducibilidad. Estas características se determinan a través de los porcentajes de recobro.

1) Repetibilidad. Es la concordancia relativa de determinaciones independientes bajo las mismas condiciones

2) Reproducibilidad. Es la concordancia relativa de determinaciones independientes bajo condiciones diferentes. La evaluación se basa en un modelo que para los criterios particulares del laboratorio adquiere la forma de:

$$y_{ijk} = \bar{Y} + A_i + D_j + DA_{ij} + E_{k(ij)}$$

en donde:

y_{ijk} = porcentaje cuantificado con el mismo analista, en el j-ésimo día, y en la k-ésima repetición.

- \bar{X} = promedio
 A_i = analista i-ésimo
 D_j = día j-ésimo
 DA_{ij} = interacción analista-día
 $E_{k(ij)}$ = error experimental

Cada variable representa una de las posibles fuentes de variación involucradas en la técnica. Se cuantifica además el error ($E_{k(ij)}$) implícito en cada determinación.

El análisis de varianza (ANAEVA) permite establecer la significancia de los efectos de los factores bajo estudio en los resultados obtenidos.

ANAEVA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F_{col}
A_i	$i-1$	$\frac{\sum Y_{i..}^2}{jk} - \frac{Y_{...}^2}{ijk}$	$\frac{SC_A}{i-1}$	$\frac{MC_A}{MC_{AD}}$
D_j	$j-1$	$\frac{\sum Y_{.j.}^2}{ik} - \frac{Y_{...}^2}{ijk}$	$\frac{SC_D}{j-1}$	$\frac{MC_D}{MC_{AD}}$
AD_{ij}	$(i-1)(j-1)$	$\frac{\sum \sum Y_{ij.}^2}{k} - \frac{\sum Y_{i..}^2}{jk} - \frac{\sum Y_{.j.}^2}{ik} + \frac{Y_{...}^2}{ijk}$	$\frac{SC_{AD}}{(i-1)(j-1)}$	$\frac{MC_{AD}}{MC_e}$
$E_{k(ij)}$	$ij(k-1)$	$\sum \sum Y_{k(ij)}^2 - \frac{\sum \sum Y_{ij.}^2}{k}$	$\frac{SC_e}{ij(k-1)}$	—

Si para las tres fuentes de variación no se observa efecto del factor sobre la variable de respuesta, entonces el método es reproducible. En el caso de que la interacción resultara significativa invalidaría la no significancia de los otros 2 factores restantes (analista y día).

Se emplea generalmente un nivel de concentración igual al 100% para establecer la precisión.

a) Estabilidad de la muestra.- Son las condiciones en las cuales la muestra mantiene constante su propiedad medible en un lapso determinado de tiempo.⁽¹⁾

d. Exactitud.

La exactitud es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia que se espera obtener. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia. Se utilizan por lo menos tres niveles de concentraciones en las cuales la central es 100%.

e. Tolerancia.

Es el grado de reproducibilidad de los resultados obtenidos por el análisis de la misma muestra con modificaciones de las condiciones normales de operación, tales como distintos tipos de empaque, diferentes fases móviles y/o diferentes concentraciones de éstas, diferentes temperaturas, velocidades de flujo, etc., dentro de cierto grado.

f. Sensibilidad.

Es la concentración mínima que puede ser detectada con precisión, exactitud bajo las condiciones de operación establecidas en el método.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los estudios de preformulación engloban una serie de determinaciones muy variadas como son: temperatura de fusión, solubilidades, perfiles de disolución, espectros I.R. y U.V., grado de humectación, etc., que abarcan la utilización de instrumental analítico muy variado y que en la mayoría de las ocasiones no se tiene en su totalidad en los laboratorios. A su vez, se requiere de varios reactivos o disolventes, equipo especial y tiempo. Todo ello repercute en costos de investigación, que en ocasiones pueden resultar elevados pero que permitirán optimizar procesos posteriores.

En este caso, el laboratorio en donde se desarrollará el trabajo experimental cuenta con equipo y material analítico suficiente para poder llevar al cabo, si no en su totalidad, sí la mayoría de las determinaciones requeridas para los estudios de preformulación, teniendo tan sólo como restricción el tiempo para realizarlos puesto que se requieren de estudios que en el plazo corto den resultados confiables que permitan tomar decisiones acertadas.

Entre las técnicas analíticas que son un apoyo para los estudios de estabilidad y compatibilidad entre el fármaco y los excipientes, está la cromatografía en capa fina, que es rápida, fácil y económica. También puede contarse con técnicas espectrofotométricas como la de ultravioleta (U.V.) que permiten cuantificar el compuesto de interés. Así mismo puede emplearse la calorimetría de exploración diferencial (CED) en el análisis de mezclas o para la identificación de materia prima. Todos estos métodos pueden ser empleados en la cuantificación del principio activo, en la determinación de la estabilidad química y farmacéutica del medicamento, en la identificación del principio activo y en la posible interacción fisicoquímica.

Existe un método potenciométrico para la valoración de la quinifanida, sin embargo es más lento y menos sensible comparado con la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). Por lo tanto, la CLAR presenta mayores ventajas, pues es rápida, sensible, con alta resolución y proporciona resultados confiables utilizando pequeñas cantidades de muestra por lo que se ha elegido este método para ser utilizado en la valoración del principio activo en la forma farmacéutica.

III. OBJETIVOS

1. Determinar mediante estudios de preformulación las propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas de la quinfaida no reportados.
2. Determinar la compatibilidad de quinfaida con excipientes propuestos para forma farmacéutica tabletas.
3. Validar el método y sistema analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución para quinfaida y tabletas de quinfaida.

IV. MICROESIA DE TRABAJO

Al contar con técnicas como la calorimetría de exploración diferencial (CED), espectrofotometría I.R. y U.V., se puede caracterizar la molécula de la quinfaida para su identificación y análisis de pureza.

Con el instrumental analítico existente en el laboratorio, se podrá obtener información como: solubilidades, morfología cristalina, tamaño de partícula y distribución de la misma, existencia de polimorfos, entre otros, así como la estabilidad del principio activo sólo y frente a posibles excipientes de la forma farmacéutica de tabletas, con apoyo de métodos analíticos que permitan evaluar tales características.

Por otra parte, si el método analítico desarrollado por CLAR no presenta problemas de interferencia por excipientes, productos de degradación u otras moléculas, y tiene un comportamiento lineal dentro del rango de concentraciones de interés, se podrá efectuar la validación del método y sistema para que sean utilizados en la cuantificación de la quinfaida en análisis rutinario y en estudios de estabilidad.

Y. MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL

A. Sustancias

Quinfaida Lote 708067
 Propilparabeno estándar
 Metanol absoluto JT Baker
 Agua destilada
 Agua mQ
 Cloroformo R.A. JT Baker
 Ácido clorhídrico R.A. JT Baker
 Etanol al 96% (v/v)
 Hidróxido de sodio R.A. JT Baker
 Bromuro de potasio R.A.
 Peróxido R.A.
 Tolueno R.A.
 Metanol CLAR
 Excipientes

B. Material

Agitadores magnéticos
 Baño de agua
 Cámara de elución
 Cronómetro
 Estabilidad
 Desecadores
 Embudos buchner
 Espátulas
 Gradillas
 Mallas
 Material de vidrio
 Mortero de porcelana con pistilo
 Papel filtro whatman No. 5
 Pinzas para bureta
 Pissetas
 Placas de sílica gel F₂₅₄ Merck
 Termómetro de -10 a 120°C

C. Equipos

Balanza analítica Mettler Mod. H51AR
 Prensa hidráulica

Lámpara U.V.
Microscopio óptico
Autoclave
Estufas Hotpack y Precision Scientific
Potenciómetro Beckman Mod. 3500
Parrillas de calentamiento y agitación Pyro-Magnetir
Ultrasonic Cleaner Cavitator
Vortex
Rotap

* Los equipos específicos para IR, UV, p.f., CED y CLAR se detallan en la metodología.

METABOLOGIA

A. Preforeculación

1. PROPIEDADES QUÍMICAS

a. Caracterización química

1) Impurezas: (CCF)^{Am}

-Método:

Placa: sílica gel F₂₅₄

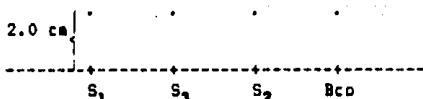
Sistema eluyente: tolueno: metanol absoluto (95:5) saturado durante 30 minutos previamente.

Patrón: quinfamida al 1% en disolvente: cloroformo y metanol absoluto (9:1). (S₁)Dilución patrón: tomar 1 ml de S₁ y diluirlo a 50 ml en disolvente. Concentración final: 2% de la S₁. (S₂)Muestra: disolver una cantidad para preparar una solución al 1% con disolvente. (S₃)

Revelado: luz UV a 254 nm

Procedimiento:

- 1- aplicar 10 µl de cada solución y 10 µl de disolvente como blanco según la secuencia mostrada en el siguiente esquema.



- 2- Colocar la placa en la cámara de elución saturada.
- 3- Dejar correr el eluyente hasta una altura de 15 cms, retirar la placa y dejarla secar.
- 4- Revelar la placa con lámpara UV a 254 nm
- 5- Si aparece otra mancha en la muestra, se compara ésta contra la mancha de la solución diluida del estándar (S₂), no debe ser mayor a ésta.

2. PROPIEDADES FÍSICAS EN ESTADO SÓLIDO

a. Descripción

- 1) Realizar una prueba organoléptica del compuesto y reportar su aspecto, color, sabor y olor.

b. Propiedades Térmicas

1) Rango de fusión: (método del capilar)⁽³⁴⁾

- Equipo: Uni-Melt. Capillary Melting Point Apparatus. Thomas Hoover

- Método:

- 1- Introducir el polvo en un tubo capilar para la determinación de la temperatura de fusión.
- 2- Colocar el tubo capilar en el baño de aceite y establecer una velocidad de calentamiento de 3°C/min hasta llegar a 120°C.
- 3- Continuar con una velocidad de calentamiento de 2°C/min, observar y registrar el inicio y final de la fusión de la muestra.

2) Calorimetría de exploración diferencial (CED)⁽³⁵⁾

- Equipo: unidad de control - Differential Scanning Calorimeter DSC - 1B

Controles: pendiente - 590

intervalo - 32

velocidad de exploración - 20

Analizador - Differential Scanning Calorimeter DSC - 1B

Controles: promedio - 320

diferencial - 550

Registrador - Perkin Elmer Recorder 56

Controles: polaridad (-)

intervalo - 20

velocidad del papel - 20

- Muestra: quinfamida

- Procedimiento:

- 1- Se pesa el cuerpo de aluminio y su tapa y se registra el peso total.
- 2- Se pesan de 3 a 5mg de muestra.
- 3- Se coloca el cuerpo de la cápsula en la prensa, se adiciona la muestra, se tana y se sella con

La prensa.

- 4- Se pesa la cápsula sellada y se determina por diferencia de pesos el peso real de la muestra.
- 5- Se coloca la cápsula en la celda derecha de la cámara y en la izquierda una cápsula de referencia.
- 6- Se hace pasar nitrógeno a la cámara del calorímetro.
- 7- El equipo se programa para iniciar desde 50°C hasta 180°C.

c. Características cristalinas

1) Forma cristalina: (microscopio)⁽²⁾

- Equipo: Microscopio óptico
- Muestra: quinfamida
- Procedimiento:
 - 1- Con la punta de un espátula fina esparcir cristales del compuesto sobre un portaobjetos limpio y seco.
 - 2- Cubrir los cristales con un cubreobjetos.
 - 3- Definir el área enfocando con el objetivo de 10X y pasar al objetivo de 45X.
 - 4- Colocar una gota de aceite de inmersión y describir la(s) forma(s) cristalinas observadas a través del objetivo 100X.

2) Tamaño de partícula: (microscopio)

- Equipo: Microscopio óptico
- Muestra: quinfamida
- Procedimiento:
 - 1- Colocar cristales de muestra sobre un portaobjetos limpio y seco
 - 2- Elegir una zona de conteo con el objetivo de 10X y con el objetivo de 45X realizar dicho conteo (dividir la zona en cuatro cuadrantes)
 - 3- Registrar el número de partículas de acuerdo a su tamaño según las divisiones de la escala ocular (OSD) y determinar su tamaño real multiplicando los OSD por el factor 2.22 que corresponde al objetivo de 45X.

(Tamiz)⁽¹⁰⁾

- Equipo: Rot-Tap con mallas 60, 80, 100, 150, 200.
- Muestra: quinfamida
- Procedimiento:
 - 1- Pesar cada una de las mallas y base y registrar

los pesos.

- 2- Acomodar las mallas en orden decreciente en tamaño y de arriba hacia abajo.
- 3- Pesar con precisión aproximadamente 20 g de la muestra y depositarlos sobre la primera malla.
- 4- Tapar la malla y colocarla en el Rot-tap con una intensidad de 90 golpes/min durante 10 minutos.
- 5- Separar cada malla y pesarla y por diferencia de pesos determinar la cantidad de muestra que quedó en cada malla.
- 6- Registrar el porcentaje de tamaño de partícula.

3) Polimorfos⁽¹⁷⁾

-Método: colocar 1g de quinfaida en un vaso de precipitados de 250 ml y adicionar 100 ml de etanol. Calentar a 50 C hasta la total solubilización y provocar la cristalización en un baño de hielo. Filtrar a través de papel filtro whatman # 5 y reportar el rendimiento obtenido.

1- Formas cristalinas (microscopio)

Se hace la observación en el microscopio con el objetivo de 100 X y se reporta la forma de los cristales.

2- CED:

Se realiza una calorimetría de exploración diferencial para determinar la temperatura de fusión.

d. Densidad aparente.⁽¹⁸⁾

- Método: pesar exactamente, aproximado, 40g de quinfaida y colocarlos en una probeta de vidrio de 100 ml. Registrar el volumen del polvo.

e. Densidad compactada.⁽¹⁸⁾

- Equipo: Tap-Pak

- Método: se coloca la probeta de vidrio de 100 ml con los 40 g de muestra y se compacta en el tap-pak a razón de 60 golpes por minuto hasta que el volumen sea constante. Registrar el volumen del polvo.

f. Flujo.⁽¹⁶⁾

- Método: se colocan 25.0 g de quinfaida en un embudo

de acero inoxidable que se encuentra fijo a una altura de 20 cm con el orificio de salida tapado. Al mismo tiempo que se inicia el flujo del polvo se acciona un cronómetro. Se registra el tiempo en que tarda en caer el polvo por completo.

g. Compresibilidad. ⁽¹⁶⁾

- Método: la compresibilidad está determinada por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Compresibilidad} = \frac{\text{Dens. Compact.} - \text{Dens. Aparen.}}{\text{Dens. Compact.}} \times 100$$

Registrar el % de compresibilidad.

h. Grado de aglomeración: ⁽¹⁶⁾

- Equipo: microscopio óptico
- Método: colocar una pequeña muestra de quinfaida sobre un portaobjetos. Mediante el objetivo de 45 X realizar una observación de los cristales. Registrar el resultado.

i. Grado de humectación: ⁽¹⁶⁾

- Método: se cubre la superficie de un portaobjetos con una película fina de polvo de quinfaida y se compacta (realizar para cada uno de los vehículos a probar). Mediante un cronómetro se registra el tiempo que tarda la placa en humectarse desde el momento en que se deposita una gota del vehículo. Se determina el grado de humectación mediante el siguiente esquema:

Humectación



completa



mediana



ninguna

j. Contenido de agua. ⁽¹¹⁾

- Equipo: Karl Fischer
- Método: Karl Fischer

1) Factor reactivo: se realiza por triplicado una titulación de tartrato de sodio (muestras entre 150 y 350 mg c/u). Se determina mediante la fórmula:

$$\frac{2M \text{ molecular } H_2O}{M \text{ molecular tartrato}} \times \frac{W \text{ mta (mg)}}{V \text{ gastado (ml)}}$$

2) Muestras: se pesan exactamente entre 150 y 350 mg de quinfamida y se titulan hasta el aumento de corriente entre 50 y 150 microamperes por 30 segundos. Determinar el porcentaje de humedad por:

$$\frac{V \text{ gastado (ml)} \times F}{W \text{ mta. (mg)}} \times 100$$

k. Pérdida al secado. ⁽¹²⁾

- Equipo: lámpara I.R.
- Método: se colocan sobre la charola 10 g de quinfamida, se tapa y se le aplica una intensidad de 4, durante un tiempo de 20 minutos. Se registra el porcentaje perdido de peso.

l. Humedad en equilibrio (higroscopicidad). ⁽¹³⁾

- Método: se utilizan 3 desecadores de plástico con placa de porcelana y sílica activada. En cada uno de los desecadores se colocan 100 ml de solución saturada de sal como se indica a continuación: ⁽¹³⁾

Desecador	Sal	% H.R.
1	Nitrato de sodio	64
2	Bromuro de potasio	83
3	Nitrato de potasio	93

A cada desecador se le depositan 2 pesafiltros pesados con una muestra de quinfamida pesada exactamente. Se tapan los desecadores, se dejan durante 7 días a

25°C. Al final de este lapso se pesan de nuevo los pesafiltros y se determina el incremento o decremento en el peso de la muestra. Se estima el resultado.

a. Espectroscopia en estado sólido.⁽⁵¹⁾

- Equipo: Perkin-Elmer Mod. 1310 Infrared Spectrophotometer.
- Condiciones operacionales:
 - número de onda 4000
 - expansión de la carta 1
 - tiempo de exploración 12
 - verificación de la ganancia 1X
- Preparación: se preparan de igual manera una tableta de la muestra y otra del estándar. Se pesan aproximadamente 3 mg de quinaquina y 200 mg de bromuro de potasio, se mezclan en un mortero de ágata y el polvo se coloca una matriz. Cada cara de la matriz se comprime en la prensa hidráulica durante un minuto con una fuerza de compresión de 400 Kg/cm².
- Procedimiento: Se coloca una tableta en la celda del espectrofotómetro y se registra su espectro.

3. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS EN ESTADO SÓLIDO

a. Solubilidad⁽⁵²⁾

- Equipo: Cromatógrafo de líquidos Waters # 1
 - Bomba M-600
 - Detector Waters M-440
 - Integrador Data Module 730
 - Columna MicroBondapak C₁₈ # 13
- Condiciones operacionales:

vol. inyección	20 µl
vel. flujo	2.0 ml/min
presión	500 psi
long. de onda	254 nm
atenuación	0.2 AUFS
vel. carta	0.25 cm/min
disolvente	metanol abs
fase móvil	MeOH:H ₂ O
gradiente	60:40

D. solventes: agua destilada
 etano.
 metanol
 clorotorno

- Procedimiento:

- 1) Patrón: se pesan aproximadamente 50 mg de quinfa-mida de referencia. se depositan en un matraz vo-lumétrico de 50 ml y se lleva al volumen de aforo con metanol absoluto. Se retira una alícuota de 3 ml y se deposita en un matraz volumétrico de 50 ml llevar a volumen con metanol absoluto. Concentra-ción final 0.06 mg/ml
- 2) Muestras:
 - 1- Añadir por separado 5 ml de cada disolvente a tubos de vidrio de 16X100 (por triplicado).
 - 2- Colocar 5 mg de quinfa-mida a cada tubo y agitar durante un minuto en Vortex.
 - 3- Continuar adicionando quinfa-mida en incrementos de 5 mg hasta lograr la saturación.
 - 4- Filtrar las muestras por Kit Millipore, equipa-do con una membrana 0.45 μ m para disolventes acuosos u orgánicos según se requiera.
 - 5- Realizar las diluciones necesarias para cuanti-ficar por CLAR.
 - 6- Inyectar por duplicado cada muestra y determi-nar los mg disueltos por ml según:

$$\% \text{ recuperado} = \frac{\text{Conc. final st.}}{\text{Conc. final sta.}} \times 100$$

en donde:

$$\% \text{ recuperado} = \frac{A_s}{A_{st}} \times 100$$

$$\text{mg/ml teóricos} = \frac{W \text{ total muestra}}{5 \text{ ml}}$$

4. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS EN SOLUCIÓN

a. Espectroscopia U.V. (25)

- Equipo: Espectrofotómetro UV Vis. b.e Perkin-Elmer
- Condiciones operacionales:

velocidad de exploración	120 nm/min
velocidad de grabación	20 cm/min
velocidad de la arrastre	60 mm/min

ordenada máx. 2 A
 ordenada mín. 0 A
 respuesta 2 sec.

- Disolventes: cloroformo
 etanol
 metanol

- Procedimientos:

- 1) Se pesan muestras de quinfaida de 25 g en matraz volumétrico de 50 ml y se lleva al volumen con el disolvente. Se retira una alícuota de 3 ml y se deposita en un matraz volumétrico de 25 ml, aforando con el disolvente. Se hace otra dilución de 3 ml en 10 ml de disolvente. Concentración final 18 µg/ml.
- 2) Colocar la muestra en una celda de 1 cm de ancho de cuarzo y se hace el barrido de 350 nm a 190 nm.
- 3) Registrar la longitud de onda máxima de absorción.

5. ESTABILIDAD

a. Calorimetría de exploración diferencial (CED)⁽⁵⁰⁾

- Equipo: unidad de control - Differential Scanning Calorimeter DSC - 1B
 Controles: pendiente - 590
 intervalo - 32
 velocidad de exploración - 20

Analizador - Differential Scanning Calorimeter DSC - 1B
 Controles: promedio - 320
 diferencial - 550

Registrador - Perkin Elmer Recorder 56
 Controles: polaridad (-)
 intervalo - 20
 velocidad del papel - 20

- Muestra: quinfaida
- Condiciones de la muestra: temperatura ambiente
 14 días a:
 55 °C
 70 °C
 32 °C, 80% H.R.
 Lu: 1500 pies-candela;
 temperatura ambiente

- Procedimiento: (por duplicado)

- 1) Se pesa el cuerpo de aluminio y su tapa y se registra el peso total.
- 2) Se pesan de 3 a 5mg de muestra.
- 3) Se coloca el cuerpo de la cápsula en la prensa, se adiciona la muestra, se tapa y se sella con la prensa.
- 4) Se pesa la cápsula sellada y se determina por diferencia de pesos el peso real de la muestra.
- 5) Se coloca la cápsula en la celda derecha de la cámara y en la izquierda una cápsula de referencia.
- 6) Se hace pasar nitrógeno a la cámara del calorímetro.
- 7) El equipo se programa para iniciar desde 50°C hasta 180°C.

b. Cromatografía de capa fina (CCF).

-Método :

Placas: sílica gel F₂₅₄

Sistema eluyente: tolueno: metanol absoluto (95:5) saturado 30 minutos previamente.

Patrón: quinfaida al 1% en disolvente de cloroformo:metanol absoluto (9:1). (S₁)

Dilución patrón: tomar 1 ml de S₁ y diluirlo a 50 ml en disolvente. Concentración final 2% de la S₁. (S₂)

Muestra: preparar una solución al 1% en disolvente.

Condiciones de la muestra: temperatura ambiente

14 días a:

55°C

70°C

77°C, 80% H.R.

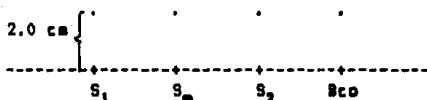
Luz (1500 pies-candela)

temperatura ambiente

Revelado: luz UV a 254 nm

Procedimiento:

- 1) aplicar 10 µl de cada una de las soluciones y 10 µl de disolvente como blanco, según se muestra en el siguiente esquema.



- 2) Colocar la placa en la cámara de elución saturada.
- 3) Dejar correr el eluyente hasta una altura de 15 cm, retirar la placa y dejarla secar.
- 4) Revelar la placa con lámpara UV a 254 nm
- 5) Si aparece otra mancha en la muestra, se compara ésta contra la mancha de la solución diluida del estándar (S₂) y no debe ser mayor a ésta.

6. COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES

a. Calorimetría de exploración diferencial (CED)^(M)

El equipo, condiciones y procedimiento de operación son las mismas descritas para el punto 1. de estabilidad.

- Muestras:

Quinfamida
Lactosa hidratada
Polivinilpirrolidona
Crospovidona XL
Estearato de magnesio
Avicel PH 102
Almidón de maíz
Estearato de sodio
Aerosil

- Mezclas:

	%
Quinfamida- lactosa	69.0 - 31.0
Quinfamida- PVP	97.0 - 3.0
Quinfamida- PVP XL	98.5 - 1.5
Quinfamida- estearato de magnesio	99.2 - 0.8
Quinfamida- avicel	76.9 - 23.1
Quinfamida- almidón de maíz	76.9 - 23.1
Quinfamida- aerosil	98.5 - 1.5
Quinfamida- estearato de sodio	98.5 - 1.5
Placebo (excipientes)*	
Tableta (excipientes + p.a.)*	

- Condiciones de las muestras:
 - Iniciales: temperatura ambiente
 - 14 días a: temperatura ambiente
 - 55°C
 - 70°C
 - 32°C, 80% H.R.
 - Luz (1500 pies-candela)

- Registrar los resultados en una tabla.

*Nota: se propuso la mejor formulación posible para efectuar pruebas con placebo y los lotes piloto de tabletas.

B. Validación del método analítico

MSZ CL08

1. ESPECIFICIDAD

- Equipo: Cromatografo de líquidos Waters # 1
 Bomba M-600
 Detector Waters M-440
 Integrador Data Module 730
 Columna MicroBondapak C₁₈ # 13
- Condiciones operacionales:

vol. inyección	20 µl
vel. flujo	2.0 ml/min
presión	500 psi
long. de onda	254 nm
atenuación	0.2 AUFS
vel. carta	0.25 cm/min
solvente	metanol abs.
fase móvil	MeOH:H ₂ O
gradiente	60:40
- Procedimiento:
 - a. Referencia: pesar 25 mg de quinfamida sustancia de referencia y trasladarlos a un matraz volumétrico de 50 ml, llenando el matraz hasta la marca de aforo con metanol absoluto. Mezclar y trasladar una alícuota de 3 ml a un matraz volumétrico de 25 ml, llenando el matraz hasta la marca de aforo con metanol absoluto. Concentración final 0.06 mg/ml.
 - b. Muestra:
 1. Quinfamida: Pesar 25 mg de quinfamida y trasladarlos a un matraz volumétrico de 50 ml; disolverlos y llenar el matraz hasta la marca del aforo con metanol absoluto. Mezclar y trasladar una alícuota de 3 ml a un matraz volumétrico de 25 ml, llenando el matraz hasta la marca de aforo con metanol absoluto. Concentración final 0.06 mg/ml.
 2. Placebo: pesar 37.5 mg de placebo; trasladarlos a un matraz volumétrico de 50 ml. Adicionar aproximadamente 30 ml de metanol absoluto, tapar y dejar durante 10 minutos en el baño con ultrasonido. Llevar a la marca de aforo y filtrar aproximadamente 20 ml con papel whatman No. 5. Retirar una alícuota de 3 ml del filtrado, trasladarlos a un ma-

traz volumétrico de 25 ml. Llevar a la marca de aforo con metanol absoluto.

3. **Tabletas:** pesar 37.5 mg (equivalente a 25 mg de quinfamida base) de polvo de tabletas y depositarlos en un matraz volumétrico de 50 ml. Adicionar aproximadamente 30 ml de metanol absoluto, tapar y dejar durante 10 minutos en el baño con ultrasonido. Agregar metanol absoluto hasta la marca del aforo y filtrar aproximadamente 20 ml a través de papel whatman No. 5. Retirar una alícuota de 3 ml del filtrado y verterlos en un matraz volumétrico de 25 ml, llevando hasta la marca de aforo con metanol absoluto. Concentración final de quinfamida = 0.06 mg/ml.

Condiciones de las muestras de placebo, tabletas y quinfamida:

iniciales: temperatura ambiente
 14 días a: temperatura ambiente
 55°C
 70°C
 32°C. 80% H.R.
 Luz (1500 pies-candela)

Determinar el porcentaje recuperado de quinfamida en las tabletas y la muestra mediante la fórmula:

$$\% \text{ recuperado} = \frac{A_m}{A_p} \times \frac{P_p}{50} \times \frac{3}{25} \times \frac{50}{P_m} \times \frac{25}{3} \times 100$$

donde:

A_m = área del pico de la muestra
 A_p = área del pico de la referencia
 P_p = peso del patrón (mg)
 P_m = peso de la muestra (mg)

Reportar si existe o no interferencia.

2. LINEARIDAD

- Procedimiento:
- a. Soluciones de referencia -

* Tableta = placebo cargado para una formulación de 100 mg por tableta.

- 1) Pesar 37.6 mg de quinfaida de referencia y trasladarlos a un matraz volumétrico de 100 ml, disolverlos y llenar hasta la marca del aforo con metanol absoluto. Concentración = 0.376 mg/ml. Solución a.
- 2) Pesar 24.0 mg de propilparabenó y trasladarlos a un matraz volumétrico de 100 ml. Disolverlos y llenar hasta la marca del aforo con metanol absoluto. Concentración = 0.24 mg/ml. Solución b.

b. Referencia.- Trasladar 4 ml de la solución de referencia a y 4 ml de la solución de referencia b a un matraz volumétrico de 25 ml. Diluirlos hasta la marca de aforo con metanol absoluto. Realizarlo por duplicado. Concentración final = 0.06 mg/ml.

c. Muestras.- Se realizan muestras para el 50, 75, 100, 125 y 150 % de la concentración de quinfaida trasladando los volúmenes de las soluciones de referencia a y b indicados en la tabla 2.1 en matraces volumétricos de 25 ml diluyendo hasta la marca de aforo con metanol absoluto.

Tabla 2.1 Volúmenes de soluciones de referencia a y b tomados para las diferentes concentraciones

Concentración %	Volumen (ml)		mg/ml adicionado
	Solución a	Solución b	
50	2	4	0.030
75	3	4	0.045
100	4	4	0.060
125	5	4	0.075
150	6	4	0.090

Injectar cada muestra por duplicado y calcular los mg/ml recuperados mediante:

$$\text{mg/ml rec.} = \frac{\%A_q}{\%App} \times \frac{Ppp}{100} \times \frac{4}{25} \times \frac{1}{FR}$$

$$Fr = \frac{\%A}{\%App} \times \frac{Ppp}{100} \times \frac{4}{25} \times \frac{100}{Pq} \times \frac{25}{4}$$

en donde:

- X_{A_0} = porcentaje del área de quinfamida
 X_{App} = porcentaje del área del propilparabeno
 P_q = peso de quinfamida (mg)
 P_{pp} = peso del propilparabeno (mg)
 R_f = factor respuesta

Determinar la ordenada al origen, pendiente, coeficiente de correlación y recta de validación según fórmulas (1 - 10) del apéndice A.

3. PRECISION

a. Repetibilidad.

- Procedimiento:

1) Patrón.-

- a) Pesar 50 mg de quinfamida de referencia disolverlos y diluirlos hasta la marca de aforo de un matraz volumétrico de 100 ml con metanol absoluto. Esta es la solución 1
- b) Pesar 24 mg de propilparabeno (estándar interno) y trasladarlos a un matraz volumétrico de 100 ml, disolverlos y diluirlos hasta la marca del aforo con metanol absoluto. Esta es la solución 2
- c) Diluir 3 ml de solución 1 y 4 ml de solución 2 en un matraz volumétrico de 25 ml con metanol absoluto. Realizarlo por duplicado. (Concentración final de quinfamida = 0.06 mg/ml = 100%

2. Soluciones de referencia.-

- a) Pesar 250 mg de quinfamida disolverlos y diluirlos hasta la marca de aforo en un matraz volumétrico de 100 ml con metanol absoluto. Esta es la solución a
- b) Pesar 160 mg de propilparabeno disolverlos y diluirlos hasta la marca de aforo en un matraz volumétrico de 100 ml con metanol absoluto. Esta es la solución b

3) Muestra. Pesar 37.5 mg de placebo y trasladarlos a un matraz volumétrico de 50 ml. Adicionar 10 ml de solución de referencia a y 5 ml de solución de referencia b. Agregar aproximadamente 15 ml de me

tanol absoluto, tapar y dejar durante 10 minutos en el baño de ultrasonido. Dejar enfriar y diluir con metanol absoluto, mezclar y filtrar con papel whatman No. 5, recogiendo aproximadamente 20 ml del filtrado. Diluir una alícuota de 3. ml del filtrado y en un matraz volumétrico de 25 ml con metanol absoluto. Realizar el mismo procedimiento para concentraciones al 80 y 120% y 6 muestras independientes para cada nivel de concentración.

Determinar el factor respuesta (patrón) mediante:

$$Fr = \frac{\% A_q}{\% App} \times \frac{P_{pp}}{P_q}$$

en donde:

% A_q = porcentaje del área de quinfamida
 % App = porcentaje del área del propilparabeno
 P_q = peso de quinfamida (mg)
 P_{pp} = peso del propilparabeno (mg)

Determinar el porcentaje recuperado mediante la fórmula:

$$\% \text{ recuperado} = \frac{\% A_q}{\% App} \times \frac{P_{pp}}{P_q} \times \frac{100}{Fr}$$

Determinar la precisión, utilizando las fórmulas 12 y 13 del apéndice A.

b. Reproducibilidad.

- Procedimiento:

1) Patrón.

- a) Pesar 250 mg de quinfamida y diluirlos hasta la marca de aforo con metanol absoluto en un matraz volumétrico de 100 ml. Esta es la solución 1
- b) Pesar 320 mg de propilparabeno y diluirlos hasta la marca de aforo con metanol absoluto en un matraz volumétrico de 100 ml. Esta es la solución 2
- c) Diluir 10 ml de solución 1 y 5 ml de solución 2

en un matraz volumétrico de 50 ml con metanol absoluto y mezclar. Esta es la solución 3

- d) Diluir por duplicado una alícuota de 3 ml de la solución 3 en un matraz volumétrico de 25 ml con metanol absoluto. Concentración final de quinfa- nida = 0.06 mg/ml.

- 2) Muestra.- De la formulación para tabletas, separar el peso correspondiente a 25 mg de quinfa nida y ponerlos en un matraz volumétrico de 50 ml. Agregar 5 ml de la solución 2 y adicionar 20 ml de metanol absoluto. Dejar durante 10 minutos en el baño de ultrasonido, dejar enfriar y diluir hasta la marca del aforo con metanol absoluto. Filtrar aproximadamente 20 ml con papel whatman No. 5, llevar una alícuota del filtrado de 3 ml a un matraz volumétrico de 25 ml llevando hasta la marca de aforo con metanol absoluto. Reproducir 3 muestras y el mismo procedimiento al siguiente día con otro analista.

- a) Estabilidad de la muestra.- Para determinar la estabilidad de la muestra repetir la inyección de las muestras del primer grupo de la reproducibilidad al día siguiente.

Determinar el factor respuesta y el % recuperado mediante:

$$Fr = \frac{\%A_q}{\%App} \times \frac{P_{pp}}{P_q} \times 0.5$$

$$\% \text{ recuperado} = \frac{\%A_q}{\%App} \times \frac{P_{pp}}{P_q} \times \frac{5}{100} \times \frac{100}{Fr}$$

Determinar la reproducibilidad mediante la tabla de ANADEV A v la fórmula 14 del anexo A.

4. EXACTITUD

Determinar la exactitud con los resultados del porcentaje recuperado de la repetibilidad, utilizando las fórmulas 15 v 16 del apéndice A.

5. TOLERANCIA

- Procedimiento:

a. Referencia.-

- 1) Pesar 125 mg de quinfamida y trasladarlos a un matraz volumétrico de 50 ml. Diluir hasta la marca de aforo con metanol absoluto y mezclar. Esta es la solución **a**.
- 2) Pesar 160 mg de propilparabeno, trasladarlos a un matraz volumétrico de 50 ml llenando hasta la marca de aforo con metanol absoluto y mezclar. Esta es la solución **b**.
- 3) Diluir 10 ml de solución **a** y 5 ml de solución **b** en un matraz volumétrico de 50 ml hasta la marca del aforo con metanol absoluto y mezclar.
- 4) Diluir una alícuota de 3 ml en un matraz volumétrico de 25 ml con metanol absoluto y mezclar.

Injectar por duplicado en cada fase abvil.

b. Fase abvil.-

- | | |
|-------------------|-------|
| 1) Metanol : agua | 55:45 |
| 2) Metanol : agua | 60:40 |
| 3) Metanol : agua | 65:35 |

c. Velocidad de la carta: 1

Determinar el factor de resolución FR mediante:

$$FR = \frac{10 \text{ mm/min} (T_{r,q} - T_{r,pp})}{\frac{A_{pp} + A_q}{2}}$$

en donde:

- $T_{r,q}$ = tiempo de retención de quinfamida (min)
 $T_{r,pp}$ = tiempo de retención del propilparabeno (min)
 A_q = longitud de la base del pico de la quinfamida (mm)
 A_{pp} = longitud de la base del pico del propilparabeno (mm)

VI. RESULTADOS

A. Preformulación

1. PROPIEDADES QUÍMICAS

a. Caracterización química.

En la tabla 1.1 se muestran los resultados de las impurezas detectadas por cromatografía de capa fina.

Tabla 1.1 Impurezas por cromatografía de capa fina.
(R_{f1} y R_{f2})

MUESTRA	R_{f1}	R_{f2}	R_{f3}
S ₁	0.683	0.466	0.280
S ₂	0.683	---	---
S ₃	0.683	0.466	0.280
Bco.	---	---	---

Se puede observar que tanto la referencia S como la muestra presentan los mismos R_{f2} , siendo el R_f del principio activo = 0.683

2. PROPIEDADES FÍSICAS EN EL ESTADO SÓLIDO

a. Descripción.

- | | | |
|------------|---|----------------------------|
| 1) Aspecto | : | polvo amorfo |
| 2) Color | : | blanco |
| 3) Sabor | : | insípido con notas amargas |
| 4) Olor | : | inodoro |

b. Propiedades térmicas.

- 1) Intervalo de temperatura de fusión: 146°C - 148°C
- 2) Calorimetría de exploración diferencial (CED).

En la tabla 2.1 se presentan las temperaturas de fusión en °C obtenidos a partir de diferentes cantidades de quinfamida.

Tabla 2.1 Temperaturas de fusión de quinfamida obtenidos a través de CED.

PESO MUESTRA (mg)	TEMPERATURA DE FUSION (°C)
5.4	150.0
4.1	150.5
2.4	149.0
R = 149,8	

c. Características cristalinas.

- 1) Forma cristalina.

En la figura 2.1 se muestran los cristales acorfos de la quinfamida vistos a través del microscopio.

Fig. 2.1 Cristales acorfos de la quinfamida.



2) Tamaño de partícula.

a) Microscopio.

En la tabla 2.2 se observa el número de cristales observados en los cuatro campos su tamaño en divisiones de la escala ocular (OSD) y su equivalencia en micras. En la tabla 2.3 se determinó el porcentaje relativo de acuerdo a un intervalo en micras del tamaño de los cristales, el cual es representado en la gráfica 2.1.

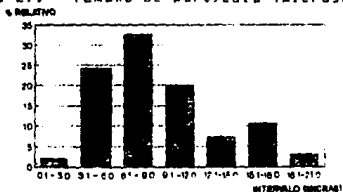
Tabla 2.2 Tamaño de partícula.

OSD	MICRAS	NO CRISTALES
1	2.22	2
2	4.44	25
3	6.66	16
4	8.88	21
5	11.10	19
6	13.32	7
7	15.54	5
8	17.76	1
9	19.98	1
TOTAL		92

Tabla 2.3 Porcentaje relativo del tamaño de partícula.

INTERVALO MICRAS	PORCENTAJE RELATIVO
0.1-2.0	2.17
2.1-5.0	24.13
5.1-10.0	10.90
10.1-15.0	20.65
15.1-20.0	17.57
20.1-30.0	1.09
30.1-100.0	1.14

Gráfica 2.1 Tamaño de partícula (microscopio).



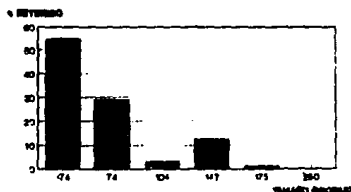
b) Tamiz.

En la tabla 2.3 se observa el porcentaje retenido en cada malla utilizada y su equivalencia en micras. En la gráfica 2.2 se aprecia esquemáticamente dicho porcentaje retenido.

Tabla 2.4 Tamaño de partícula por tamiz.

No DE MALLA	TAMARCO (MICRAS)	QUINFAMIDA (g)	PORCENTAJE RETENIDO
60	250	0.0	0.0
80	175	0.2	1.0
100	147	2.5	12.5
150	104	0.6	3.0
200	74	5.8	29.0
Base	<74	10.9	54.5

Gráfica 2.2 Tamaño de partícula (tamiz)



3) Polimorfos.

a) Forma cristalina.

En la figura 2.2 se pueden apreciar los cristales en forma de tableta de la quinifamida al haberse recrystalizado en etanol.

Fig. 2.2 Cristales en forma de tableta de la quinfaida recristalizada en etanol.



b) Calorimetría de exploración diferencial.

En la tabla 2.4 se observan las temperaturas de fusión obtenidas a partir de quinfaida recristalizada en etanol.

Tabla 2.4 Temperatura de fusión de la quinfaida recristalizada.

PESO MUESTRA (mg)	TEMPERATURA DE FUSION (°C)
4.3	152.0
3.8	151.5
3.5	152.0
	$\bar{x} = 151.8$

d. Densidad aparente: $\frac{40 \text{ g}}{80 \text{ ml}} = 0.5 \text{ g/ml}$

e. Densidad compactada: $\frac{40 \text{ g}}{64 \text{ ml}} = 0.625 \text{ g/ml}$

f. Flujo: no fluye

g. Compresibilidad: $\frac{0.625 - 0.5}{0.625} \times 100 = 20\%$

h. Grado de aglomeración: alto grado de aglomeración del polvo amorfo.

i. Grado de humectación.

En la tabla 2.5 se muestran los vehículos y el tiempo requerido por los mismos para lograr la humectación de quinfamida.

Tabla 2.5 Grados de humectación de quinfamidas (tiempo)

VEHICULO	GRADO DE HUMECTACION	TIEMPO (seg)
Agua	NINGUNA	--
Glicerina	NINGUNA	--
Propilén glicol	COMPLETA	15
Etanol	COMPLETA	2
Tween 20	MEDIANA	30
Tween 60	MEDIANA	150
Tween 80	MEDIANA	180

j. Contenido de agua.

En la tabla 2.6 se observa el porcentaje de humedad de quinfamida obtenido por el método de Karl Fischer.

Tabla 2.6 Contenido de agua en la quinfamida.

PESO MUESTRA (mg)	VOLUMEN (ml)	HUMEDAD %
152.4	0.06	0.002
149.7	0.06	0.002

Factor del reactivo: 4.23

* Ver esquema en la página 31

k. Pérdida al secado: 0.2%

l. Humedad en equilibrio.

En la tabla 2.7 se puede observar el contenido de agua de muestras de quinfamida, después que se sometieron a distintas humedades relativas durante 7 días para determinar así su higroscopicidad.

Tabla 2.7 Humedad en equilibrio de quinfamida.

DESECADOR	H. R.	PESAFILTRO	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	% HUMEDAD
1	66	A	55.8038	55.9566	55.9571	0.0005	0.22
		B	55.9980	56.1609	56.1612	0.0003	0.12
2	80	C	54.7973	54.9330	54.9335	0.0002	0.32
		D	55.6884	55.8424	55.8428	0.0004	0.26
3	90	E	57.8721	57.8719	57.8575	0.0146	1.57
		F	57.9724	58.1246	58.1268	0.0522	1.51

P₁ = peso del pesafiltro vacío (g)

P₂ = peso del pesafiltro más la muestra al inicio (g)

P₃ = peso del pesafiltro más la muestra al final (g)

P₄ = peso de la humedad (g)

Se considera no higroscópico cuando la humedad no se ve incrementada si se somete a humedades relativas menores del 90% y el incremento en la humedad después de 7 días es menor del 20%.

m. Espectroscopia en estado sólido.

Se obtuvo un espectro igual al del estándar de referencia, ver el apéndice B₂.

3. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS EN EL ESTADO SÓLIDO.

a. Solubilidad.

A continuación se detallan los valores de los pesos de las muestras (P), áreas de los picos (A) y los mg/ml disueltos para cada disolvente.

Estándar	P (mg)	A
1	50.5	637990
		635900
		635320
2	50.0	635200
		635200
		624000
\bar{x}	50.25	635682

- Agua: inyección directa.

P (mg)	A
5.0	-
	-
5.3	-
	-
5.2	-
	-

- Etanol: se determina la concentración final al hacer una segunda dilución de 2 ml en 25 ml de metanol absoluto.

P (mg)	A	ng/ml teóricos	% recuperado	ng/ml disueltos
5.0	565970	1.00	67.109	0.671
	567610		67.303	0.673
5.0	564700	1.00	66.958	0.669
	569430		67.519	0.675
5.1	583620	1.02	67.845	0.678
	581890		67.643	0.676
\bar{x}				0.676

- Metanol: se determina la concentración final al hacer una segunda dilución de 1 ml en 25 ml de metanol absoluto.

P (mg)	A	mg/ml tebricos	% recuperado	mg/ml disueltos
10.6	873020 870370	2.12	99.316 99.015	2.105 2.099
10.1	794040 790310	2.02	94.803 94.358	1.915 1.906
11.3	835570 839090	2.26	89.167 89.543	2.015 2.023
			$\bar{x} =$	2.010

Estándar	P (mg)	A
1	50.4	621720 631790
2	50.3	628690 623030
$\bar{x} =$	50.35	626307.5

- Cloroformo: se determina la concentración final al hacer una dilución de 1 ml en 100 ml y otra de 1 ml en 25 ml de metanol absoluto.

P (mg)	A	mg/ml tebricos	% recuperado	mg/ml disueltos
869.1	693820 698160	173.82	96.267 96.869	167.331 168.329
854.8	659120 662990	170.96	92.983 93.528	158.963 159.897
861.8	655800 657700	172.36	91.763 92.029	158.162 158.621
			$\bar{x} =$	161.892

En la tabla 3.1 se resumen los datos obtenidos para cada uno de los disolventes.

Tabla 3.1 Solubilidad de quinfaida

DISOLVENTE	mg/ml DISUELTOS
Agua	0.0
Etanol	0.673
Metanol	2.010
Cloroformo	161.892

4. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS EN SOLUCIÓN

a. Espectroscopia U.V.

En la tabla 4.1 se observan las longitudes de onda de máxima absorción en diferentes disolventes. Ver los espectros en el apéndice B₁.

Tabla 4.1 Espectros U.V. de la quinfaida.

DISOLVENTE	µg/ml	Máx. Abs. (nm)
Cloroformo	18	264
Etanol	18	262
Metanol	18	260

5. ESTABILIDAD

a. Calorimetría de exploración diferencial.

En la tabla 5.1 se observan las temperaturas de fusión de las muestras de quinfaida después de someterlas durante 14 días a diferentes condiciones.

Tabla 5.1 Estabilidad de la quinfamida por CEO.

CONDICION	PESO (ag)	T.F. (°C)
Inicial: T.A.	5.4	149.8
14 días:		
55°C	3.6	149.5
70°C	3.2	149.5
32°C, 80% H.R.	3.1	149.5
Luz (1500 pc)	3.7	139.2

pc = pies-candela

b. Cromatografía en capa fina.

Los R_f , determinados en muestras de quinfamida sometidas a diferentes condiciones se pueden observar en la tabla 5.2

Tabla 5.2 Estabilidad de quinfamida por CCF.

MUESTRA	R_{f1}	R_{f2}	R_{f3}	R_{f4}
Estándar	0.533	0.426	0.280	---
T.A.	0.533	0.426	0.280	---
55°C	0.533	0.426	0.280	---
70°C	0.546	0.413	0.246	---
32°C, 80% H.R.	0.533	0.413	0.166	---
Luz (1500 pc)	0.443	0.296	0.233	0.160
pH 2	0.526	0.426	0.260	---
pH 6	0.520	0.426	0.246	---
pH 10	0.445	0.420	0.166	---
H ₂ O ₂	0.443	0.420	0.233	0.166

Como se puede observar, los factores que actúan a la quinfamida son: luz, pH alcalino y la oxidación.

6. COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES.

a. Calorimetría de exploración diferencial.

En la tabla 6.1 se presentan las temperaturas de fusión de la quinfamida y los excipientes propuestos. En la tabla 6.2 se observan las temperaturas de fusión de las mezclas hechas con quinfamida y cada uno de los excipientes, así como la mezcla de todos ellos (placebo) y con quinfamida (tableta).

Tabla 6.1 Temperaturas de fusión de quinfamida y excipientes.

MUESTRA	T.F. (°C)
Quinfamida	149.8
Lactosa hidratada	150.0
Polivinilpirrolidona	---
Crospovidona XL	---
Estearato de magnesio	118.5 - 127.5
Avicel PH 102	---
Almidón de maíz	---
Estearato de sodio	143.0 - 145.0
Aerosil	---

Tabla 6.2 Temperaturas de fusión de mezclas con quinfamida.

M E Z C L A	Q./EXCIPIENTE %	TEMPERATURA FUSION (°C)
Q. - Lactosa hidratada	69.0 - 31.0	151.5
Q. - Polivinilpirrolidona	97.0 - 3.0	151.0
Q. - Crospovidona XL	98.5 - 1.5	151.0
Q. - Estearato de magnesio	99.2 - 0.8	151.5
Q. - Avicel PH 102	76.8 - 23.1	153.0
Q. - Almidón de maíz	76.8 - 23.1	152.0
Q. - Estearato de sodio	98.5 - 1.5	151.0
Q. - Aerosil	98.5 - 1.5	151.0
Placebo	---	151.0
Tableta	---	151.0

B. Validación del método analítico

por CLAR

1. ESPECIFICIDAD

En la tabla 1.1 se detallan los resultados obtenidos después de someter las muestras a diferentes condiciones.

Tabla 1.1 Especificidad del método analítico por CLAR para quinfanida

MUESTRA	AREA	P (µg)	% REC.
Quinfanida:			
(1) T.A.	7141.80	24.50	70.075
(1) H.R.	10894.20	25.46	102.015
(1) 55°C	10512.80	25.09	100.720
(1) 70°C	10642.00	25.10	101.920
(3) Luz (1500 pc)	9584.37	24.93	91.592
(4) Luz / metanol	9714.07	12.61	98.405
(4) H ₂ O ₂	341.42	12.68	3.439
(5) pH 2	10474.80	50.15	101.160
(5) pH 6	8432.70	50.24	81.212
(5) pH 10	7487.25	49.99	72.539
(6) pH 2 / 24 hrs.	10593.30	50.15	105.980
(6) pH 6 / 24 hrs.	10050.60	50.29	100.271
(6) pH 10 / 24 hrs.	7094.40	49.99	71.203
Placebo:			
(1) T.A.	--	37.50	--
(1) H.R.	--	37.62	--
(1) 55°C	--	37.79	--
(1) 70°C	--	37.42	--
(3) Luz (1500 pc)	--	37.43	--
Tableta:			
(2) T.A.	10595.90	37.63	100.470
(2) H.R.	10627.00	37.50	101.111
(2) 55°C	10718.70	37.59	101.736
(2) 70°C	10646.60	37.61	101.051
(3) Luz (1500 pc)	10365.90	37.54	98.661
Referencia:			
1	10457.80	25.14	--
2	10589.00	25.14	--
3	10493.50	25.00	--
4	9785.58	12.50	--
5	1079.40	50.20	--
6	1001.40	50.20	--

En la tabla 1.2 se resumen los resultados anteriores.

Tabla 1.2 Condiciones y resultados para la especificidad del método analítico para quinfaida.

MUESTRA	70°C	LUZ	H.R.	pH 2	pH 6	pH 10	H ₂ O ₂	RESULTADO
P. a.	X	X	X	X	X	X	X	NO HAY
Placebo	X	X	X	-	-	-	-	INTERFE-
Tableta	X	X	X	-	-	-	-	CIAS

2. LINEARIDAD

Se detallan a continuación, en la tabla 2.1 los resultados en $\mu\text{g/ml}$ recuperados.

Tabla 2.1 Linealidad del método analítico por CLAR.

NIVEL (%)	% AREA QUINFAMIDA	% AREA PROPILP.	$\mu\text{g/ml}$ ADICIONADO	$\mu\text{g/ml}$ RECUPERADO	% RECUPERADO
50	36.09	63.90	0.03008	0.0300156	99.786
	35.93	64.06	0.03008	0.0298079	99.095
75	45.82	54.17	0.04512	0.0449529	99.630
	45.84	54.15	0.04512	0.0449892	99.710
100	53.15	46.84	0.06016	0.0603043	100.240
	53.20	46.79	0.06016	0.0604255	100.441
125	58.46	41.53	0.07520	0.0748099	99.481
	59.02	40.97	0.07520	0.0765588	101.807
150	62.89	37.10	0.09024	0.0900886	99.832
	62.93	37.06	0.09024	0.0902432	100.003

$$FR = 0.7225503$$

$$\bar{X} = 100.002$$

$$S = 0.7379$$

$$CV = 0.7379\%$$

$$\sum X = 0.6016$$

$$\sum Y = 0.6021959$$

$$\sum X^2 = 0.0407162$$

$$\sum Y^2 = 0.0408396$$

$$\bar{X} = 0.06016$$

$$\bar{Y} = 0.0602195$$

$$S_x = 0.0224203$$

$$S_y = 0.0225478$$

$$S_x^2 = 5.0267 \times 10^{-4}$$

$$S_y^2 = 5.08406 \times 10^{-4}$$

$$(\sum X)^2 = 0.3619225$$

$$(\sum Y)^2 = 0.3626399$$

$$\sum XY = 0.0407768$$

$$n = 10$$

Coefficiente de correlación:

$$r = \frac{10(0.0407768) - 0.6016(0.6021959)}{\sqrt{[10(0.0407162) - 0.3619225][10(0.0408396) - 0.3626399]}}$$

$$r = 0.999779$$

Ordenada al origen:

$$A = \frac{0.6021959(0.0407162) - 0.6016(0.0407768)}{10(0.0407162) - 0.3619225}$$

$$A = -2.6954 \times 10^{-4}$$

Inferencia acerca de A_0 :

H_0 = hipótesis de nulidad $A_0 = 0$

H_1 = hipótesis alternativa $A_0 \neq 0$

$$(X_i - \bar{X})^2$$

$$9.04806 \times 10^{-4}$$

$$9.04806 \times 10^{-4}$$

$$2.26201 \times 10^{-4}$$

$$2.26201 \times 10^{-4}$$

$$0.0$$

$$0.0$$

$$2.26201 \times 10^{-4}$$

$$2.26201 \times 10^{-4}$$

$$9.04806 \times 10^{-4}$$

$$9.04806 \times 10^{-4}$$

$$\Sigma = 4.52402 \times 10^{-3}$$

$$t_{cal} = \frac{-2.6954 \times 10^{-4} - 0}{\sqrt{\frac{0.0407162}{10(4.52402 \times 10^{-3})}}} = -0.5532309$$

$$\alpha = 0.1$$

$$g.l. = 10 - 2 = 8$$

$$t_{tab} = t_{1-\frac{\alpha}{2}} = t_{.95} = 1.8595$$

Área de aceptación: -1.8595 -0.5532309 1.8595

Pendientes:

$$B = \frac{10(0.0407768) - 0.6016(0.6021959)}{10(0.0407162) - 0.3619225} = 1.0054697$$

Inferencia acerca de B_0 :

H_0 : $B_0 = 1$

H_1 : $B_0 \neq 1$

Error típico de estimación

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{0.0408396 - (-2.6954 \times 10^{-4})(0.6021959) - 1.0054697(0.0407768)}{10}}$$

$$S_{y/x} = 4.59347 \times 10^{-4}$$

Error típico de estimación modificado

$$\hat{S}_{y/x} = \sqrt{\frac{10}{10-2}} (4.59347 \times 10^{-4}) = 5.13565 \times 10^{-4}$$

$$t_{col} = \frac{(1.0054697 - 1) 0.0224203 \sqrt{10-1}}{5.13565 \times 10^{-4}} = 0.716359$$

$$\alpha = 0.1$$

$$g.l. = 10 - 2 = 8$$

$$t_{tab} = t_{1-\frac{\alpha}{2}} = t_{0.05} = 1.8595$$

$$\text{Área de aceptación: } -1.8595 < 0.716359 < 1.8595$$

Recta de validación:

$$\hat{y} = 1.0054697 x + (-2.6954 \times 10^{-4})$$

$$\overline{Y_i - \hat{Y}}$$

8.99717	$\times 10^4$
8.93491	$\times 10^4$
-1.44350	$\times 10^4$
-1.08050	$\times 10^4$
8.47828	$\times 10^3$
2.05982	$\times 10^4$
-5.31880	$\times 10^4$
1.21701	$\times 10^3$
-3.75440	$\times 10^4$
-2.20840	$\times 10^4$

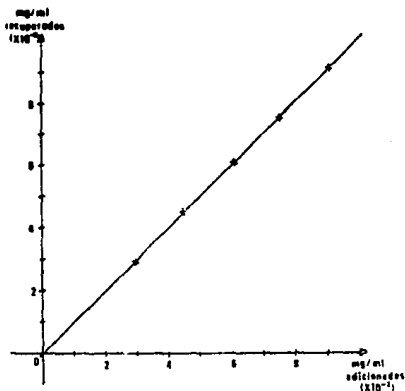
$$\Sigma = 1.92042 \times 10^3$$

Error experimental: $E_{(i)} = 1.92042 \times 10^3$

Recta: $Y = 1.0055(X) - 2.6954 \times 10^4 + E_{(i)}$

En la siguiente gráfica 2.1 se presenta la linealidad del método analítico.

Gráfica 2.1 Linealidad del método analítico por CLAR para quinfamida.



3. PRECISION

a. Repetibilidad.

En la tabla 3.1 se presentan los recobros en porciento y el nivel de concentración correspondiente.

NIVEL (3)	% AREA QUINIFAMIDA	% AREA PROPILO.	FACTOR RESPUESTA	Ref.	% RECUPERADO
80	47.170	52.800	0.7058354	P_{pp}	101.400
80	46.900	53.090		166.34	100.226
80	47.070	52.900		P_q	100.993
80	46.980	53.010		200.25	100.548
80	47.140	52.850			101.196
80	46.830	53.160			99.945
100	52.080	47.910	0.6800482	P_{pp}	101.314
100	51.980	48.010		154.50	100.909
100	52.130	47.870		P_q	101.496
100	52.170	47.820		251.65	101.680
100	52.155	47.844			101.600
100	52.256	47.743			102.012
120	57.010	42.980	0.6982478	P_{pp}	101.520
120	56.830	43.160		166.34	100.778
120	57.000	42.990		P_q	101.479
120	56.900	43.090		300.03	101.066
120	57.040	42.950			101.644
120	56.930	43.060			101.189

$\bar{X} = 101.16634$
 $S = 0.5324698$
 $CV = 0.52633072$
 $S = 0.2835241$
 $n = 18$

Inferencias acerca de σ^2 :

$H_0: \sigma^2 \leq 1.0$
 $H_1: \sigma^2 > 1.0$

$$\chi^2_{cal} = \frac{(18-1) 0.2835241}{1.0} = 4.8199097$$

$$\alpha = 0.1$$

$$g.l. = 18 - 1 = 17$$

$$\chi^2_{tab} = \chi^2_{1-\alpha} = \chi^2_{0.95} = 27.587$$

Area de aceptación: $4.8199097 < 27.587$

Por tanto, el método es preciso

b. Reproducibilidad.

En la tabla 3.2 se presentan los recobros obtenidos en los dos días y en la tabla 3.3 la matriz de totales.

Tabla 3.2 Porcientos de recobro de la reproducibilidad.

ANALISTA	DIA	
	1	2
A	98.529	98.538
	98.676	98.579
	99.021	98.636
B	98.604	98.020
	98.681	98.651
	98.447	98.338

Tabla 3.3 Totales de la reproducibilidad

ANALISTA	DIA		Y. j.
	1	2	
A	296.226	295.753	591.979
B	295.732	295.009	590.741
Yi..	591.958	590.762	1182.720

$$\frac{\sum Y_i^2}{bc} = \frac{(591.979)^2 + (590.741)^2}{2(3)} = 116569.01$$

$$\frac{\sum Y_{i..}^2}{abc} = \frac{(1182.72)^2}{2(2)(3)} = 116568.88$$

$$\frac{\sum y_{.j}^2}{ac} = \frac{(591.958)^2 + (590.762)^2}{2(3)} = 116569.0$$

$$\frac{\sum y_{ij}^2}{c} = \frac{(296.226)^2 + (295.732)^2 + (295.753)^2 + (295.009)^2}{3} = 116569.14$$

$$\begin{aligned} \sum y_{ijk}^2 &= (98.529)^2 + (98.676)^2 + (99.021)^2 + (98.604)^2 + \\ &+ (98.681)^2 + (98.447)^2 + (98.538)^2 + (98.579)^2 + \\ &+ (98.636)^2 + (98.020)^2 + (98.651)^2 + (98.338)^2 \\ &= 116569.5 \end{aligned}$$

A continuación se presenta la tabla de ANADEVAs para la reproducibilidad.

Tabla 3.4 ANADEVAs

FUENTE DE VARIACION	g.l.	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F _{cal}	F _{tab}
Ai	1	0.13	0.13	13	39.86
Dj	1	0.12	0.12	12	39.86
ADij	1	0.01	0.01	0.222	3.46
Ek(ij)	B	0.36	0.045	---	---

* Ver las fórmulas de la tabla ANADEVAs en la página 20.

a = i = núm. de analistas

b = j = núm. de días

c = k = núm. de repeticiones por analisis

$$\alpha = 0.1$$

$$F_{\text{obs}} = F_{40,1,1} = 39.86$$

$$F_{40,1,8} = 3.46$$

Area de aceptación:

$$\text{para } A_i : \quad 13 < 39.86$$

$$\text{para } D_j : \quad 12 < 39.86$$

$$\text{para } AD_{ij} : \quad 0.222 < 3.46$$

Puesto que las tres se cumplen, no hay efecto de cada una de las fuentes de variación sobre los recobros y por lo tanto el método es reproducible.

1) Estabilidad de la muestra.

En la tabla 3.5 se muestran los recobros iniciales (I) y a las 24 hrs. (D), así como el factor D/I.

Tabla 3.5 Estabilidad de la muestra.

I	D	D/I
98.529	99.614	1.011
98.676	99.239	1.006
99.021	99.504	1.005
98.604	99.184	1.006
98.681	99.751	1.011
98.447	100.007	1.017
$\bar{I} =$		1.009

Como se puede observar, el valor del factor D/I indica que las muestras son estables dentro de un lapso de 24 hrs. después de su preparación.

4. EXACTITUD

La exactitud fue determinada de acuerdo con los recobros indicados en la tabla 3. de la precisión

Inferencias acerca de μ_0 :

H_0 : $\mu_0 = 100\%$

H_1 : $\mu_0 \neq 100\%$

$$t_{\text{cal}} = \frac{101.16639 - 100}{0.2835241 \sqrt{18}} = 0.9696557$$

$\alpha = 0.1$

$g.l. = 18 - 1 = 17$

$t_{1-\frac{\alpha}{2}} = t_{0.95} = 1.7396$

Area de aceptación: $-1.7396 < 0.9696557 < 1.7396$

Por tanto, el método es exacto.

5. TOLERANCIA

En la tabla 5.1 se detallan los resultados de la tolerancia del sistema.

Tabla 5.1 Tolerancia del sistema para el método analítico por CLAR para quinfamida

Fase móvil	A_{pp}	$T_{r,pp}$	A_q	$T_{r,q}$	FR	\overline{FR}
1	4.6	3.95	6.1	5.15	2.243	2.44
	3.8	3.95	5.3	5.15	2.637	
2	5.5	5.30	8.5	8.04	3.914	3.96
	5.3	5.28	8.3	8.01	4.015	
3	3.3	3.24	3.8	3.86	1.734	1.70
	3.3	3.25	4.2	3.87	1.642	

T_r = tiempo de retención de quinfamida (min)
 $T_{r,pp}$ = tiempo de retención del propilparabeno (min)
 A_q = longitud de la base del pico de la quinfamida (mm)
 A_{pp} = longitud de la base del pico del propilparabeno (mm)
 FR = factor de resolución

Factor resolution St1 ' Q :

+ 5%	= 1.70
normal	= 2.44
- 5%	= 3.96

VII. DISCUSION

Por los resultados obtenidos en los estudios de preformulación se observa que la quinfamida es un polvo amorfo con un alto grado de aglomeración, carece de fluidez por lo que para la forma farmacéutica de tabletas será necesario incluir lubricantes que mejoren sus características reológicas. Puesto que es insoluble en agua y por la aglomeración que presenta es muy posible que se encuentren problemas de desintegración y disolución.

La quinfamida se ve afectada por la luz, el pH alcalino (en soluciones metanólicas) y la oxidación, esto se observa a partir de las pruebas de cromatografía en capa fina y en las de especificidad para el método analítico por CLAR.

En las pruebas de humectación, se determinó que el propilenglicol, etanol y tween 20 la humectan en poco tiempo y si se considera una forma farmacéutica de suspensión, éstos vehículos deberán de tomarse en cuenta para las pruebas de compatibilidad.

En general estas pruebas con los excipientes muestran que no hay incompatibilidades.

Por otro lado, en la validación del método analítico por CLAR, se determinó que es específico, ya que no existen interferencias del placebo y de los posibles productos de degradación de la quinfamida (no se detectó ninguno). Los resultados también indican que el método es lineal, con un coeficiente de correlación cercano a 1 y el coeficiente de variación es del 0.7% que es bastante inferior al 2% considerado como límite común para métodos cromatográficos.

La precisión y exactitud se determinaron a partir de un mismo ensayo por cuestiones prácticas y por el alto costo del principio activo, obteniéndose un coeficiente de variación del 0.526%. Es reproducible puesto que el análisis de varianza efectuado indica que no existe efecto significativo causado por el analista, el día o la interacción de ambos factores.

Las muestras son estables, por lo menos en un lapso de 24 hrs. de su preparación, ya que el cociente de los recobros analizados a las 24 hrs. entre los recobros iniciales fue de 1.009

En la tolerancia del sistema, sólo se varió el gradiente de concentración de la fase móvil, (4-5% de aumento en la concentración de metanol comparado con 0% de aumento de concentración de metanol), habiendo una diferencia significativa entre el primero y el último.

VIII. CONCLUSIONES

- * De acuerdo al tamaño de partícula encontrado, se concluye que la quinfaida es micronizada.
- * Presenta poca solubilidad, excepto en cloroformo.
- * Los cristales de la quinfaida son amorfos, los cuales son posibles de modificar mediante una recristalización, obteniéndose así cristales más grandes.
- * La quinfaida fue compatible con los excipientes probados.
- * La técnica de calorimetría de exploración diferencial (CED) es útil en la detección de polimorfos e impurezas del principio activo, así como en los estudios de interacción fármaco-excipiente, aunque se tiene que complementar con otras técnicas como las cromatográficas.
- * Presenta inestabilidad a pH alcalino (medios alcohólicos) y a la luz.
- * No es higroscópica.
- * El tipo y profundidad de los estudios de preformulación dependen de la naturaleza del fármaco, su vía de administración, farmacología, toxicidad, y su forma farmacéutica.
- * El método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) fue validado, al determinarse los parámetros: especificidad, linealidad, precisión, exactitud, reproducibilidad, estabilidad de la muestra y tolerancia del sistema, para quinfaida en una formulación para tabletas. De esta manera el método analítico estudiado resulta adecuado para analizar la formulación de tabletas para estudios de estabilidad y control de calidad.
- * El método se ve afectado por la concentración de etanol en la fase móvil según se demostró en el estudio de tolerancia. Por tanto, debe tenerse especial cuidado en este sentido.

II. CONCLUSIONES

Se propone realizar pruebas para determinar algunas propiedades como pka, coeficiente de partición, etc., para tener una monografía más completa de las características y propiedades fisicoquímicas de la quinfamida que pueden llegar a afectar los sistemas y métodos analíticos así como realizar consideraciones importantes durante la etapa de creación de cualquier forma farmacéutica con este activo.

BIBLIOGRAFIA

1. Aiache J. M., **Biofarmacia**, El Manual Moderno, México, 1985.
2. Ancel H. C., **Introduction to Pharmaceutical Dosage Form**, 4a. ed., Lea & Febiger, USA, 1985.
3. Banker G. S., **Modern Pharmaceutics**, vol. 7, Marcel Dekkers Inc., USA, 1979.
4. Bowman M. C., **Farmacología**, 2a. ed., Interamericana, México, 1985.
5. Callahan J. C., et. al., **Equilibrium moisture content of pharmaceutical excipients**. *Drug Devel. and Ind. Pharm.* vol. 8, núm. 3, 1982. pag. 355-369
6. Clarke E. G. C., **Isolation and identification of Drugs**, The Pharmaceutical Press, G.B., 1975.
7. Connors K. A., **A Textbook of Pharmaceutical Analysis**, John Wiley & Sons, USA, 1967.
8. Fernandes P. et. al., **Estudo clinico comparativo de um novo amebicida, quinifasida, e de metronidazol no tratamento da amebiase intestinal**, *Farmacologia Clínica*, vol. 22, núm. 1 y 2, 1986. pag. 213-218
9. Fontani F., **Criteri di Convalida dei Metodi d'Analisi**. *Boll. Chim. Farm.*, vol. 126, núm. 2, 1987. pag. 56-74
10. Gilbert N. D., **Estadística**. Interamericana, Mexico, 1980.
11. Guerra J., Finkelson M. J., **Validation of Analytical Methods by FDA laboratories**. *Pharm. Techn.* vol. 26, núm. 40, 1986. pag. 74-84
12. Guevara L., et. al. **Evaluación de la tolerancia y eficacia en humanos de Quinifasida un nuevo Amebicida Intra-luminal**. *Rev. Gastroent. Méx.*, vol. 45, núm. 2, 1980. pag. 92-97

13. Guevara L., García T. B., Uscanga L. F., **A study with Quinifamide in the treatment of chronic anemias in adults.** *Clinical Ther.*, vol. 6, núm. 1, 1983. pag. 1-IV
14. Haky J. E., Dononkos E. A., **Automated Data Processing for Chromatographic Assay Method Validations.** *J. Chrom. Sci.*, vol. 23, núm. 8, 1985. pag. 364-369
15. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**, American Pharmaceutical Ass., USA, 1986. pag. 362-366
16. Ho R., Bagster D. F., Crooks M. J., **Flow studies on directly compressible tablets vehicles.** *Drug Devel. & Ind. Pharm.*, vol. 3, núm. 5, 1977. pag. 475-487
17. Huerta F. P. C., **Desarrollo Analítico para Cuantificar Sulfato de Salbutamol en tabletas por Intercambio Iónico.** Tesis, UNAM, ENEP Zaragoza, México, 1984.
18. Kirkland J. J., et. al., **Modern Practice of Liquid Chromatography**, Wiley-Interscience, USA, 1976.
19. Lachman L., **The Theory and Practice of Industrial Pharmacy**, 2a. ed., Lea & Gebiger. USA, 1976.
20. Majors R. E., **Glossary of Liquid Chromatography Column Terms.** *LC-6C*, vol. 6, núm. 2, 1988. pag. 94-110
21. Martin A. N., **Physical Pharmacy.** Lea & Febiger, USA, 1978
22. Massart D. L., Dijkstra A., **Evaluation and Optimization of Laboratory Methods and Analytical Procedures.** Elsevier Scientific Pub., USA, 1978.
23. Michaelis A.F., Cornish D. W., Vivelechia R., **High Pressure Liquid Chromatography Review.** *J. Pharm. Sci.*, vol. 62, núm. 9, 1973. pag. 1399-1416
24. O'Melia P. E., et. al., **The disposition of quinifamide in the rat.** *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, vol. 1, núm. 258, 1982. pag. 29-38
25. **Pharmaceutical Handbook.** 8a. ed., The Pharmaceutical Press. ..B., 1970.
26. Remington R. O., **Estadística Bioétrica y Sanitaria.** Prentice Hall International, España, 1974.

27. Rentería M. E. S., Comparación estadística de Dos Métodos Analíticos para la separación de Iodoclorhidroxiquinoleína en un Polifármaco de uso tópico. Tesis, UNAM, ENEP Zaragoza, México, 1985.
28. Rojas F. A., et. al., Treatment of a chronic anemia in pediatric patients with a suspension of quinifanide. *Clin. Ther.*, vol. 6, núm. 1, 1983. pag 47-51
29. Rosán F. B., López M. G., Garzón A., Estudio comparativo de excipientes para fabricación de tabletas por compresión directa. *Rev. Mex. de Ciencias Farm.*, vol. 11, núm. 2, 1983. pag. 21-27
30. Tingstad J., Dudzinski J., Lachman L., *Preformulation Studies II: Stability of Drug Substances in Solid Pharmaceutical Systems.* *J. Pharm. Sci.*, vol. 62, núm. 9, 1973 pag. 1361-1365
31. *The Merck Index*, 9a. ed., Merck & Co., USA, 1976.
32. *USP XII y NF XVI*, USA, 1988.
33. Vanderwielen A. J., Hardwige E. A., *Guidelines for Assay Validation.* *Pharm. Techn.*, vol. 6, núm. 3, 1982. pag. 66-76
34. Vidal M. A., Estudio de la Interacción Fármaco-Excipiente por Calorimetría de Exploración Diferencial (DSC) en tabletas de Diclohidrato de Etambutol. Tesis, UNAM, ENEP Zaragoza, México, 1982.
35. Yost R. W., *Introducción a la Cromatografía Líquida Práctica.* Perkin-Elmer, USA, 1980.

APÉNDICE 8

FORMULARIO

1. Pendiente: $B = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$

2. Ordenada al origen: $A = \frac{(\sum Y)(\sum X^2) - (\sum X)(\sum XY)}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$

3. t de Student calculada para A: $t_A = \frac{A - A_0}{S_{Wz} \sqrt{\frac{\sum X^2}{n \sum (X_i - \bar{X})^2}}}$

4. Error típico de estimación: $S_{Wz} = \sqrt{\frac{\sum Y^2 - A(\sum Y) - B(\sum XY)}{n}}$

5. Error típico de estimación modificado: $\hat{S}_{Wz} = \sqrt{\frac{n}{n-2}} S_{Wz}$

6. t de Student calculada para B: $t_B = \frac{(B - B_0) S_z \sqrt{n-1}}{S_{Wz}}$

7. $\hat{Y} = BX + A$

8. Error experimental: $E_i = \sum (Y_i - \hat{Y})$

9. Recta de validación: $Y = BX + A + E_i$

10. Coeficiente de correlación: $r = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[n \sum X^2 - (\sum X)^2] [n \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$

11. Coeficiente de variación: $CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$

12. Xi calculada para precisión: $i_1^2 = \frac{(n-1) S^2}{\sigma^2 n}$

13. Area de aceptación para X_i : $X_i \leq X_{1-\frac{\alpha}{2}, n-1}$

14. Area de aceptación para F : $F \leq F_{1-\alpha, g_1, g_2}$

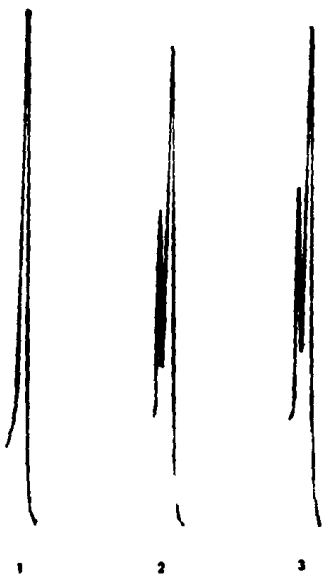
15. t de Student calculada para exactitud: $t = \frac{\mu - \mu_0}{s / \sqrt{n}}$

16. Area de aceptación para t : $t_{\frac{\alpha}{2}, n-1} < t < t_{1-\frac{\alpha}{2}, n-1}$

APENDICE B

MISCELANEAS

1. ESPECTROS U.V.

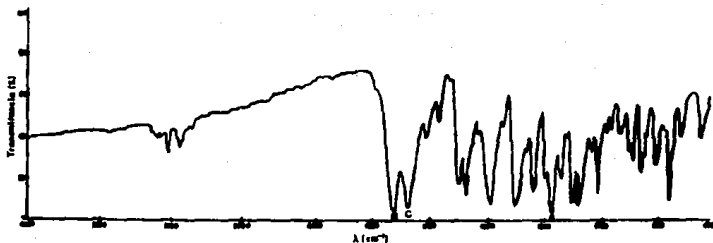


Cloro-oroac

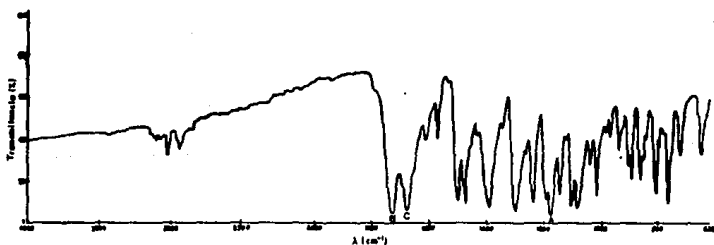
Etano

Metano

2. ESPECTROS I.R.



Muestra: Quinifamida estándar
 Concentración: 1.5% (3.1 mg)
 Disolvente: Tableta KBr (204.6 mg)
 Referencia: aire



Muestra: Quinifamida
 Concentración: 1.5% (3.2 mg)
 Disolvente: Tableta KBr (204.5 mg)
 Referencia: aire

ESTA TESIS NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

ANEXICO C**TERMORAMAS**

Los termogramas se realizaron bajo las siguientes condiciones operacionales:

Unidad de control: pendiente - 590
intervalo - 32
vel. explo. 20

Analizador: promedio - 320
diferencial - 55v

Registrador: polaridad (-)
intervalo - 20
vel. papel - 20

Rango de temperatura: 50°C - 180°C

Temperatura de fusión
de quinfaida.

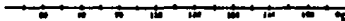
a) 150°C



b) 150.5°C



c) 149°C



POLIMORFOS

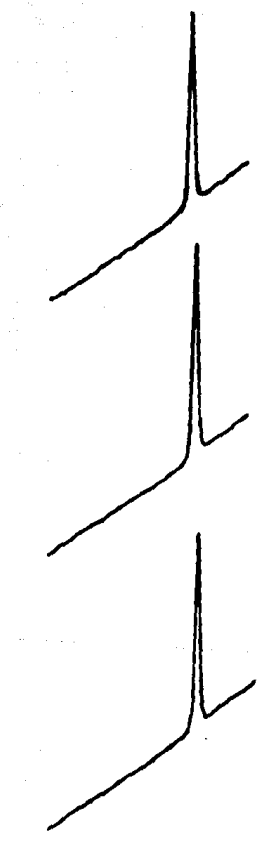
Temperatura de fusión
de quinfaida recris-
talizada en etanol.

a) 152°C

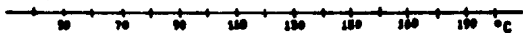
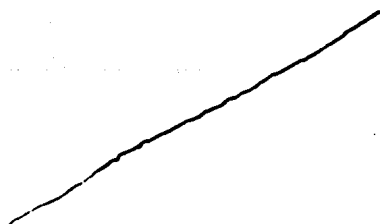
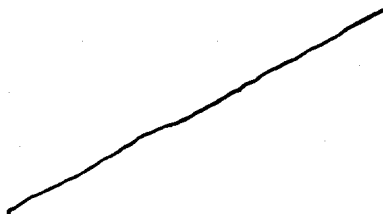
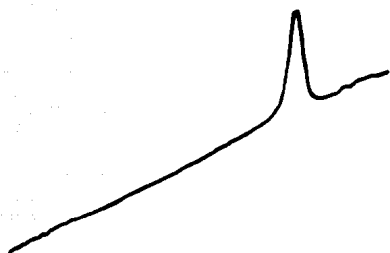
b) 151.5°C

c) 152°C

10 20 30 40 50 60 70 80 90 100°C

The figure displays three vertically stacked DSC thermograms for quinfaida polymorphs. Each curve shows a baseline that slopes upward as temperature increases, with a sharp endothermic peak. The x-axis at the bottom is labeled with temperatures from 10 to 100°C in increments of 10. The top curve (a) has a peak at 152°C. The middle curve (b) has a peak at 151.5°C. The bottom curve (c) has a peak at 152°C.

COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES

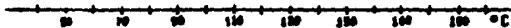


COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES

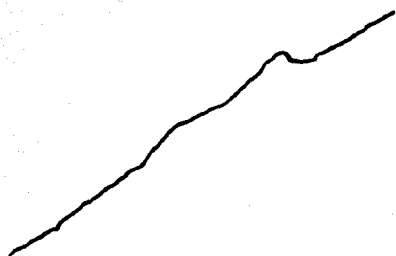
Estearato de magnesio
119.5 - 127.5°C

Avicel PH 102.
--

Almidón de maíz.
--

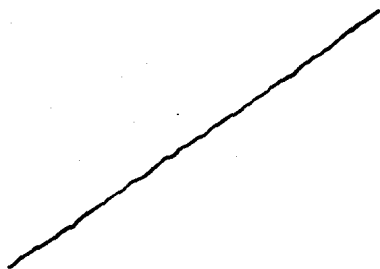


COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES



Estearato de sodio.

143.0 - 145.0°C

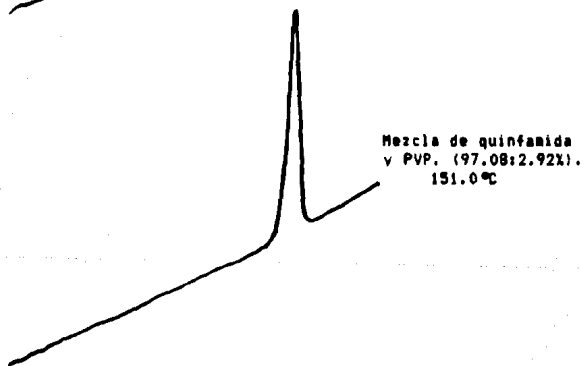
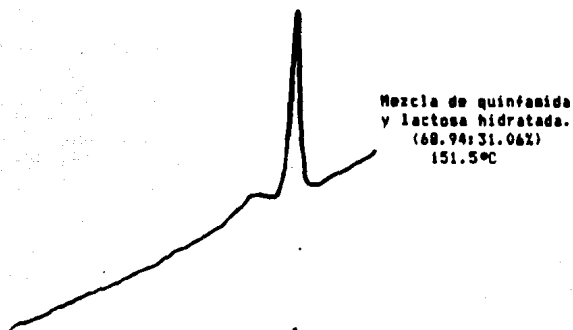


Aerosil.

--

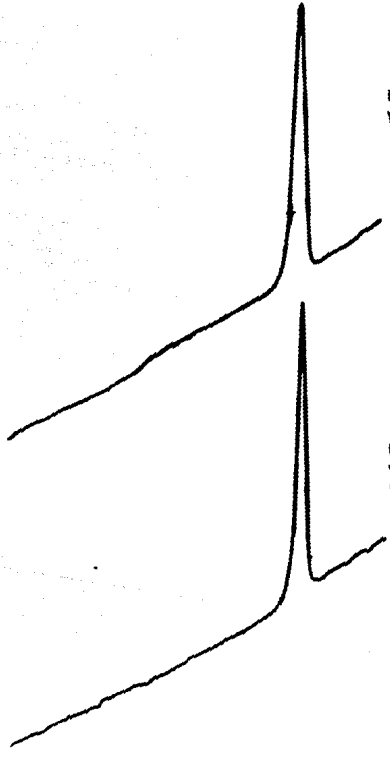


COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES



90 70 60 110 120 130 140 150 160 170 °C

COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES

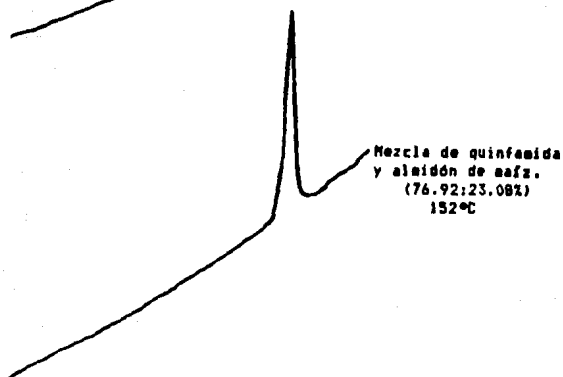
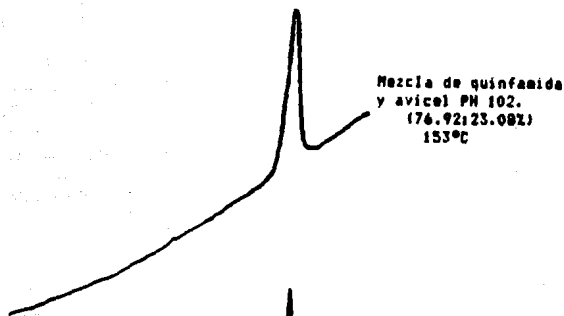


Mezcla de quinfamida
y crospovidona XL.
(98.33:1.67%)
151.0°C

Mezcla de quinfamida
y estearato de magnesio.
(99.25:0.75%)
151.5°C

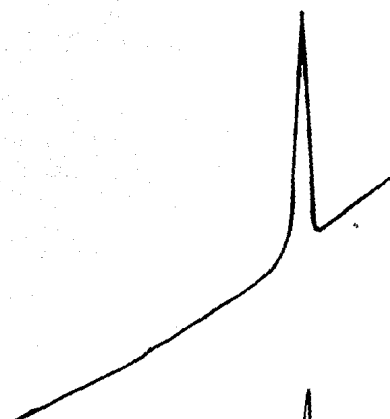
60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 °C

COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES

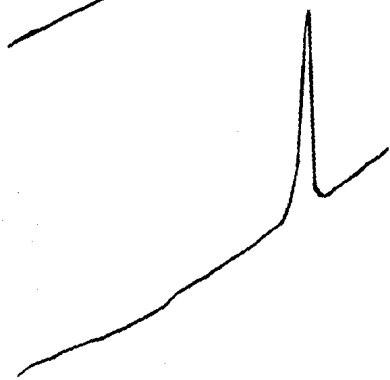


50 70 90 110 130 150 170 190 °C

COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES



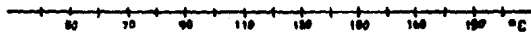
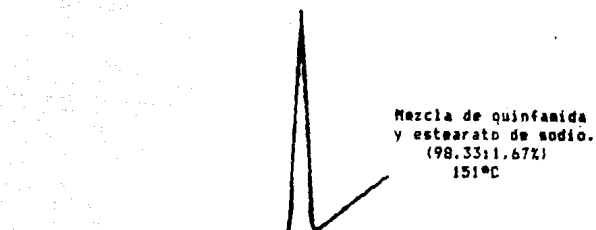
Mezcla de quinifamida
y estearato de sodio.
(98.33:1.67%)
151°C



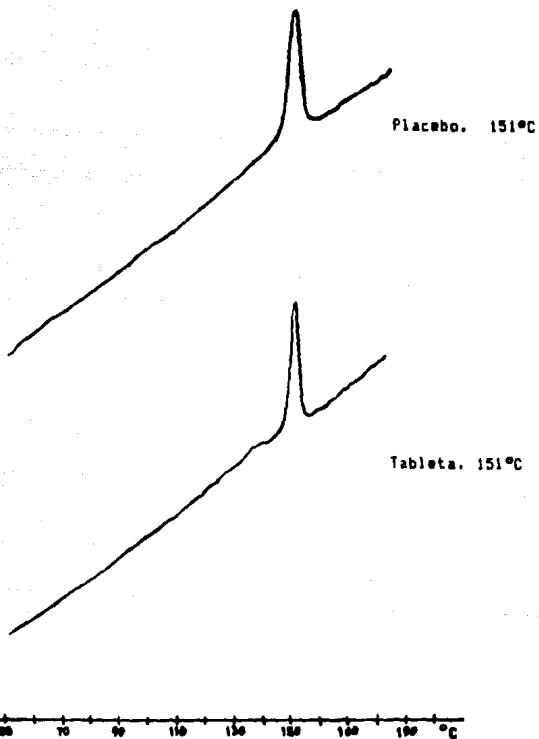
Mezcla de quinifamida
y aerosil.
(98.52:1.48%)
151°C

80 70 60 50 40 30 20 10 0 100 110 120 130 140 150 160 170 °C

COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES



COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES

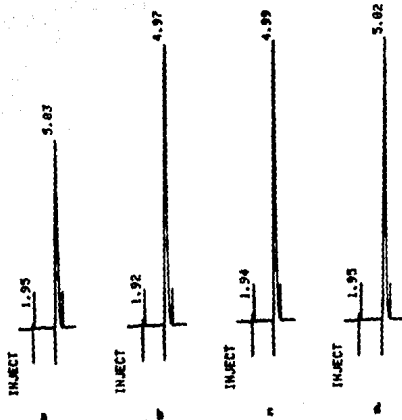


APENDICE D**CRONATOGRAFAS**

Los cromatogramas de especificidad, linealidad, precisión y exactitud, reproducibilidad y estabilidad de la muestra se realizaron con las siguientes condiciones operacionales:

Columna	microBondapak C ₁₈ # 13
vol. de inyección	20 µl
vel. flujo	2.0 ml/min
presión	500 psi
long. de onda	254 nm
atenuación	0.2 AUFS
vel. carta	0.25 cm/min
disolvente	metanol abs.
fase móvil	MeOH:H ₂ O
gradiente	60:40

1. ESPECIFICIDAD

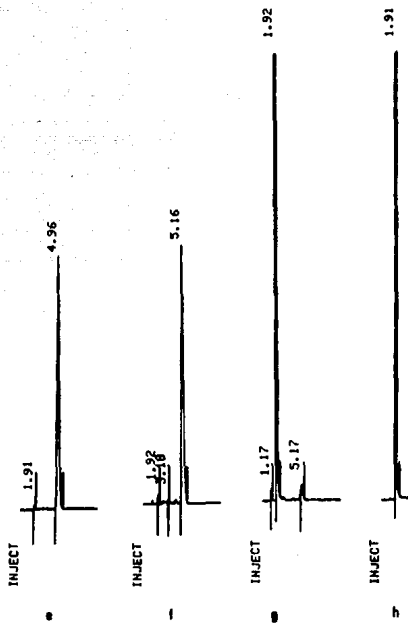


-Quinfamidat

a) T. A.
b) H. R.

c) 55°C
d) 70°C

ESPECIFICIDAD



-Quinfanida:

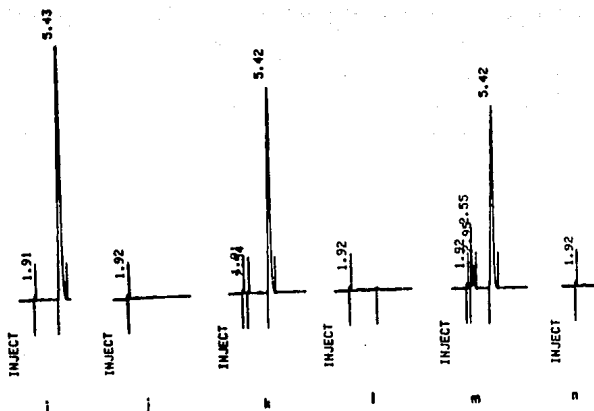
e) Luz (1500 dc)

f) Luz / MeOH

g) H_2O_2

h) BCO. H_2O_2

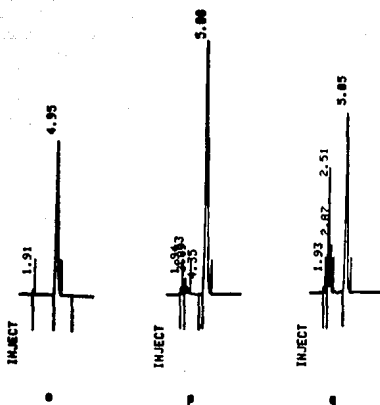
ESPECIFICIDAD



-Quinifamida:

- | | |
|--------------|---------------|
| j) pH 2 | l) pH 6 Bco. |
| j) pH 2 Bco. | m) pH 10 |
| k) pH 6 | n) pH 10 Bco. |

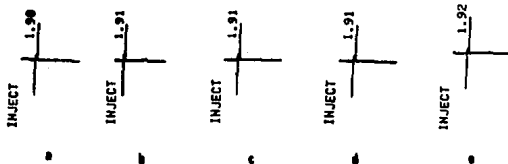
ESPECIFICIDAD



-Quirfamidá:

- o) pH 2 24 hrs.
- p) pH 6 24 hrs.
- q) pH 10 24 hrs.

ESPECIFICIDAD

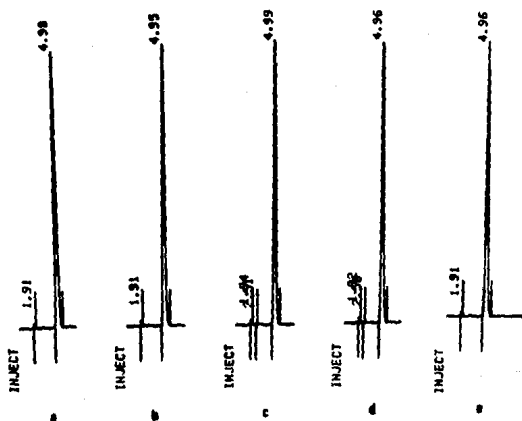


-Placebo:

a) T.A.
b) H.R.
c) 55°C

d) 70°C
e) Luz (1500 pc)

ESPECIFICIDAD

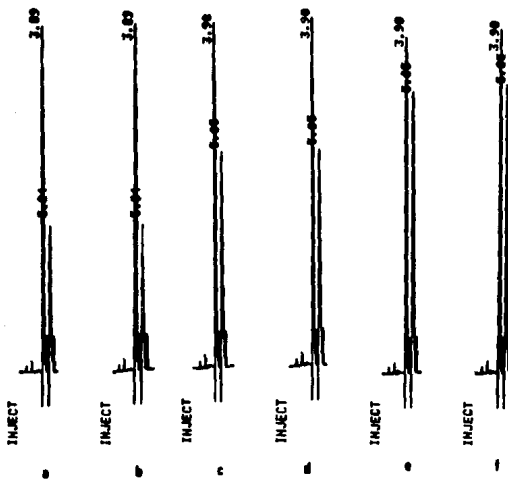


-Tableta:

a) T.A.
 b) H.R.
 c) 55°C

d) 70°C
 e) Luz 1500 pc)

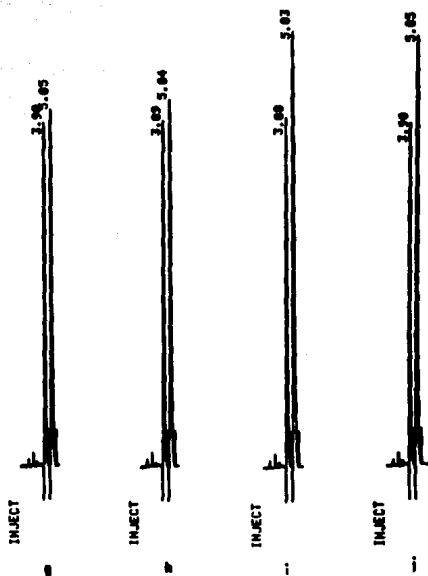
2. LINEARIDAD.



a) 50%
b) 50%
c) 75%

d) 75%
e) 100%
f) 100%

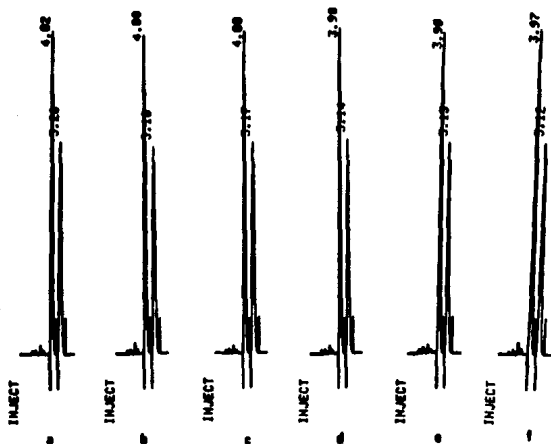
LINEARIDAD



g) 125%
h) 125%

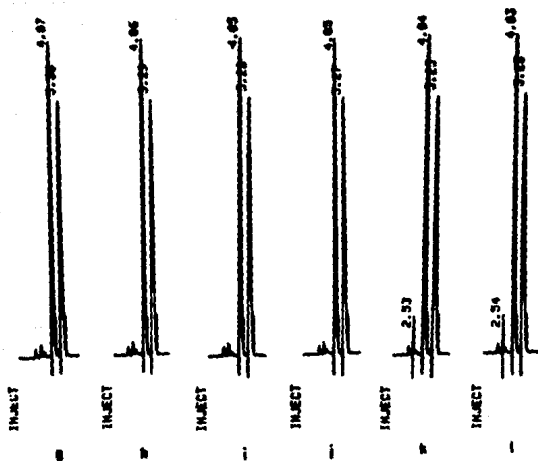
i) 150%
j) 150%

3. PRECISION Y EXACTITUD.



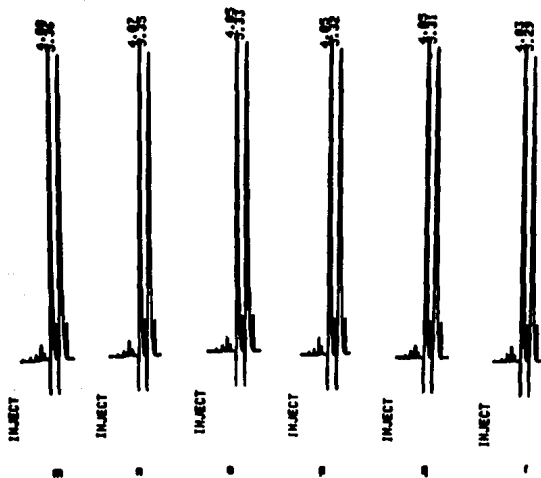
Muestras a un nivel de concentración del 80%.

PRECISION Y EXACTITUD



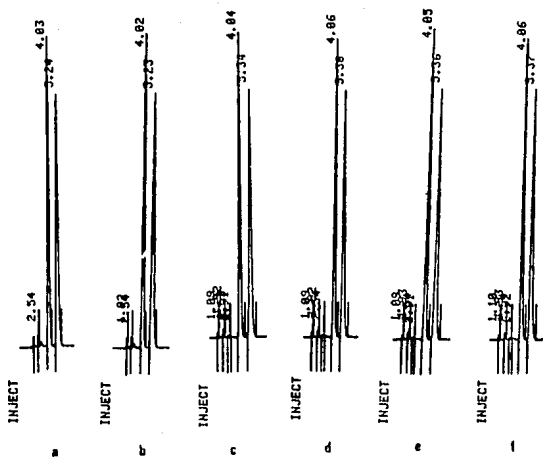
Muestras a un nivel de concentración del 100%.

PRECISION Y EXACTITUD



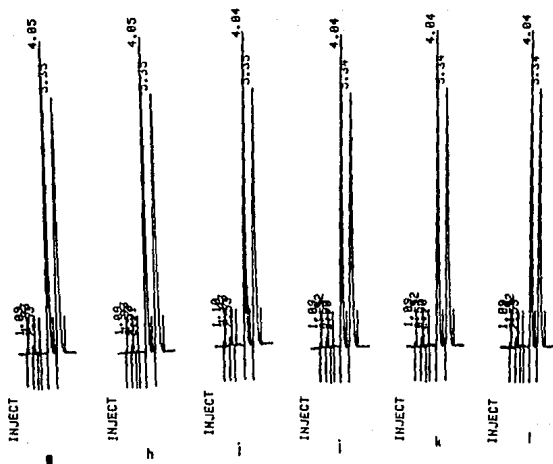
Muestras a un nivel de concentración del 120%.

4. REPRODUCIBILIDAD.



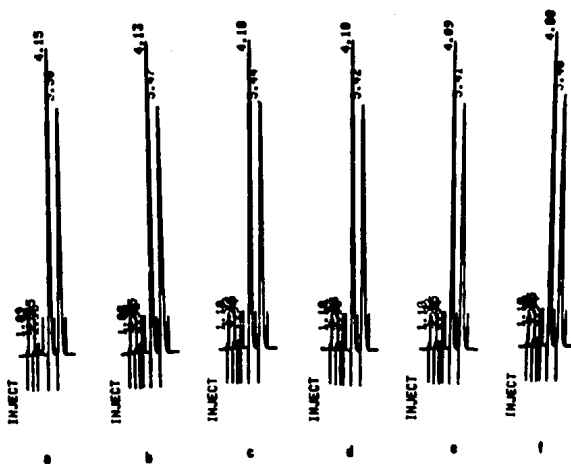
Muestras de la reproducibilidad 1. Día 1. analista A.

REPRODUCIBILIDAD



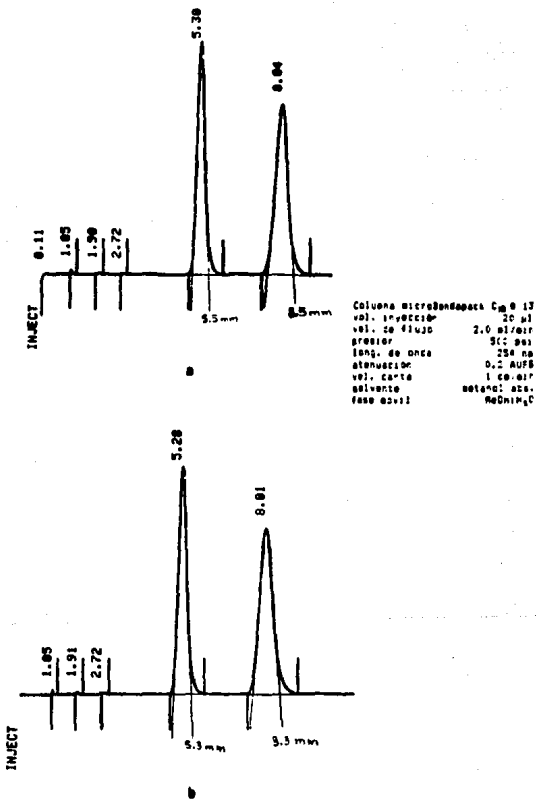
Muestras de la reproducibilidad 2. Día 2, analista B.

5. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.



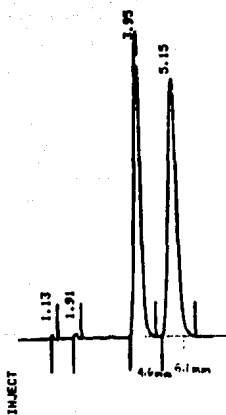
Muestras de la estabilidad de las muestras de la reproducibilidad 1.

6. TOLERANCIA DEL SISTEMA.



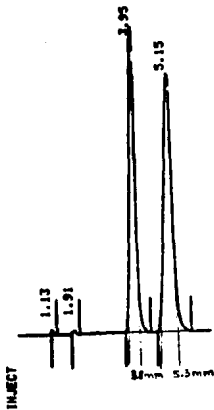
Fase móvil: MeOH:H₂O (55:45)

TOLERANCIA DEL SISTEMA



c

Columna microBorepack C₁₈ 150
 4.6mm x 150mm
 5µm
 150°C
 1.0 ml/min
 100% MeOH:H₂O
 60:40



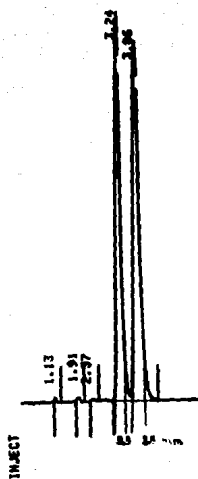
d

Detector: LSC AUSE
 Vol. Inyector: 1 µl
 Solvente: Metanol: Agua
 Fase móvil: MeOH:H₂O

Fase móvil: MeOH:H₂O

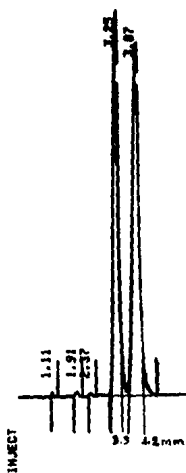
(60:40)

TOLERANCIA DEL SISTEMA



a

Columna: microPorosapak Q₁₀ 10
 vol. inyección: 10 µl
 vel. de flujo: 2.0 ml/min
 presión: 300 mmHg
 temp. de onda: 250 °C



b

atenuación: 0.2 AUPE
 vel. carta: 1 cm/min
 soporte: metanol abs.
 fase móvil: MeOH:H₂O

Fase móvil: MeOH:H₂O

(65:35)