



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales
Z A R A G O Z A

ESTUDIO COMPARATIVO DE METODOS DE ANALISIS PARA TABLETAS DE SULFATO DE SALBUTAMOL

T E S I S

Que Presenta:

Beatriz Espinosa Franco

Para su Examen Profesional de :

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

MEXICO, D. F.

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

C O N T E N I D O

- 1.- INTRODUCCION
- 2.- FUNDAMENTACION DEL TEMA
 - 2.1.- Relación Estructura Actividad.
 - 2.2.- Vías de Administración.
 - 2.3.- Propiedades del Salbutamol y del Sulfato de Salbutamol.
 - 2.4.- Métodos de Análisis Encontrados.
- 3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
- 4.- OBJETIVOS
- 5.- HIPOTESIS
- 6.- MATERIALES Y METODOS
 - 6.1.- Materiales
 - 6.1.1.- Equipo
 - 6.1.2.- Reactivos
 - 6.2.- Métodos
 - 6.2.1.- Valoración con la Resina Amberlita I. R.A. 410 o 402.
 - 6.2.2.- Valoración Colorimétrica con Cobaltinitrito de Sodio.
- 7.- DESARROLLO
 - 7.1.- Consideraciones Previas
 - 7.2.- Desarrollo del Trabajo
 - 7.2.1.- Desarrollo del Método de Cromatografía en capa fina en soporte de gel de sílice.
 - 7.2.2.- Desarrollo del Método de Cromatografía en capa fina en soporte de Celulosa Microcristalina.
 - 7.3.- Resultados
 - 7.3.1.- Método Cromatográfico en Gel de Sílice.
 - 7.3.2.- Método Cromatográfico en Celulosa Microcristalina.
 - 7.3.3.- Linealidad del Método Colorimétrico.

7.3.4.- Resultados de los dos Métodos de Análisis y su estudio estadístico.

8.- DISCUSION

- 8.1.- Comparación de los dos tipos de Resina.
- 8.2.- Estudio de Interferencia de Excipientes.
- 8.3.- Desarrollo de la Cromatografía en capa fina en Gel de Sílice.
- 8.4.- Desarrollo de la Cromatografía en capa fina en Celulosa Microcristalina.
- 8.5.- Comparación Estadística de Ambos Métodos.
- 8.6.- Linearidad del Método Colorimétrico.

9.- CONCLUSIONES

10.- PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

11.- BIBLIOGRAFIA.

1.- INTRODUCCION

El Salbutamol es un fármaco simpatomimético que desde el punto de vista farmacológico ha sido ampliamente estudiado y - cuyo uso terapéutico como broncodilatador es muy extendido.

Barger y Dale en 1910 estudiaron la actividad farmacológica de una serie de aminas sintéticas relacionadas con la adrenalina, en las cuales encontraron que sus efectos simulan las respuestas a un estímulo de los nervios adrenérgicos, pero en detalles e intensidad de su acción hay diferencias. Varios de ellos actúan profundamente en el Sistema Nervioso Central - y fueron clasificados como agentes simpatomiméticos.

Las acciones de los agentes simpatomiméticos se agrupan - en 5 grandes clases:

1.- Acción Excitadora Periférica.- La acción se produce en ciertos músculos lisos, como vasos sanguíneos de las mucosas, y en la secreción de las glándulas salivales.

2.- acción Inhibidora Periférica.- La acción se produce en otras formas de músculo liso, como el árbol bronquial e intestino.

3.- Acción Excitadora Cardíaca.- Esta acción consiste en un aumento en la frecuencia cardíaca y la fuerza con la que se contrae el miocardio.

4.- Acción Metabólica.- Se explica como un aumento de la glucogenolisis en el hígado.

5.- Acción Excitadora del Sistema Nervioso Central.- Se explica como un efecto en la estimulación respiratoria.

No obstante la clasificación anterior se debe considerar que no todos los fármacos simpatomiméticos ejercen su acción - en el mismo grado y en el mismo sitio. (1,2)

Por lo que la importancia del Salbutamol se basa principalmente en su acción directa sobre los bronquios y conductos respiratorios y muy poca acción sobre los receptores cardíacos; es absorbido fácilmente del tubo gastrointestinal cuando es administrado por vía oral a diferencia de la isoprenalina la cual

- es absorbida en forma irregular por sufrir el efecto del primer paso en el hígado y pared intestinal y de la terbutalina - que solo es parcialmente absorbida. (1,2)

Presenta una acción más prolongada y selectiva, con una - menor potencia para la estimulación cardíaca en comparación -- con la isoprenalina. (3)

El Salbutamol es utilizado en forma de base y sulfato para el tratamiento del asma, la bronquitis crónica, el enfisema y otros desórdenes broncopulmonares, en diferentes formas farmacéuticas como son: aerosoles, jarabes, tabletas y soluciones inyectables. (1,4)

Por lo cual se hace necesario el desarrollo de técnicas - analíticas que reúnan las condiciones adecuadas para competir en costo y confiabilidad con otras técnicas establecidas para el Salbutamol, pero que sean más rápidas y económicas.

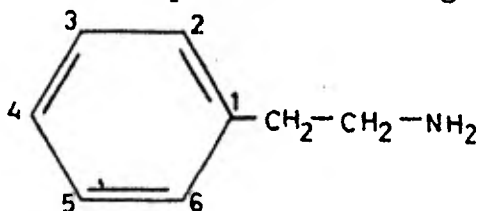
2.- FUNDAMENTACION DEL TEMA

Alquist, en 1948, observó que uno de los factores importantes que determinan los efectos de un fármaco simpatomimético son los 2 sitios receptores con los que puede reaccionar para despertar una respuesta en las células efectoras simpáticas, que se denominan α y β . Debido a las diferencias en sensibilidad de los receptores β , en función de la estructura química de los fármacos se clasifican en β_1 y β_2 . Los primeros tienen su acción farmacológica en especial sobre el corazón y el intestino delgado; los segundos en los bronquios y lechos vasculares. (1,2,5)

2.1.- Relación Estructura Actividad.

La β -fenil etil amina puede considerarse como el compuesto origen de las aminas simpatomiméticas; su estructura permite efectuar sustituciones en el anillo aromático, en los átomos de carbono α , β y en el grupo amino terminal.

Su estructura química es la siguiente:



β -fenil etil amina

Los compuestos de mayor actividad simpatomimética son aquéllos en los que el núcleo bencénico y el grupo amino están separados por 2 átomos de carbono. La consecuencia de una sustitución en el grupo amino es, que al aumentar el tamaño del grupo alquilo, aumenta la actividad sobre los receptores β , y disminuye sobre los receptores α .

La actividad máxima α y β depende de que haya grupos -OH en las posiciones 3 y 4 del núcleo bencénico; cuando falta uno o ambos grupos la potencia global disminuye y se reduce la actividad en los receptores β , pero faltando el grupo

- 3-OH aumenta la eficacia por vía oral y la duración de la acción es prolongada.

La substitución en el átomo de carbono α , bloquea la oxidación por la monooxidasa, lo que da como consecuencia la prolongada acción de las aminas, pero tienen una toxicidad aumentada.

La substitución en el átomo de carbono β , con un grupo OH, generalmente disminuye su toxicidad y su acción estimulante en el sistema nervioso central y aumenta la actividad α y β . Si este alcohol se convierte en cetona el compuesto pierde actividad.

Por tanto los compuestos fenólicos tienen mayor interés que los no fenólicos. Si son monofenoles, la posición del oxidrilo influye en la actividad, en mayor grado si está en meta, y en menor grado cuando está en orto.

La calidad y cantidad de substituyentes en el átomo de nitrógeno influyen en la actividad de los compuestos:

Las aminas primarias son más activas y tienen mejor acción terapéutica.

Las aminas secundarias tienen actividad ligeramente disminuida con respecto a las primarias y en cambio menor toxicidad.

Las aminas terciarias presentan una actividad muy disminuida con la ventaja de que también disminuye su toxicidad, son compuestos poco activos, pero con un alto índice terapéutico y son útiles medicinalmente.

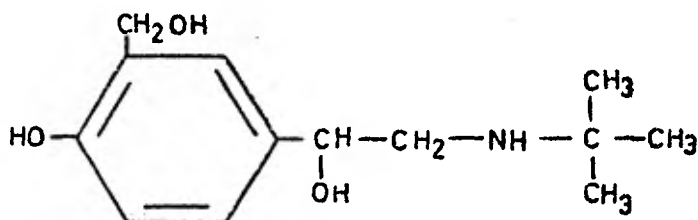
El reemplazo del anillo bencénico por otro grupo provoca disminución de la actividad estimulante del sistema nervioso central, sin disminuir la actividad α y β , aunque con mayor actividad α que actividad β . (2,5)

Por lo que al analizar la molécula del Salbutamol, este es un compuesto con actividad simpatomimética debido a la separación del grupo amino y del núcleo bencénico por 2 átomos

- de carbono y con una actividad sobre los receptores β , debido al terbutilo que se encuentra unido al grupo amino y como es una amina secundaria es un compuesto menos tóxico.

El Salbutamol es un estimulante selectivo de los receptores β_2 , aunque tiene un sustituyente $-\text{CH}_2\text{OH}$ en posición 3, lo que provocaría una actividad β -baja, por lo que se considera una excepción importante de la regla general por tener un sustituyente OH en el carbono β , esto proporciona una disminución de la acción estimulante sobre el sistema nervioso central.

La estructura química del Salbutamol se presenta a continuación.



2.2.- Vías de Administración.

Se ha encontrado que la vía de administración más adecuada para obtener efectos máximos y rápidos, para tratamientos largos es la de inhalación, pero esta vía tiene varios inconvenientes como son: para ancianos y niños es inadecuada por los problemas naturales que implica enseñarles una buena técnica de inhalación, por lo que se elige la vía de administración oral, por su fácil administración y por una distribución sistémica más amplia. (5)

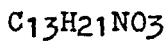
2.3.- Propiedades del Salbutamol y del Sulfato de Salbutamol. (6,7,8)

Salbutamol Base

Nombres Comunes:

Ventolin, Albuterol, Aerolin y Sultamol.

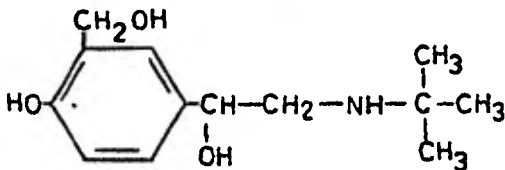
Fórmula Condensada:



Masa Molecular:

239.3

Fórmula Desarrollada:



Nombres Químicos:

α -[(ter-butilamino)-metil]-4-hidroxi-m-xileno- α, α' -diol.

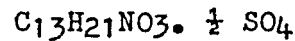
1-(4-hidroxi-3-hidroximetil-fenil)-2-ter-butil-amino-etanol.

4-hidroxi-3-hidroximetil- α -[(ter-butilamino)-metil]bencil alcohol.

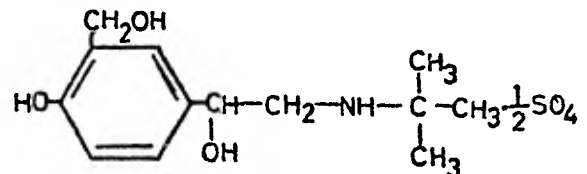
1,3 Bencen dimetanol, α' [(1,1 dimetil-etil amino)metil]-4-hidroxi.

Sulfato de Salbutamol

Ventolin, Albuterol, Aero - lin y Sultamol.



288.4



Hemisulfato de α -[(ter-butilamino)-metil]-4-hidroxi-m-xileno- α, α' -diol.

Hemisulfato de 1-(4-hidroxi-3-hidroximetil-fenil)-2-ter-butil-amino-etanol.

Hemisulfato de 4-hidroxi-3-hidroximetil- α -[(ter-butilamino)-metil]bencil alcohol.

Hemisulfato de 1,3 bencen-dimetanol, α' [(1,1 dimetil-etil amino)metil]-4-hidroxi.

Descripción:

Polvo cristalino blanco o casi blanco, inoloro e insípido.

Polvo blanco o casi blanco, inoloro, de sabor amargo.

Solubilidad:

Soluble 1 en 70 partes de agua, 1 en 25 partes de alcohol etílico, poco soluble en éter y cloroformo, muy soluble en metanol, ligeramente soluble en solución S.R de hidróxido de amonio, muy poco soluble en acetato de etilo.

Soluble 1 en 4 partes de agua, poco soluble en alcohol etílico, éter y cloroformo, muy soluble en solución S.R. de hidróxido de amonio, muy poco soluble en acetato de etilo insoluble en acetona, soluble en metanol.

Absorción Infrarroja:

Picos mayores a: 1038-1036, 1076-1075, 1219, 1232-1228, - 1268-1263, 1337-1333 cm^{-1} .

Picos mayores a: 837, 976 1027, 1076, 1111 y 1245 cm^{-1} .

Absorción Ultravioleta:

En solución de ácido clorhídrico 0.1N máximo a 227 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 323$) y 278 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 71$). En solución de hidróxido de sodio 0.1N máximo a 246 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 469$) y 297 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 126$).

En solución de ácido clorhídrico 0.1N máximo a 225 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 213$) y 278 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 60$). En solución de hidróxido de sodio 0.1N máximo a 245 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 317$) y 296 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 111$).

2.4.- Métodos de Análisis Encontrados.

Mediante una extensa búsqueda bibliográfica se encontraron los siguientes métodos analíticos para el Sulfato de Salbutamol como materia prima y producto terminado.

El método de Intercambio Iónico (9,11) es el más conocido y frecuentemente empleado para el análisis de tabletas de Sulfato de Salbutamol. Otro método encontrado es un análisis colorimétrico con Cobaltinitrito de Sodio (15), utilizado para analizar tabletas de Sulfato de Salbutamol; estos dos métodos se utilizan para producto a granel o terminado.

Se encuentra otro método de análisis colorimétrico con N-N dimetil p-fenil diamina (17), utilizado para la valoración de Sulfato de Salbutamol en solución acuosa.

También existe un método de análisis que es por medio de valoración no acuosa(9) utilizado principalmente para la valoración de Sulfato de Salbutamol como materia prima.

El método de análisis por medio de cromatografía de líquidos a alta presión (23), utilizado principalmente para detectar y cuantificar productos de degradación en estudios de estabilidad en soluciones acuosas de Sulfato de Salbutamol.

Tales métodos se explicarán a continuación:

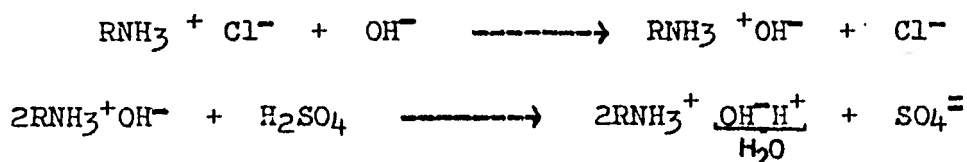
2.4.1.- Método de Intercambio Iónico.

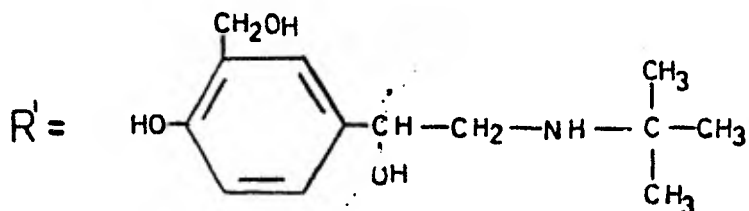
Fundamento:

Se basa en el atrapamiento del Sulfato por el grupo activo de amonio cuaternario de la resina aniónica fuertemente básica, Amberlita I.R.A. 410.

Esta resina se encuentra en forma de cloruro, unido a un grupo amonio cuaternario; por lo que se somete a un tratamiento de lavado para que el grupo activo se libere y pueda atrapar el sulfato de la molécula de Sulfato de Salbutamol y quede libre su base. (11,12)

Reaccion Propuesta:





SALBUTAMOL

Desventajas:

El tratamiento de regeneración de la resina es largo; - existen posibles interferencias de los excipientes, además - de que la resina tiene un costo elevado y es de importación.

Por las desventajas antes mencionadas la resina Amberlita I.R.A. 410, puede sustituirse por la Amberlita I.R.A. 402, que tiene características similares a la anterior y además - no es de importación.

Características de las Resinas de Intercambio Iónico. (13,14)

Amberlita I.R.A 410

Resina de intercambio ani^ónico tipo II, base fuerte, derivada de la funcionalidad del amonio cuaternario, pero un poco más débil que las del tipo I. Su estructura esta basada en un copolímero de estireno divinil benceno.

Alta capacidad de cambio - ani^ónico y un aumento de - la eficiencia de regenera-

Amberlita I.R.A 402

Resina de intercambio ani^ónica tipo I, fuertemente - b^ásica, derivada de la fun^ocionalidad de amonio cua^oternario. Exhibe alta basi^ocidad, su estructura está basada en un copolímero de estireno divinil benceno. La estructura porosa de la Amberlita I.R.A 402, facilita la eliminación de con^otaminantes orgánicos y la

-ción caústica sobre el tipo I. Forma iónica suministrada en "Cloruro".

- separación de esos contaminantes, con la técnica de regeneración comunmente usada. Forma iónica suministrada en "Cloruro".

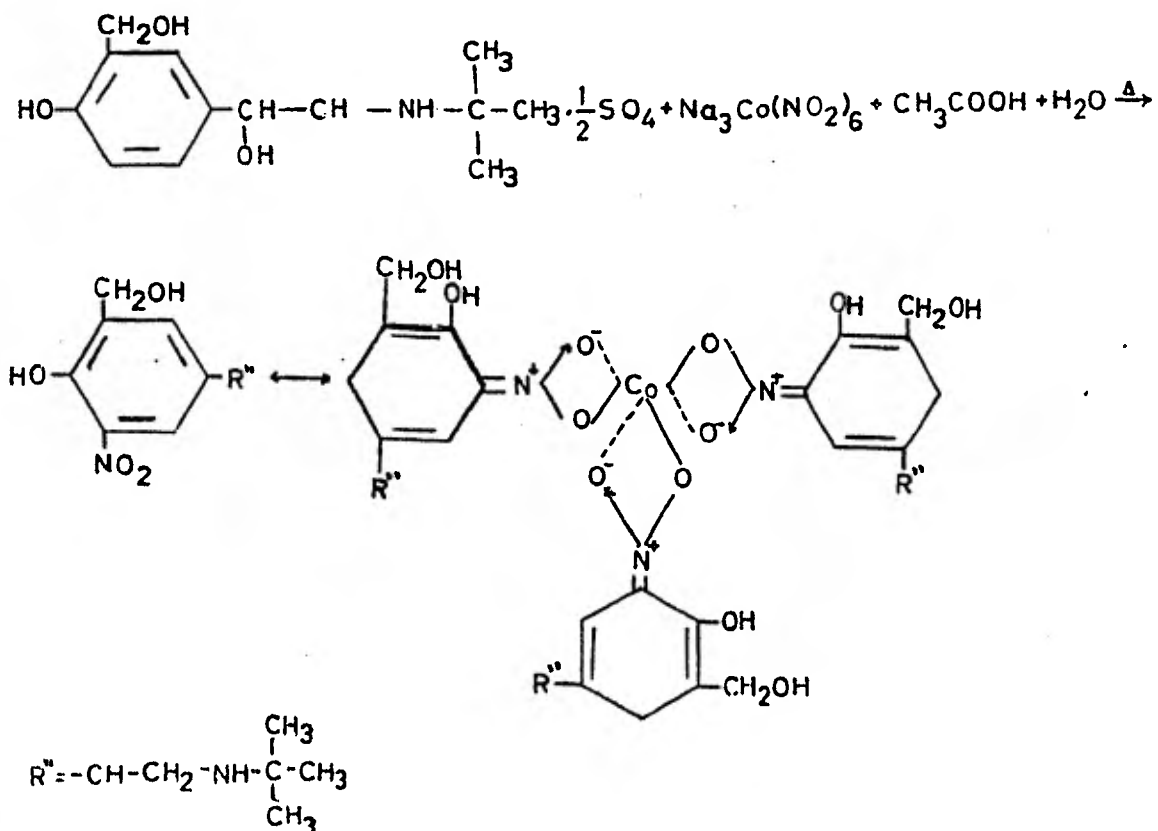
2.4.2.- Método Colorimétrico de Cobaltinitrito de Sodio.

Fundamento:

Este método se basa en la nitración del anillo bencénico, en posición orto al grupo OH, produciendo un derivado o-nitroso, en forma de oxima tautómera y quelado con los iones cobalto.

Solo los compuestos que contienen un grupo fenólico sustituido en para, son los que pueden reaccionar; como la molécula del Salbutamol. (16):

Reacción Propuesta:



Se explica porque el grupo OH fenólico es un orientador a las posiciones orto y para del núcleo bencénico y debido a que la posición para se encuentra ocupada, solo puede orientar a la posición orto. Aunque existen otros grupos OH en la molécula estos no están insertados directamente al núcleo -- bencénico por lo que no tienen efecto orientador.

La nitración se lleva a cabo en compuestos activos como aminas y fenoles con ácido nítrico solo o con agua, ácido -- acético o anhídrido acético con un catalizador protónico o -- un ácido de Lewis.

Ventajas:

La reacción es específica para un grupo y una posición, no hay interferencia de excipientes comunes tales como la -- lactosa, almidón, estearato de magnesio, glicerina, avicel -- y grenetina y su tiempo de análisis es corto.

Desventajas:

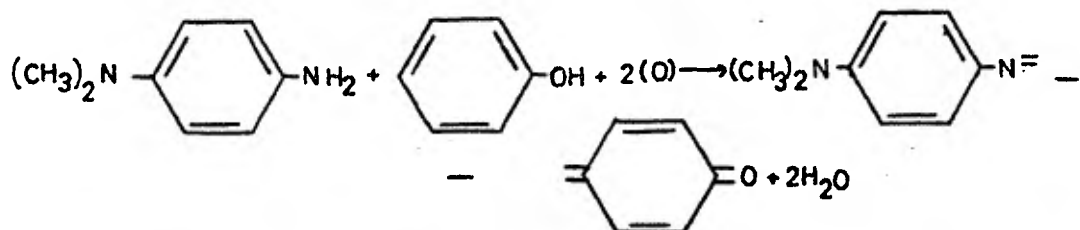
La reacción es muy sensible por lo que si las condiciones no son adecuadas, la reacción o no se lleva a cabo o es incompleta.(16)

2.4.3.- Método Colorimétrico con N-N Dimetil p-Fenil Diamina.

Fundamento:

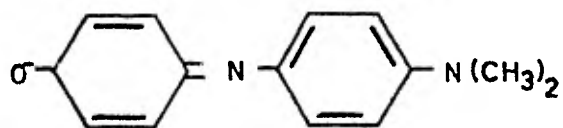
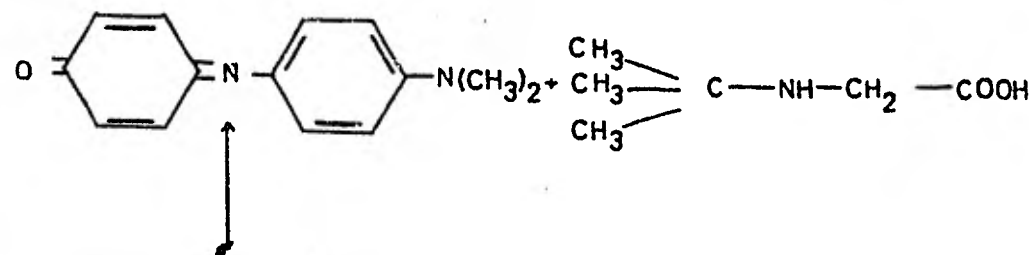
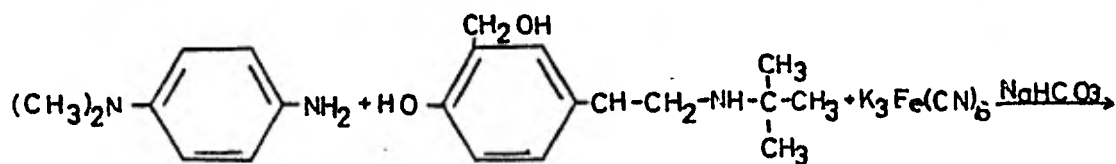
Este método se basa en la copulación de fenoles sustituidos en para con N-N dimetil p-fenil diamina, para producir un colorante indofenólico de coloración intensamente azul. Estos grupos de fenoles sustituidos en para no han demostrado una tendencia a sufrir copulación en la posición orto, debido a que la activación de esta posición es insuficiente para permitir la reacción de copulación, lo cual da como consecuencia la eliminación del grupo en para y poderse efectuar la reacción en esta posición.

Esta reacción es muy inestable; su preparación general es por una oxidación en solución alcalina de N-N dimetil p-fenil diamina y un fenol libre o sustituido en para.



El espectro de absorción del color se ve afectado por el tipo de disolvente, además se tienen efectos sobre la absorción de los sustituyentes encontrados en el núcleo bencénico y esto se explica en términos de sus efectos en el sistema de resonancia. (18,19,20)

Reaccion Propuesta:



Desventajas:

Las desventajas que se presentan son la inestabilidad - del compuesto colorido, también es importante la concentra - ción usada para poder seguir la ley de Lambert y Beer (17); existe una posible interferencia de los excipientes en la -- reacción, y los tiempos de reacción son largos, lo que da co mo consecuencia una falta de reproducibilidad del método.

Ventajas:

La reacción es específica para una posición y es utili - zada para la detección de degradación dentro de la forma far macéutica en especial de las soluciones acuosas.

2.4.4.- Método Volumétrico (no acuoso).Fundamento:

Este método se basa principalmente en la valoración no acuosa del grupo amino secundario que contiene la molécula - de Sulfato de Salbutamol, este grupo se considera como una - base débil. (21,22)

Ventajas:

Es un método rápido y sencillo, para la valoración del Sulfato y de la base del Salbutamol como materia prima.

Desventajas:

Su principal desventaja es que solamente se puede utili - zar para la valoración de la base y del Sulfato de Salbuta - mol como materia prima y no como producto terminado por la - interferencia de los excipientes.

2.4.5.- Método Cromatográfico.Fundamento:

La cromatografía se basa principalmente en la separa - ción de dos o mas componentes, debido a las diferentes velo - cidades de migración, causadas por diferencias en afinidades

- relativas por dos fases. La cromatografía de líquidos a alta presión se considera como una cromatografía de partición debido a que la fase estacionaria es una capa muy delgada de líquido, mantenido como un adsorbente cubriendo las partículas de un soporte en polvo. (22)

Ventajas:

Es un método rápido y adecuado para determinar cuantitativamente productos de degradación en el medicamento sin la interferencia de los excipientes.

Desventajas:

Su principal desventaja es el equipo utilizado ya que éste es de costo elevado y no se encuentra al alcance de la mayoría de los laboratorios del país.

2.4.6.- Método Espectrofotométrico.

Fundamento:

Este método se basa en la medida de absorción ultravioleta de la muestra a una determinada longitud de onda, es un método directo, simple y preciso, se usa cuando la muestra no contiene sustancias que por absorber a la misma longitud de onda puedan interferir en la determinación.

Ventajas:

Es un método rápido, sencillo y de bajo costo.

Desventajas:

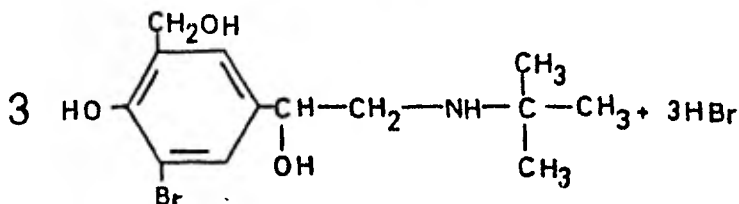
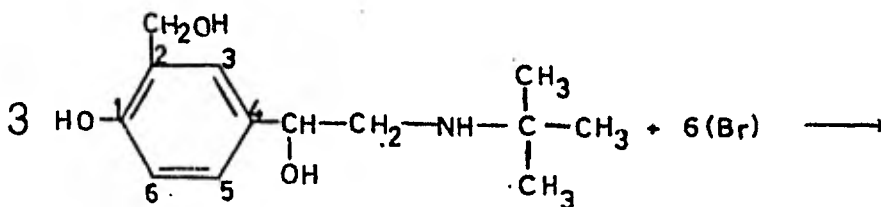
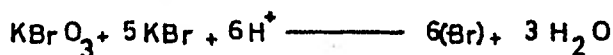
Una de sus desventajas es que este método solo se utiliza para materia prima, ya que para producto terminado se encontrarían interferencias ocasionadas por los excipientes -- que sean solubles en el disolvente, lo cual provocaría error en su cuantificación.

2.4.7.- Método Yodométrico.

Fundamento:

Este método se basa en que la molécula de Sulfato de -- Salbutamol posee un grupo OH fenólico el cual proporciona ca racterísticas apropiadas para que se lleve a cabo la reacción con bromo en posiciones orto y para a este grupo. Esta molécula reacciona formando un derivado monobromado porque las - posiciones 2 y 4 estan ocupadas. La reacción consiste en ha- cer reaccionar bromuro y bromato de potasio en medio ácido - para liberar el bromo, el cual reacciona con la molécula del Salbutamol, y el exceso de bromo se hace reaccionar con yodu ro de potasio, que libera yodo el cual es titulado con tio - sulfato de sodio. (21,22)

Reaccion Propuesta:



Desventajas:

Su desventaja principal es que esta reacción no es específica para fenoles, si no que también la presentan las aminas aromáticas; otras moléculas que pueden interferir son -- los compuestos insaturados, razón por la cual pueden causar interferencias los excipientes.

2.4.8.- Método Colorimétrico con Cloruro Férrico.Fundamento:

Se basa en que la molécula del Salbutamol posee un grupo OH fenólico, que da una coloración característica al reaccionar con cloruro férrico. (21,22)

Ventajas:

Este método se puede utilizar como prueba de identidad. (9).

Desventajas:

Esta reacción no es específica de esta molécula, por lo que podrían haber interferencias con los excipientes.

2.4.9.- Método de Cromatografía en Capa Fina.Fundamento:

El uso de la cromatografía en capa fina para la separación e identificación de fármacos y otros compuestos se ha desarrollado ampliamente por su rapidez, sensibilidad y gran capacidad de resolución y el uso de pequeñas cantidades de muestra.

Este procedimiento se funda en el fenómeno de adsorción y partición y reacciones de intercambio de iones. Este método tiene vasta aplicación y en la actualidad nos proporciona facilidad para la cuantificación de compuestos.

El principio del método es la utilización de una fase fija o adsorbente y una fase móvil o eluyente.

Para la elección del adsorbente y disolvente se tienen que tomar en cuenta diversos factores. El adsorbente debe tener cierta afinidad por los solutos, ni demasiado fuerte que los retenga mucho ni tan débil que no haya retención.

Para la elección de los disolventes se toma en cuenta principalmente la polaridad de la sustancia problema. Para sustancias polares se usan disolventes polares y para los no polares, los disolventes no polares o de polaridad baja.

Para la elección del adsorbente es necesario tomar en cuenta las características de los compuestos por separar; en principio se considera la solubilidad de la sustancia, puede ser hidrofílica o lipofílica, también es necesario saber si la sustancia tiene carácter ácido, neutro, básico o anfótero, finalmente se debe conocer si el compuesto o los aditivos pueden reaccionar con el adsorbente.

Tomando en cuenta lo anterior se ha encontrado que la celulosa microcristalina es útil para cromatografía en capa fina de sustancias solubles en agua, y encontramos que en general da separaciones más efectivas que en gel de sílice.

La ventaja sobre la gel de sílice, es el material que no tiende a romperse ni a maltratarse y su costo es menor.

Como el Salbutamol es una sustancia soluble en agua se puede utilizar como adsorbente la celulosa microcristalina (24), y como disolvente butanol, ácido acético, agua (4:1:5) v/v y para su detección se puede utilizar fluoresceína, permanganato de potasio, ninhidrina en butanol o acetona, ferric cianuro de potasio al 0.5% en hidróxido de sodio w/v. (22,24, 25,26)

2.4.10.- Método de Extracción.

El Sulfato de Salbutamol se puede extraer con acetato de metilo de soluciones amoniacales saturadas con cloruro de sodio. (8)

3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de agentes simpatomiméticos ha aumentado en los últimos años, por lo que la síntesis de nuevos fármacos se ha desarrollado para la obtención de agentes terapéuticamente eficaces y con menos reacciones secundarias.

El crecimiento urbano que tiene como consecuencia problemas de contaminación del medio ambiente y trastornos emocionales puede ser la causa de que haya aumentado el uso de los agentes simpatomiméticos para tratamientos de las vías respiratorias.

En nuestro país en los últimos años se ha notado el aumento de estos agentes en diferentes formas farmacéuticas como son: tabletas, jarabes, soluciones inyectables y aerosoles, en especial del Sulfato de Salbutamol. Por lo cual se hace necesaria la implementación de técnicas analíticas que reúnan las condiciones adecuadas para competir en costo y confiabilidad con otras técnicas establecidas.

La técnica analítica oficial usada para el análisis de tabletas de Sulfato de Salbutamol utiliza la resina Amberlita I.R.A. 410, la cual tiene varias desventajas como son:

Este tipo de resina es de importación, por lo tanto difícil de adquirir y de costo elevado, por esta razón se tratará de sustituir por una de propiedades similares, pero que no sea de importación, de mas fácil acceso y de menor costo. Una desventaja de este método, es el tratamiento de la resina el cual es tardado y largo, además de que puede haber interferencias debidas a los excipientes presentes en la tableta.

Por lo antes mencionado y con la técnica descrita en el párrafo anterior, surge la idea de comparar la técnica analítica oficial con una técnica analítica no oficial como la del cobaltinitrito de sodio, la cual se considera más adecuada por ser un método sencillo, de tiempo de análisis corto -

- en relación con otras técnicas analíticas descritas en la bibliografía.

Para poder comparar estos métodos es necesario contar - con la ayuda de un método de identificación adecuado, como - es el caso de la cromatografía en capa fina.

4.- OBJETIVOS

- 4.1.- Comparación de técnicas analíticas. La técnica oficial (9), con la técnica no oficial de cobaltinitrito de sodio para tabletas de Sulfato de Salbutamol.
- 4.2.- Realización de un estudio estadístico de ambas técnicas para elegir la mejor.
- 4.3.- Sustituir la resina establecida por otra de características y propiedades similares.
- 4.4.- Implementación del método analítico de cromatografía en capa fina como un método de identificación para tabletas de Sulfato de Salbutamol.

5.- HIPOTESIS

Dado que se encontraron varias técnicas analíticas y se eligió la del cobaltinitrito de sodio por ser un método sencillo, con tiempo de análisis corto, suponemos que reunirá las condiciones necesarias para competir o igualar a la a la técnica descrita en la Farmacopea Británica 1973, en costo, tiempo de análisis y confiabilidad.

6.- MATERIALES Y METODOS6.1.- Materiales.

	<u>Capacidad</u>
Vasos de precipitados de	100, 600 y 800 ml.
Matraces aforados	10, 25, 50, 100, y 200 ml.
Matraces erlenmeyer	125 y 250 ml.
Morteros de porcelana de 11.5 cm de diámetro.	
Embudos de filtración rápida de tallo corto de 5 y 6.5 cm de diámetro.	
Probetas de	100 ml.
Tubos de ensaye de 18 x 150 mm	
Pipetas volumétricas	2, 3, 4, 5, 10 y 20 ml.
Pipetas graduadas	10 ml.
Embudos de Separación	250 ml.
Agitadores de vidrio	
Barras magnéticas de	3.6 y 1 cm.
Columnas de Cromatografía	19 x 300 mm.
Gradilla de metal	40 tubos.
Soportes universales	
Pinzas de 3 dedos con nuez.	
Tubos de centrífuga de	15 ml.
Papel filtro de poro mediano.	
Papel filtro whatman # 42.	
Piseta.	
Placasparacromatografía en capa fina de 20 x20 cm.	
Espátulas de diferentes tamaños.	
Equipo de preparación de placas de cromatografía en capa fina Camag.	
Tanque para correr placas.	
Microjeringa de 200 y 100 mcl.	Socorex.
Relog despertador con intervalos de tiempo.	
Termómetro de -10 a 100° C.	
Papel tornasol neutro	Merck.

Papel indicador de pH de 0 - 10

6.1.1.- Equipo:

Parrilla de calentamiento	Caning
Parrilla de agitación	Magnestir
Vortex super mixer	Craft
Homogenizador	Virtis
Estufa	Napsa modelo HDP-334
Centrífuga clínica salvat con cabezal de 16 compartimentos - con control de tiempo integrado de 5000 r.p.m.	
Lampara ultravioleta	Camag
Balanza analítica	Metler H 35 AR
Espectrofotómetro U.V. Visible	Beckman modelo 25

6.1.2.- Reactivos:

Acido Sulfúrico R.A.	J.T. Baker
Acido clorhídrico R.A.	"
Hojuelas de hidróxido de sodio R.A.	Merck
Cobaltinitrito de Sodio R.A.	J.T. Baker
Acido Acético Glacial R.A.	"
Celulosa Microcristalina para placas de cromatografía en capa fina.	
n- Butanol R.A.	J.T. Baker
Fluoresceina indicador F 254	Merck
Permanganato de potasio R.A.	J.T. Baker
Ninhidrina R.A.	
Acetona R.A.	J.T. Baker
Ferricianuro de potasio R.A.	"
Gel de sílice G F 254.	
Gel de sílice G 60	
Agua deionizada	
Sulfato de Salbutamol	
Metanol R.A.	J.T. Baker
Cloroformo R.A.	"

Hidróxido de amonio R.A.	J.T. Baker
Formaldehido R.A.	"
Alcohol isopropílico R.A.	"
Acetato de etilo R.A.	"

6.2.- METODOS:

6.2.1.- Valoración con la resina Amberlita I.R.A. 410 o 402.

Tratamiento de lavado de la Resina:

Se tratan aproximadamente 100 ml de la resina Amberlita I.R.A 410 o I.R.A 402, en 500 ml de una solución al 5% p/v - de hidróxido de sodio, agitando la mezcla mecánicamente durante 30 minutos; una vez sedimentada se elimina el líquido sobrenadante, y se lavan con porciones sucesivas de agua deionizada, hasta que los lavados sean neutros al papel tornasol. Enseguida se agregan 250 ml de una solución al 5% p/v de ácido sulfúrico, agitando la mezcla mecánicamente durante 30 minutos; se elimina el líquido sobrenadante y el sedimento se lava con porciones sucesivas de agua deionizada hasta que el pH de los lavados no sean menor de 5.0.

Preparación de la muestra:

Se pulverizan no menos de 20 tabletas y se pesa el equivalente a 5 mg de Salbutamol base, se transfieren cuantitativamente a un vaso de precipitados de 100 ml, se agregan 10 ml de una solución 0.1N de ácido clorhídrico y 30 ml de agua destilada, la muestra se agita mecánicamente durante 30 minutos; transcurrido el tiempo, se filtra por papel whatman # 42, y se lava el filtro con una porción de 20 ml de agua deionizada, combinando los filtrados con los lavados.

Solución Patrón:

Se pesa el equivalente a 12.5 mg de Salbutamol base, y se transfiere cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml, se agregan 12.5 ml de una solución 0.1N de ácido clorhídrico y se afora con agua destilada, se agita para homogeneizarla.

Procedimiento:

Se llenan las columnas de 19 x300 mm con la resina Amberlita I.R.A. 410 o I.R.A 402 a una altura de 4 cm, se depositan en una columna la muestra filtrada y en otra 10 ml de la solución patrón. Los líquidos efluyentes se recogen, a una velocidad de flujo de 30 a 40 gotas por minuto, en un matraz aforado de 100 ml, se lavan las columnas con porciones sucesivas de agua deionizada hasta el aforo y se mezclan. Se mide la absorbancia de estas soluciones a una longitud de onda de 276 nm en un espectrofotómetro; se utiliza como blanco -- una mezcla al 10% de una solución 0.1N de ácido clorhídrico en agua destilada.

Cálculos:

$$\% = \frac{Ab_m}{Ab_p} \times \frac{C_p}{C_m} \times 100$$

Ab_m = Absorbancia de la muestra.

Ab_p = Absorbancia del patrón.

C_p = Concentración del patrón.

C_m = Concentración de la muestra.

6.2.2.- Valoración colorimétrica con Cobaltinitrito de Sodio.

Preparación de la muestra:

Se pulverizan no menos de 20 tabletas, y se pesa el equivalente a 12.5 mg de Sulfato de Salbutamol, se transfieren cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml, se diluye con agua destilada hasta el aforo, se agita mecánicamente durante 20 minutos, transcurrido el tiempo se filtran por papel whatman # 42.

Solución Reactivo:

Se prepara una solución al 5% de cobaltinitrito de sodio R.A. en agua destilada (esta solución deberá ser preparada recientemente).

Solución Patrón:

Se pesan aproximadamente 12.5 mg de Sulfato de Salbutamol, y se transfiere cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml, se diluye con agua destilada hasta el aforo y se mezcla.

Procedimiento:

2 porciones de 2 ml de la solución patrón, 2 porciones de 2 ml de la muestra y 2 ml del blanco (agua), se transfieren a tubos de ensaye de 18 x 150 mm y se añaden 2 ml de ácido acético glacial R.A a cada uno de los tubos, y se agitan de inmediato: se adicionan 2 ml de la solución reactivo de cobaltinitrito de sodio y se mezclan por agitación; se colocan los tubos dentro de un baño de agua hirviendo (manteniendo este baño en ebullición) durante 15 minutos, transcurrido el tiempo los tubos se enfrían en agua corriente y se transfieren cuantitativamente a matraces aforados de 50 ml, completando el volumen con agua destilada, se mezclan por agitación y se miden las absorbancias de estas soluciones en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 320 nm.

Cálculos:

$$\% = \frac{Ab_m}{Ab_p} \times \frac{C_p}{C_m} \times 100$$

7.- DESARROLLO

7.1.- Consideraciones previas:

Para la realización de este trabajo se emplearon tabletas de Sulfato de Salbutamol de una marca comercial, por lo que fue necesario elaborar lotes piloto de tabletas de Sulfato de Salbutamol con los excipientes usados en la forma comercial, para eliminar la posibilidad de interferencias ocasionadas por ellos.

Se empleó la técnica de fabricación de la marca comercial cuya fórmula esta constituida por:

Sulfato de Salbutamol, Almidón, Lactosa, Avicel pH-102, Grenetina, Glicerina y Estearato de Magnesio.

Como algunas de las tabletas de la marca comercial contenian lactosa amarilla, se elaboraron lotes piloto con lactosa amarilla.

Equivalencia del Salbutamol.

Cada 2 mg de Salbutamol base equivalen a 2.41 mg de Sulfato de Salbutamol.

Se prepararon cinco lotes piloto, cada uno de los cuales se analizaron por los dos métodos de análisis elegidos y como una comprobación de la pureza de las muestras se diseñó el método de cromatografía en capa fina.

Se prepararon los lotes piloto para tener seguridad de tener cantidades conocidas de Sulfato de Salbutamol contenidas en las muestras, también se prepararon lotes de mezcla de excipientes.

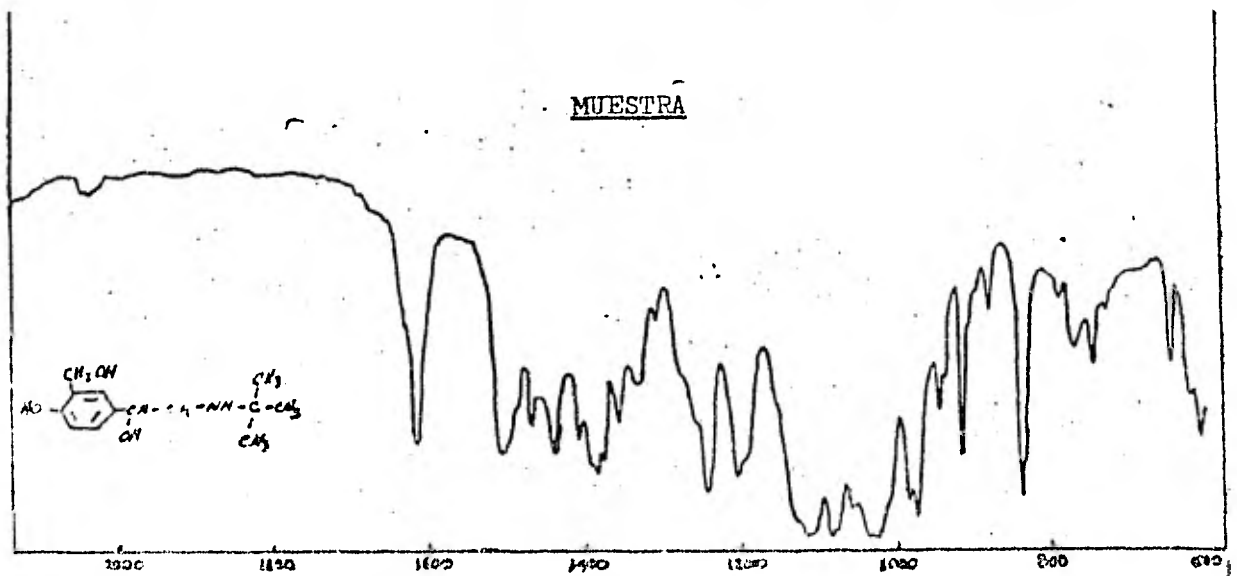
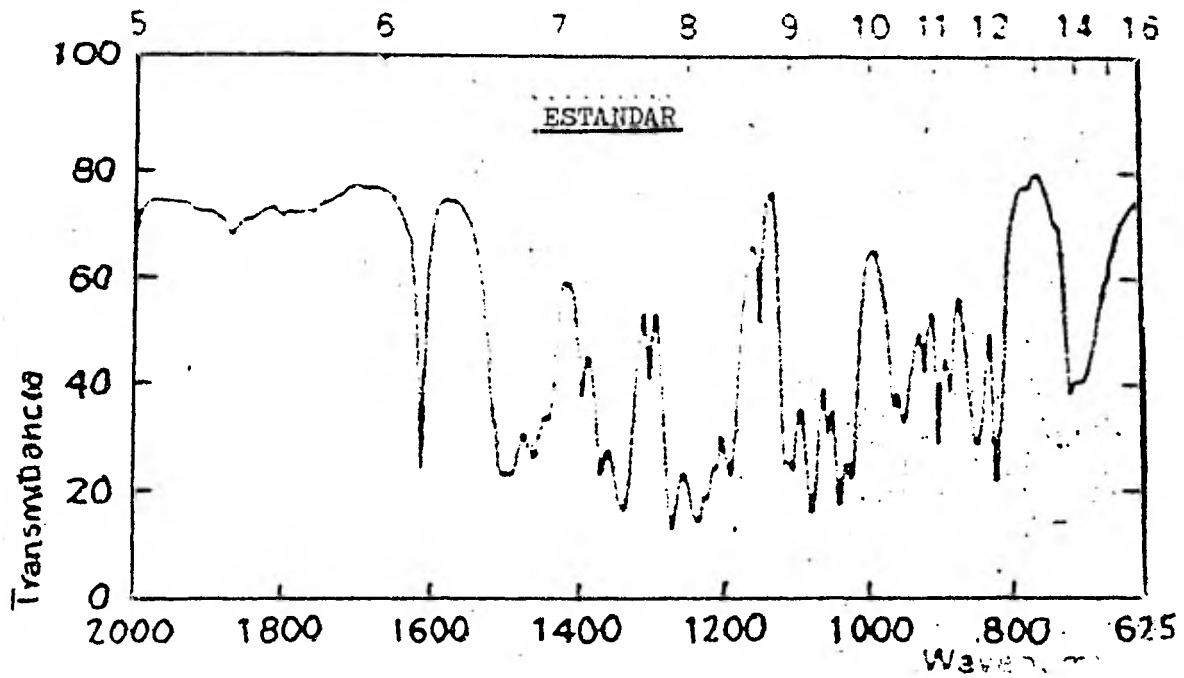
El método de cromatografía en capa fina se realizó en soportes de gel de sílice (8) y celulosa microcristalina, comparando los resultados para determinar el soporte más adecuado para el Sulfato de Salbutamol.

Identificación del Sulfato de Salbutamol.

En la figura No. 1 se indica el espectro infrarrojo el cual se compara con un estándar bibliográfico, el cual nos muestra los mismos picos que la del Sulfato de Salbutamol --

Figura No. 1

Comparacion de los Espectros Infrarrojos
del Estandar y la muestra.



- utilizado para los análisis.

7.2.- Desarrollo del Trabajo.

En la figura No. 2 se describe la secuencia de trabajo propuesta en el presente proyecto, para cubrir los objetivos propuestos.

En la adaptación de los métodos de análisis se probaron las condiciones establecidas en la bibliografía de ambos métodos, comprobando si estas son adecuadas o si no adaptarlas a nuestras utilidades, detallando más estos procedimientos.

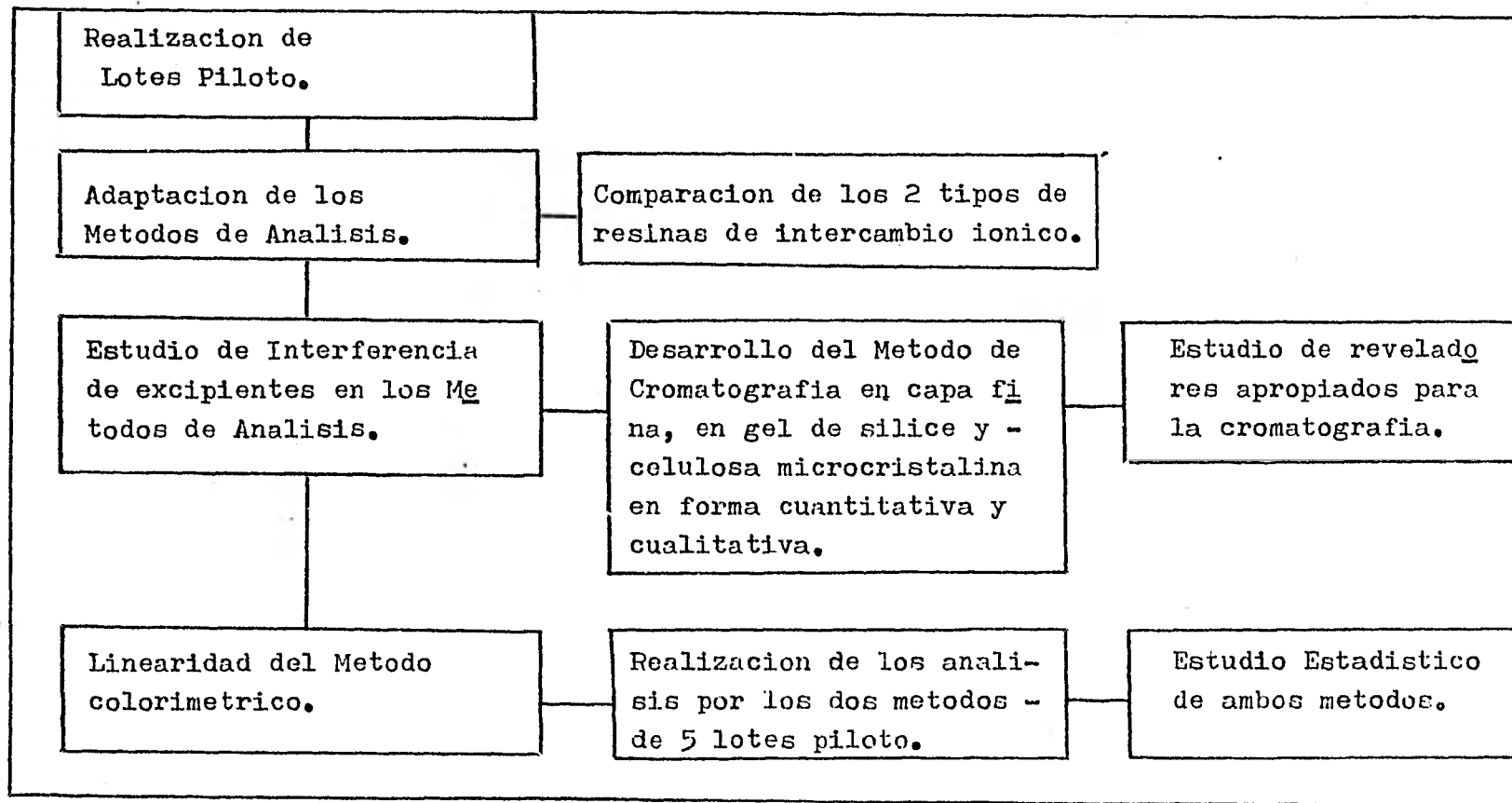
En el paso en donde se refiere a estudios de interferencia de excipientes se realizó con lotes de mezcla de excipientes y con los excipientes por separado, comprobando la posibilidad de interferencia por medio de cromatografía en capa fina, principalmente en el método de resina de intercambio iónico.

La comparación de los dos tipos de resina de intercambio iónico se llevó a cabo utilizando un solo lote para el análisis con ambas resinas, y poder realizar la comparación de los resultados y determinar estadísticamente si son equivalentes o no.

La linealidad del método colorimétrico se realizó a diferentes concentraciones de Sulfato de Salbutamol para poder determinar si el método obedece la ley de Lambert y Beer, -- obteniendo el factor de correlación lineal para poder relacionar la absorbancia con la concentración de la solución y determinar su coeficiente de extinción.

Del desarrollo de la cromatografía en capa fina, se describe a continuación.

En el estudio estadístico se utilizó el análisis de varianza para determinar la diferencia de ambos métodos, y si esta era debida a la variación entre los lotes utilizados. -- También se utilizó la prueba "t" para comparar exactitud en ambos métodos. Calculandose los parámetros más comunes utilizados para saber la variabilidad de los métodos como son:

Figura No. 2Esquema General de Trabajo.

Media, desviación estándar, varianza y error estándar.

7.2.1.- Desarrollo del Metodo de Cromatografia en Capa Fina en soporte de Gel de Silice.

Se pueden desarrollar varias técnicas de cromatografía en capa fina, debido a que es una de las técnicas de análisis más adecuadas para detectar productos de degradación o impurezas dentro de una muestra.

Material:

Cromatofolios de gel de sílice 60 F254 de 5x 20 cm y 0.2 mm de espesor.

Preparación de la muestra:

Tabletas: Se pesan y se pulverizan no menos de 20 tabletas de Sulfato de Salbutamol. Se pesa el equivalente a 25 mg de Sulfato de Salbutamol, y se transfieren cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml, se diluye con agua destilada hasta el aforo, se agita la mezcla mecánicamente durante 30 minutos (el tiempo se obtuvo practicamente, utilizando la mezcla a diferentes tiempos de agitacion y eligiendo donde se obtuvo el mismo resultado), transcurrido el tiempo se filtra por papel filtro whatman # 41.

Lote piloto; placebo y excipientes: De los lotes preparados y de los excipientes se pesa el equivalente a 25 mg de Sulfato de Salbutamol y se transfieren cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml, se diluye con agua destilada hasta el aforo, se agita la mezcla mecánicamente durante 30 minutos, transcurrido el tiempo se filtra por papel whatman # 41.

Solución Patrón de Sulfato de Salbutamol y Salbutamol Base.

Se pesa el equivalente a 25 mg de Sulfato de Salbutamol y transfiere cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml, se diluye con agua destilada hasta el aforo, se agita la mezcla para homogeneizarla.

Procedimiento:

Se dividen los cromatofolios de gel de sílice en dos -- partes y se aplican 10 mcl de cada una de las soluciones pre- paradas anteriormente, terminada la aplicación se introducen en la cámara previamente saturada con las diferentes mezclas de eluyentes (8,26), dejándolas correr hasta una altura de - 15 cm, transcurrido este tiempo se sacan y dejan secar a tem- peratura ambiente y se revelan.

Mezcla de Eluyentes:

Hidróxido de amonio- agua- alcohol isopropílico- aceta- to de etilo. (4:16:30:50).

Metanol- hidróxido de amonio (5:1).

Acetona- Acido acético- agua (70:10:20).

Cloroformo- metanol (90:10).

Metanol- hidróxido de amonio (100:1.5).

Butanol- formaldehído- agua (12:1:7).

Acetona- hidróxido de amonio (99:1).

También se utilizaron las muestras de tabletas, lotes - piloto, excipientes y mezcla de excipientes diluidos en solu- ción de ácido acético 2N (8), siguiendo el mismo desarrollo descrito anteriormente.

Mezcla de Eluyentes:

Metanol- hidróxido de amonio (5:1).

Reveladores:

Luz ultravioleta.

Vapor de yodo.

7.2.2.- Desarrollo del Método de Cromatografía en Capa Fi- na en Soporte de Celulosa Microcristalina.

Preparación de las Placas:

Se lavan y desengrasan placas de cromatografía de 20 x 20 cm. Se prepara una dispersión que contenga 27 g de celulo- sa microcristalina y 2 g de fluoresceína en 100 ml de agua -

- destilada, se agita la mezcla en un homogeneizador durante 1 minuto a 30 r.p.m., se separa el vaso y se deja reposar la mezcla durante 2 minutos en el vaso, transcurrido el tiempo se transfiere al equipo de cromatografía con un espesor de 500 milimicras y se corren rápidamente las placas, se secan a 60°C durante 1 hora; transcurrido el tiempo se sacan y se guardan; estas placas no necesitan ser activadas nuevamente.

Preparación de la mezcla de eluyentes:

Se mezclan los siguientes disolventes butanol-ácido acético-agua, en una proporción de (4:1:5), dejando reposar esta mezcla durante la noche (24), al día siguiente se separa la fase orgánica y se transfiere a la cámara de elución, dejándola saturar durante 24 horas.

Preparación de la Muestra:

Tabletas: Se pesan y pulverizan no menos de 20 tabletas de Sulfato de Salbutamol, se pesa una cantidad equivalente a 12.5 mg de Sulfato de Salbutamol y se transfiere cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml, se diluyen con agua destilada hasta el aforo, la mezcla resultante se agita mecánicamente durante 30 min, transcurrido el tiempo se filtra por papel filtro whatman # 41.

Lote piloto, mezcla de excipientes y excipientes: De los lotes preparados y de los excipientes se pesa una cantidad equivalente a 12.5 mg de Sulfato de Salbutamol y se transfieren a matraces aforados de 25 ml, se diluye con agua destilada hasta el aforo, la mezcla resultante se agita mecánicamente durante 30 min. transcurrido el tiempo se filtra por papel filtro whatman #41.

Solución Patrón:

Se pesa el equivalente a 12.5 mg de Sulfato de Salbutamol y se transfiere cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml, se diluye con agua destilada hasta el aforo, se agita la mezcla para homogeneizarla.

Solución Blanco: Agua destilada.

Procedimiento:

Se divide la placa previamente preparada en 4 partes, - aplicando 200 mcl. de las soluciones preparadas anteriormente, en forma de banda, secando en cada una de las aplicaciones, terminadas éstas, se introduce la placa dentro de la cámara de elucion, dejándolas correr hasta una altura de 15 cm. Transcurrido este tiempo se sacan y se dejan secar a temperatura ambiente, se revela con una lámpara de luz ultravioleta; se enmarca el área de cada una de las muestras aplicadas, se cortan las manchas en porciones iguales para cada una de las muestras, se raspan de la placa (en pesadas iguales) y se transfieren cuantitativamente a matraces aforados de 10 ml.- A cada uno de los matraces se le añaden una solución de ácido clorhídrico 0.1N, hasta aforarlo, se agita la mezcla mecánicamente durante 30 minutos, transcurrido el tiempo, se decantan las soluciones y se mide la absorbancia de cada una de ellas a una longitud de onda de 276 nm, utilizando como blanco una solución de ácido clorhídrico 0.1N.

Cálculos:

$$\% = \frac{Ab_m}{Ab_p} \times \frac{C_p}{C_m} \times 100$$

Ab_m = Absorbancia de la muestra.

Ab_p = Absorbancia del patrón.

C_p = Concentración del patrón.

C_m = Concentración de la muestra.

7.3.- RESULTADOS

Para la adaptación del método por resina de intercambio iónico, para el tratamiento de lavado se utilizó agua deionizada.

En el método colorimétrico se adaptó la cantidad utilizada para la preparación de la muestra y la longitud de onda de la lectura al espectrofotómetro, ya que como se observa en la figura No. 3 no concuerdan las gráficas, la de referencia y la obtenida en el laboratorio.

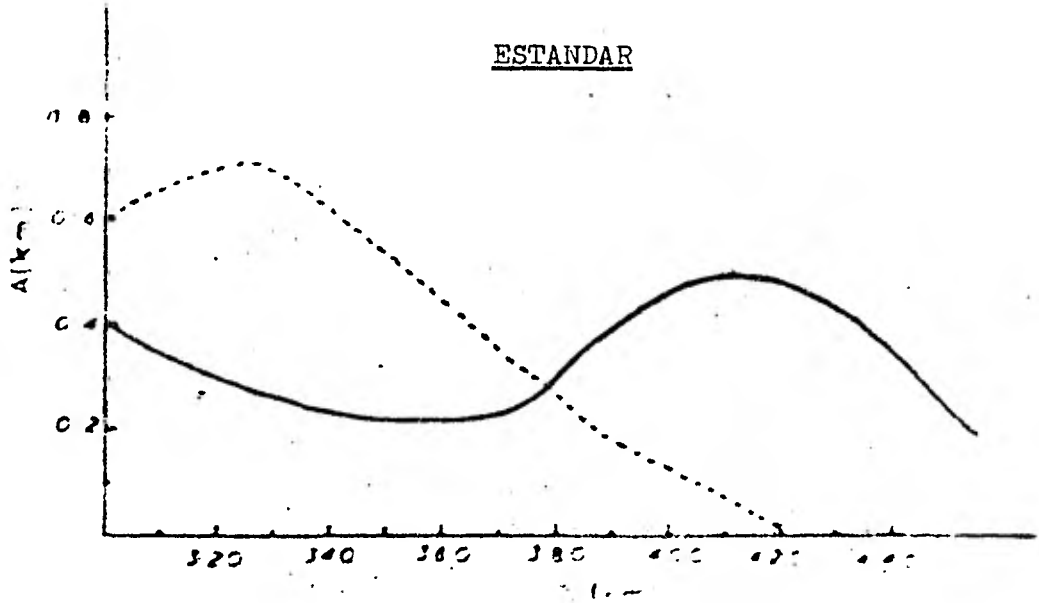
En la comparación de los 2 tipos de resina de intercambio iónico, la Amberlita I.R.A 410 y Amberlita I.R.A 402, se obtuvieron resultados aproximados al utilizar los 2 tipos de resina para un mismo lote. Tabla No. 1.

Amberlita I.R.A 410	Amberlita I.R.A 402
102.8 %	103.6 %
104.0 %	103.2 %
104.1 %	103.5 %
104.2 %	103.6 %
$\bar{x} = 103.77$	$\bar{x} = 103.47$
$s = 0.655$	$s = 0.189$

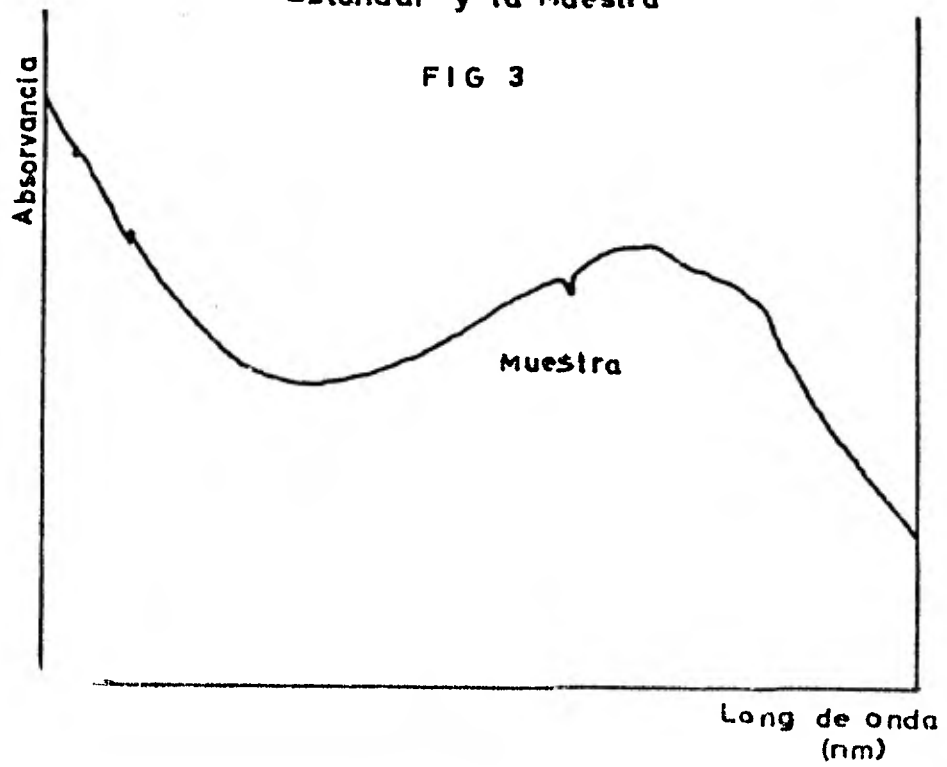
\bar{x} = Media

s = Desviación Estándar

Tabla No. 1



Comparacion de las Graficas del
Estandar y la Muestra

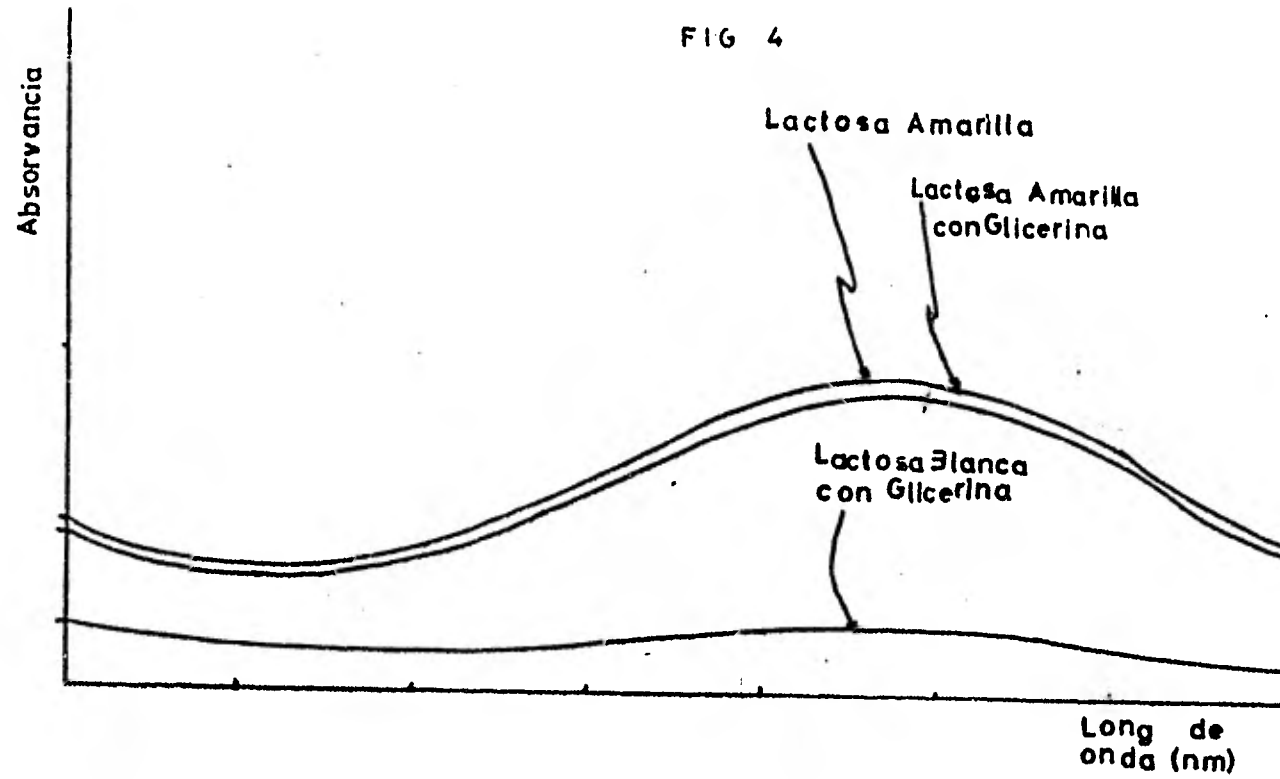


El estudio de interferencia de excipientes se realizó - con ambos tipos de resina de intercambio iónico, los resultados obtenidos son los siguientes:

El excipiente que interfiere principalmente es la lactosa, en la figura No. 4 la mayor interferencia se observó al utilizar lactosa amarilla que es parte de las tabletas de la marca comercial, en comparación con la lactosa blanca la --- cual provoca una interferencia menor. Esto da como consecuencia resultados altos en la cuantificación de las tabletas de Sulfato de Salbutamol.

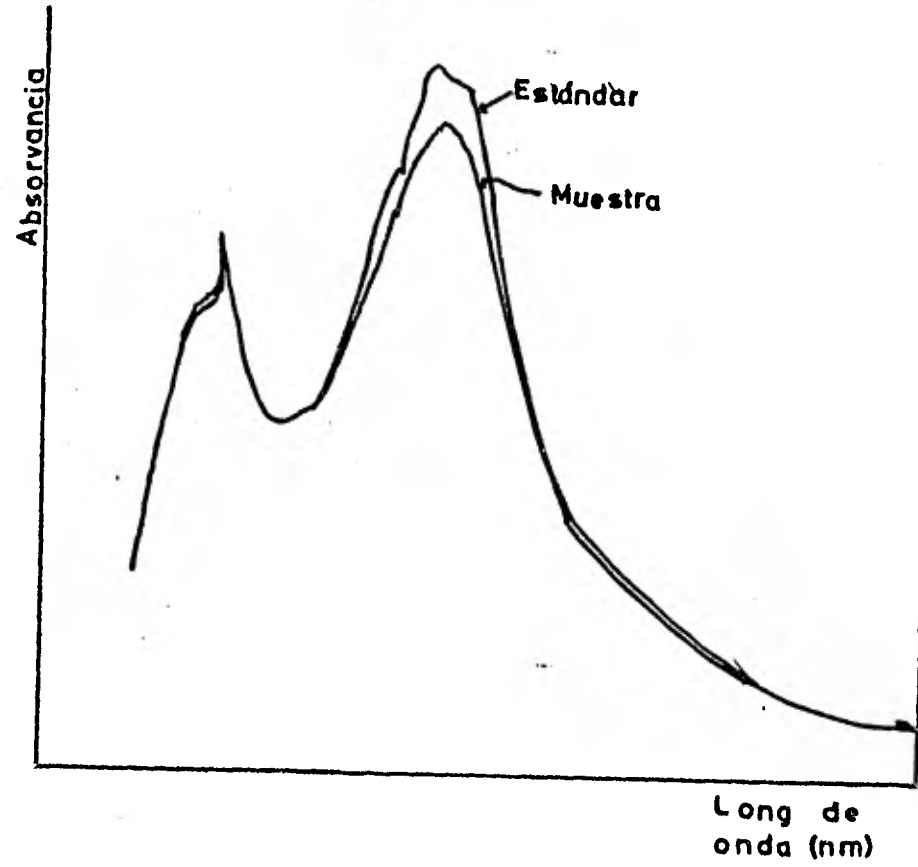
En la figura No. 4 se observan las lecturas obtenidas - de los dos tipos de lactosa después de haberse pasado por la resina de intercambio iónico.

En el método colorimétrico no se observa ningún tipo de interferencia debida a los excipientes que se encuentran en las tabletas; en la figura No. 5 se observan las gráficas obtenidas para el estándar y la muestra.



Lecturas de Lactosas Blanca y Amarilla

FIG 5



Lecturas del Método Colorimétrico

7.3.1.- Método Cromatográfico en Gel de Sílice.

Figura No. 6

1.- Mezcla de eluyentes: hidróxido de amonio- agua- alcohol isopropílico- acetato de etilo (4:16:30:50).

Reveladores: Vapores de yodo y luz ultravioleta, con esta luz no se observan las manchas de los excipientes.

Resultados:

Tiempo aproximado de elución: 2 horas.

Rf. Salbutamol base = 0.745

Rf. Sulfato de Salbutamol = 0.73

Rf. Muestra de tabletas = 0.744

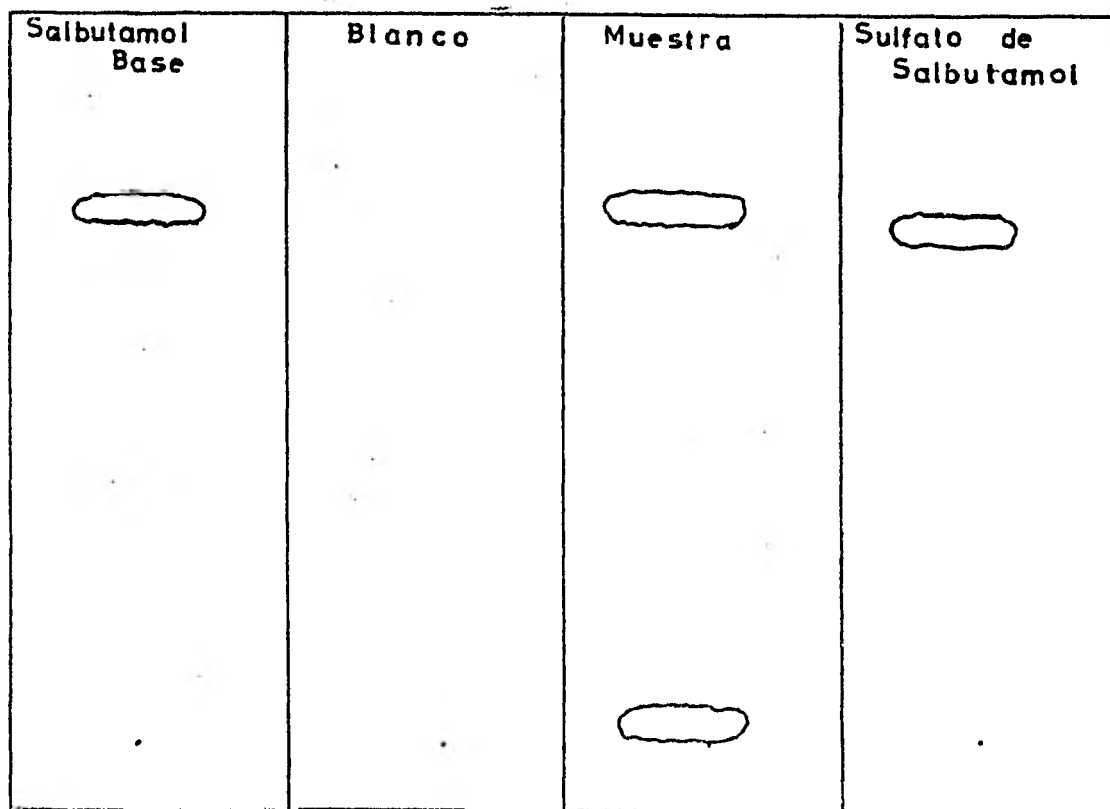


FIG. 6

Figura No. 7

2.- Mezcla de eluyentes: hidróxido de amonio- metanol (1:5).

Reveladores: Vapores de yodo y luz ultravioleta.

Resultados:

Tiempo aproximado de elución: 1 hora
 Rf. Muestra de tabletas = 0.80
 Rf. Salbutamol base = 0.81
 Rf. Sulfato de Salbutamol = 0.801
 Rf. Mezcla de Salbutamol base y Sulfato de Salbutamol. = 0.803


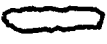

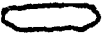
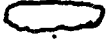
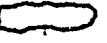
Sulfato de Salbutamol + Salbutamol Base	Muestra	Salbutamol Base	Exipientes	Sulfato de Salbutamol	Blanco
					
					

FIG. 7

Figura No. 8

3.- Mezcla de eluyentes: Acetona- acido acetico- agua (70:10:20).

Reveladores: Vapor de yodo y luz ultravioleta.

Resultados:

Tiempo aproximado de elucion: 2:30 horas.

Rf. Muestra de tabletas = 0.769 - 0.766

Rf. Salbutamol Base = 0.77

Rf. Sulfato de Salbutamol = 0.788

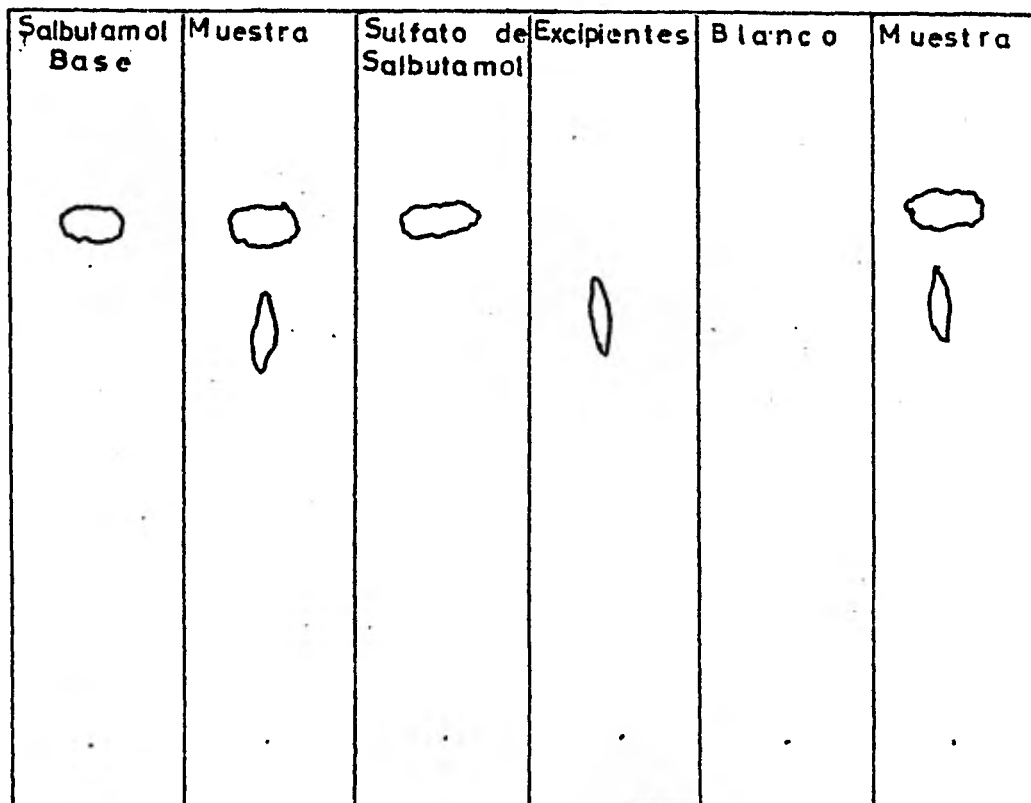


FIG. 8

4.- Mezcla de eluyentes: Croroformo- metanol (90:10).

Reveladores: Vapor de yodo y luz ultravioleta.

Resultados:

Ninguna de las muestras corrió en esta mezcla de eluyen
tes.

Figura No. 9

5.- Mezcla de eluyentes: hidróxido de amonio- metanol (1:
5).

Muestras: Excipientes separados y mezclados diluidos -
en agua destilada.

Reveladores: Vapores de yodo.

Grenetina	Avicel pH-102	Estearato Magnesio	Excipiente	Lactosa	Almidón	Bianco
			◊	◊		

FIG. 9

En la cromatografía en gel de sílice F 254 apareció una mancha sobre la del Salbutamol, como no se debía a ningún tipo de impurezas dentro de las muestras, se dedujo que era debida a la gel de sílice con fluorescencia; se cambió por una gel de sílice que no contenía fluorescencia, con lo cual ya no aparecieron estas manchas al ser reveladas con permanganato de potasio al 1%.

6.- Mezcla de eluyentes: Butanol- formaldehído- agua (12:1 :7).

Reveladores: Permanganato de potasio al 1 % en agua -- destilada.

Resultados:

Tiempo de elución aproximado: 4 horas

En esta mezcla de eluyentes las muestras no corrieron.

7.- Mezcla de eluyentes: Acetona- hidróxido de amonio (99: 1).

Revelador: Permanganato de potasio al 1% en agua destilada.

Resultados:

Tiempo de elución aproximado: 1 hora.

En esta mezcla de eluyentes las muestras no se separaron ni de los excipientes ni del origen.

Figura No. 10

8.- Mezcla de eluyentes: Hidróxido de amonio- metanol (1: 5).

Muestras: Las muestras de excipientes, tabletas, Sulfato de Salbutamol y Salbutamol base se diluyeron en solución de ácido acético 2N.

Reveladores: Vapores de yodo y luz ultravioleta.

Resultados:

Tiempo de elucion aproximado: 1:30 horas.

Rf. Muestra de tabletas = 0.52 - 0.51

Rf. Salbutamol Base = 0.54

Rf. Sulfato de Salbutamol = 0.56








Blanco	Muestra	Excipientes	Sulfato de Salbutamol	Muestra	Salbutamol Base
					
					

FIG. 10

7.3.2.- Método Cromatográfico en Celulosa Microcristalina.

Reveladores comprobados:

Ninhidrina en butanol.- No se observo ningun tipo de -
mancha.

Ninhidrina en acetona.- No se observo ningun tipo de -
mancha.

Ferricianuro de potasio en solución S.R de hidróxido de
sodio.- No se observo ningun tipo de -
mancha.

Permanganato de potasio al 1% en agua destilada.-
Se revelaron las muestras de -
Sulfato de Salbutamol y de los
excipientes.

Figura No. 11

1.- Mezcla de eluyentes: butanol- ácido acético- agua (4:1:
5).

Muestras: 2 muestras de Sulfato de Salbutamol de dife-
rentes laboratorios usados como referencia.

Revelador: Permanganato de potasio al 1% en agua des-
tilada.

Resultados:

Rf. Estandar 1 = 0.775

Rf. Estandar 2 = 0.78

Rf. Muestra = 0.75

Figura No. 12

2.- Mezcla de eluyentes: Butanol- ácido acético- agua (4:
1:5).

Muestras: Excipientes separados y mezclados.

Revelador: Permanganato de potasio al 1% en agua desti-
lada.

Debido a la aparición de manchas extrañas en las muestras de tabletas, se realizaron pruebas adicionales para saber a que se debían. Como otro de los excipientes es la glicerina, se considero que fuera la responsable de esas manchas. Se adicionaron pequeñas cantidades de ella y se obtuvo lo siguiente. Figura No. 12' .






Blanco	Estándar 1	Muestra	Estándar 2	Excipientes
				
				

FIG. 11

Lactosa	Almidon	Avicel pH-102	Blanco	Grenetina	Estearato Magnesio	Muestra	Estándar	Tabletas	Tabletas
						0	0	0 —	0 —
0	0	.	0	0

FIG. 12






















Excipiente + Glicerina	Muestra + Glicerina	Excipiente	Muestra	Estándar	Tabletas	Muestra + Glicerina	Excipiente + Glicerina	Tabletas	Blanco
	 		 		 	 		 	.
				.					.

FIG. 12'

Se trató de cuantificar el Salbutamol por medio de extracción de la placa, una vez revelada con fluoresceína, que al 2% forma parte del soporte de la placa; se extrajeron con 10 ml de una solución de ácido clorhídrico 0.1N; se agitó la mezcla mecánicamente durante 30 minutos, transcurrido el tiempo se centrifugó a 3500 r.p.m durante 30 minutos, y se obtuvo una concentración final de 10 mcg/ml.

Se obtuvieron los siguientes resultados.

Primera prueba.		Segunda prueba.	
Lectura a 276 nm.		Lectura a 276 nm.	
Estandar	1.- 0.050		0.097
Estandar	2.- 0.039		0.098
Muestra	1.- 0.044		0.126
Muestra	2.- 0.044		0.121

El estudio de la interferencia de los excipientes en el método de la resina de intercambio iónico se realizó por medio de cromatografía en capa fina, a continuación se demuestran los resultados.

Figura No. 13

Mezcla de eluyentes: Butanol- ácido acético- agua (4:1 :5).

Revelador: Permanganato de potasio al 1 % en agua destilada.

7.3.3.- Linealidad del método colorimétrico.

Para saber si este método cumplía la ley de Lambert y Beer se realizó el análisis del estándar de Sulfato de Salbutamol a diferentes concentraciones tales como: 8, 20, 40, 60, 80, 100 mcg/ml. Se obtuvieron los siguientes resultados. Tabla No. 2. y tabla No. 3.

En la figura No. 14 se trazo una gráfica para mostrar la linealidad del método colorimétrico.









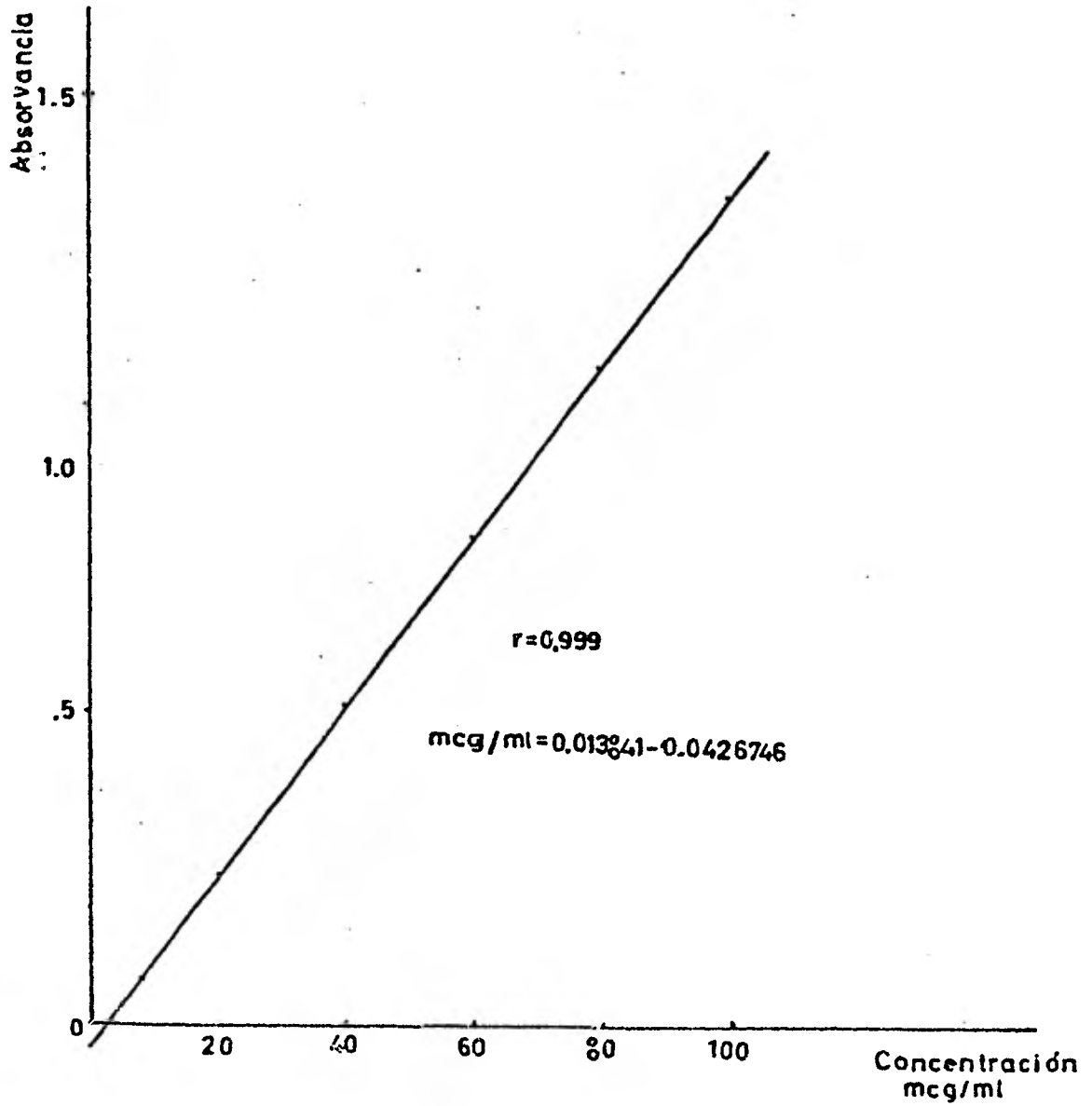
Blanco	Muestra	Estándar	Muestra Columna	Excipiente Columna.	Estándar Columna
					
					

FIG. 13

FIG. 14



Linealidad del Método Colorimétrico.

TABLA No. 2

Resultados de la linealidad del Método Colorimétrico.

Absorbancia Concentración mcg/ ml.	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
8	0.072	0.091	0.079	0.088
20	0.232	0.255	0.229	0.221
40	0.505	0.504	0.493	0.456
60	0.791	0.795	0.760	0.781
80	1.084	1.074	1.073	1.073
100	1.372	1.342	1.321	1.342

TABLA No. 3

Resultados Estadísticos de la Linearidad del Metodo Colorimetrico.

Variables. Concentracion. mcg/ml.	Valor Medio de "y".	Intervalo de Confianza.		s*
		95%	90%	
8	0.068	± 0.013	± 0.011	0.00866
20	0.234	0.011	0.009	0.0146
40	0.511	0.008	0.007	0.0229
60	0.788	0.008	0.007	0.0156
80	1.065	0.011	0.009	0.00235
100	1.342	0.014	0.012	0.0209

* = Desviacion Estandar

m = 0.013841

b = - 0.0426746

r² = 0.9983418

r = 0.9991706

7.3.4.- Resultados de los dos Metodos de Analisis y su -
Estudio Estadistico.

Los resultados obtenidos en los dos tipos de analisis tanto el colorimetrico como el de resina de intercambio ionico, para cada uno de los cinco lotes se muestran en la tabla No. 4.

En la tabla No. 5 se muestra la evaluacion estadistica de cada uno de los lotes analizados por los dos metodos de analisis.

La comparacion de los dos metodos se muestran en las tablas No. 6, 7, 8 y 9, para encontrar si los dos metodos son estadisticamente equivalentes en la determinacion cuantitativa del Sulfato de Salbutamol en tabletas.

TABLA No. 4

Resultados de los Métodos, de Resina de Intercambio Iónico y Colorimétrico.

<u>Método Colorimétrico.</u>						<u>Método de Resina de Intercambio Iónico.</u>				
<u>No. de Lote.</u> <u>% de Muestra.</u>	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
	100.5	100.9	99.59	101.3	99.34	102.6	102.8	101.9	102.8	101.9
	99.16	100.1	99.59	102.1	100.63	102.9	102.8	102.2	103.6	103.9
	99.16	101.2	100.5	100.4	99.59	102.5	102.8	103.5	102.2	103.6
	100.8	101.2	100.5	100.8	99.13	103.1	102.5	103.5	102.2	101.1
	99.4	100.8	99.24	100.4	100.86	102.2	103.4	102.2	102.5	102.3
	100.4	102.9	100.4	102.0	101.51	101.4	103.6	103.6	103.0	103.5

TABLA No. 5

Evaluación Estadística de los Datos por Lote y por Método.

No. de Lote. Variables.	<u>Método Colorimétrico</u>					<u>Método de Resina de Intercambio Iónico.</u>				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
\bar{x}^*	99.9%	101.2%	99.97%	101.16%	100.24%	102.45%	102.98%	102.81%	102.7%	102.7%
s^{**}	0.744	0.933	0.56	0.76	0.922	0.602	0.421	0.795	0.538	1.11

* = Media

** = Desviación Estándar.

TABLA No. 6

Comparación de los Resultados Estadísticos de Ambos Métodos.

Variables* Métodos.	N	\bar{x}	s	Es	LC**	Ic**	r	LC***	Ic***
Método Colg rimétrico.	30	100.494	0.9379	0.1712	100.144 μ <100.844	0.35	0.999	100.022 μ <100.966	0.472
Método de - Resina.	30	102.728	0.7058	0.1288	102.465 μ <102.991	0.263	---	102.373 μ <103.083	0.355

* = N = Número de datos
 \bar{x} = Media
s = Desviación Estándar
Es = Error Estándar
LC = Limite de Control
Ic = Intervalo de Confianza

* r = Coeficiente de Correlación Lineal.
 μ = Media Poblacional
** Con nivel de probabilidad de 0.99
*** Con nivel de probabilidad de 0.95.

TABLA No. 2

Análisis de Varianza de Ambos Métodos.

* FV	MC	g.l	F	$F_{0.99}$	$F_{0.999}$	$F_{0.975}$	$F_{0.95}$
Metodo	4528.8	1	85.168	21.20	74.14		
Lote	105.375	4	2.98			12.22	7.71
Metodo x Lote	53.175	4	1.5				
Error	35.268	50					

59

- * FV = Fuente de variación.
- MC = Media cuadrática.
- g.l = Grados de libertad.

Si $F > F_{1-\alpha}$ se concidera que hay una diferencia significativa.

TABLA No. 8

Análisis Estadístico de la Precisión de Ambos Métodos.

H ₀	H ₁	Estadigrafo de Contraste.	F	F _{0.95}	F _{0.975}
$\frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2} = 1$	$\frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2} \neq 1$	$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$	1.76	1.85	2.09

Si $F < F_1$ se concidera que los metodos son igual de precisos.

TABLA No. 2

Análisis Estadístico de la Exactitud de Ambos Métodos.

Ho	H ₁	Estadigrafo de Contraste.	t	t _{0.95}	t _{0.999}
$\mu_1 - \mu_2 = 0$	$\mu_1 - \mu_2 \neq 0$	$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$	10.42	1.67	3.4

Si $t < t_1$ se acepta que los metodos son igual de exactos.

8.- DISCUSION

8.1.- Comparación de los dos tipos de Resina.

De acuerdo a los resultados obtenidos al analizar un lote con los dos tipos de resina, se observa que sus medias son muy cercanas, por lo cual se sustituyo la resina de intercambio iónico Amberlita I.R.A 410 establecida oficialmente, por la resina de intercambio iónico Amberlita I.R.A 402 la cual no es oficial, no es de importación y su costo es menor, por lo que para el análisis de los lotes se utilizó la resina de intercambio iónico Amberlita I.R.A 402.

8.2.- Estudio de Interferencia de Excipientes.

Se encontró que el único excipiente que interfiere de los que constituyen las tabletas de Sulfato de Salbutamol de la marca comercial es la lactosa, ya sea blanca o amarilla figura No. 4, detectando esta interferencia principalmente en el método de resina de intercambio ionico, comprobándose por cromatografía en capa fina figura No. 13, ya sea en soporte de gel de sílice o celulosa microcristalina.

En el método colorimétrico se encontró que ninguno de los excipientes que forman parte de la tableta interfieren en la cuantificación del Salbutamol, por lo que este método es más selectivo que el de resina de intercambio iónico.

8.3.- Desarrollo de la Cromatografía en Capa fina en Gel de Sílice.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se determinó -- que el soporte de gel de sílice es adecuado para la detección del Salbutamol, pero inadecuado para la detección de ciertos excipientes, en este caso la glicerina, otro inconveniente del soporte de gel de sílice es la mancha que aparecía hasta en el blanco, y que se podría deber a la fluo --

-rescencia que contenían las placas ya que en las que no -- contenían fluorescencia no aparecían estas manchas al ser -- reveladas con permanganato de potasio al 1%.

La mezcla de eluyentes que fueron adecuados para la se -- paración del Sulfato de Salbutamol de los excipientes son -- los siguientes:

Hidróxido de amonio- agua- alcohol isopropílico- aceta -- to de etilo (4:16:30:50). (9) Figura No.6.

Hidróxido de amonio- metanol (1:5), con las muestras -- diluidas en agua destilada. Figura No. 7

Con la mezcla de acetona- ácido acético- agua (70:10: -- 20), se observa que la separación no es muy adecuada -- ya que las manchas de los excipientes se encuentran -- muy cerca de las del Salbutamol, además de que su tiem -- po de elución es mayor que los anteriores, figura No. 8.

Con la mezcla de eluyentes de hidróxido de amonio- me -- tanol (1:5), pero con las muestras diluidas en solu -- ción de ácido acético 2N su corrimiento no fue adecua -- do, figura No.10.

Como reveladores se pueden utilizar vapores de yodo, -- con los cuales se detectan los excipientes, con luz ul -- travioleta si la placa contiene fluorescencia con ésto sólo se detectan las manchas del Salbutamol, o también utilizando permanganato de potasio al 1% en agua desti -- lada con lo cual se observan los excipientes y las man -- chas del Salbutamol.

8.4.- Desarrollo de la Cromatografía en Capa fina en Celu -- losa Microcristalina.

Este soporte para la cromatografía en capa fina del -- Sulfato de Salbutamol es adecuada para la separación de es -- te de los excipientes, tales como la lactosa y la glicerina, detectándose fácilmente al revelarse con permanganato de po -- tasio al 1%. Su corrimiento fue a una altura adecuada para su detección.

Por lo que respecta a la cuantificación de la cromatografía por extracción, se obtuvieron datos no muy confiables ya que la diferencia entre una prueba y otra fue muy grande, pero para determinar si funcionaba o no faltaron pruebas y análisis cuantitativos de ésta.

8.5.- Comparación Estadística de Ambos Métodos.

De acuerdo al análisis de resultados de la tabla No. 4 se deduce que el método colorimétrico es más exacto que el método de resina de intercambio iónico.

En el estudio comparativo de métodos, mediante el análisis de varianza tabla No. 7, se puede observar que la diferencia entre métodos es altamente significativa, de donde se puede concluir que los métodos son diferentes para la cuantificación de Sulfato de Salbutamol en tabletas.

La variación entre lotes, no fue significativa por lo cual se deduce que no hay variación entre lotes, de aquí -- que estos no influyen en el método.

Con respecto a la exactitud, el análisis de la tabla No. 9 nos muestra que los datos son altamente significativos, por lo que no presentan la misma exactitud los dos métodos de análisis.

En la precisión el análisis de los datos de la tabla No. 8, se deduce que los valores no son significativos de lo cual se concluye que ambos métodos presentan la misma -- precisión.

8.6.- Linearidad del Método Colorimétrico.

La figura No 14 nos demuestra que el método colorimétrico se comporta linealmente entre los límites de concentraciones utilizadas lo cual nos indica que sigue la ley de Lambert y Beer.

9.- CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados es claro establecer que se cumplierón. Los dos métodos desarrollados, el de Resina de intercambio iónico y el colorimétrico con cobaltin nitrito de sodio, para la cuantificación del Sulfato de Salbutamol en tabletas, son estadísticamente diferentes; el método de resina de intercambio iónico da resultados diferentes con respecto a los datos esperados, debido a la interferencia que esta provocando la lactosa.

Se comprobó que ambos métodos son precisos pero presentan diferentes exactitudes por lo que se concideró que solo el método colorimétrico es específico, comportandose linealmente en el nivel de concentraciones probadas.

Se concluye que se puede utilizar el método colorimétrico (cobaltin nitrito de sodio) para la cuantificación del Sulfato de Salbutamol en tabletas por sencillo y de corto tiempo de análisis, en comparación con la tecnica oficial.

La sustitución de la Resina Amberlita I.R.A 410 por otra de características similares, se llevo a cabo con la Amberlita I.R.A 402, que funciona en la misma forma que la Amberlita I.R.A 410 en la cuantificación del Sulfato de Salbutamol en tabletas, con la ventaja de que esta es de menor costo y no es de importación.

Por lo que se concluye que esta resina es la adecuada para sustituir la resina descrita oficialmente en la cuantificación del Sulfato de Salbutamol en tabletas, considerandose la interferencia de los excipientes.

Se logró la implementación del método de cromatografía en capa fina para la determinación cualitativa de las tabletas de Sulfato de Salbutamol.

En estos métodos se utilizó como soportes, celulosa microcristalina y gel de sílice y como medios reveladores -

luz ultravioleta y solución acuosa de permanganato de potasio al 1%.

De los resultados se concluye que el método adecuado es el que usa la celulosa microcristalina por observarse -- mejor la separación de las muestras.

10.- PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

- 1.- Optimización del método de cromatografía en capa fina para la detección de productos de degradación en estudios de estabilidad para diferentes formas farmacéuticas del Sulfato de Salbutamol.
- 2.- Diseño de un método de cromatografía de gases para el análisis del Sulfato de Salbutamol y de sus productos de degradación, en cualesquiera de las formas farmacéuticas utilizadas en el mercado.
- 3.- Implementación del método de resina de intercambio iónico con la Amberlita I.R.A 402 para la cuantificación de Sulfato de Salbutamol en jarabe.

11.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Martindale. The Extra Pharmacopoeia 1978. Twenty Seventh Edition.
- 2.- Goodman L.S and Gilman A. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Sixth Edition. 1980
- 3.- Archie F. Wilson and Joseph J. Mc. Phillips. Annual Revision Pharmacol Toxicol 1978 18: 541- 561. Pharmacological Control of Asthma.
- 4.- The Pharmaceutical Codex 1979 Eleventh Edition. The Pharmaceutical Press pag. 799- 801.
- 5.- Sven Larsson and Nils Svedmyr. American Review of -- Respiratory Disease. 116 (5) pag. 861- 869 Nov. 1977. Different Modes of Administration (tablets, Metered Aerosol and combination there of.)
- 6.- Remington.
- 7.- Merk Index.
- 8.- G.C. Clarke 1975 Vol. 2 pag. 1095. Isolation and Identification of Drug.
- 9.- British Pharmacopoeia 1973 pag. 415- 416.
- 10.- British Pharmaceutical Codex 1973 pag. 433.
- 11.- British Pharmacopoeia 1980 pag. 819- 820.
- 12.- Olof Samuelson. Ion Exchangers in Analytical Chemistry. John Wiley and Sons. inc. N.Y. 1953.
- 13.- Technical Bulletin Fluid process Chemical. Rohm and Haas. Amberlita I.R.A 402 Technical notes - 1980.
- 14.- Technical Bulletin Fluid process Chemical. Rohm and Haas. Amberlita I.R.A 410. 1976.
- 15.- Abdel- Aziz M. Wahbi, Hassan Abdine, Mohamed Korany and Mohamed H. Abdel-Hay. Journal Association off - Anal. Chem. Vol. 61, No. 5, 1978. Sodium Cobaltini - trite as a Reagent for determining some Phenolic --- Drug.
- 16.- Jerry March. Advanced Organic Chemistry. Second Edition. Mc. Graw - Hill. International Student Edition 1977.

- 17.- B.P. Wall and B. Sunderland, Aust J. Hosp. Pharm. Vol. 6 No. 4, 1976. pag. 156- 160. A preliminary Study on the Stability of Salbutamol in Aqueous Solution.
- 18.- Vittum P.W. and Brown G.H. 1946. Journal of the American Chemical Society. 68, pag. 2235- 2239. Indoaniline Dye. Some Phenol Blue Derivatives with Substituents in the Phenol Ring.
- 19.- Vittum P.W. and Brown G.H. 1947. Journal of the American Chemical Society. 69, pag. 152- 155. Indoaniline Dye. The effect of Multiple Substitution on the Absorption of Phenol Blue.
- 20.- Vittum P.W. and Brown G.H. 1949. Journal of the American Chemical Society. 71, pag. 2287- 2290. Indoaniline Dye. Coupling of para- Substituted Phenols with oxidized p- Amino dimethyl aniline.
- 21.- Higuchi Takeru. Analysis Pharmaceutical.
- 22.- Connors Kenneth 1975. Textbook of Pharmaceutical Analysis.
- 23.- L.B. Hakes, T. C. Corby and B.J. Meakin. Journal Pharmacy and Pharmacology Vol. 31 Suppl. Index 1979. The Stability of Salbutamol Solution.
- 24.- N.H. Choulis and C.E. Carey. Journal of Pharmaceutical Science. Vol. 57, No. 6 Jun. 1968. Quantitative Thin Layer Chromatography of Simpatomimetic Amines.
- 25.- M.L. Wolfrom D.L. Patin and Rosa M. of Lederkremer. Journal of Chromatography. 17 (1965) pag. 488- 494. Thin Layer Chromatography on Microcristalline Cellulose.
- 26.- Stahl. E. Thin Layer Chromatography A. Laboratory -- Handbook. Academic Press Inc. N.Y. 1965.