



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

METODOLOGIA ANALITICA Y ESTABILIDAD
DE BENZOCAINA Y CLORURO DE
CETILPIRIDINIO EN PASTILLAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
AMPARO CHARVEL GAOS

México, D. F.

1989

FALLA DE ORIGEN



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 está 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.

INDICE

Capitulo:	página:
I. INTRODUCCION	1
II. GENERALIDADES	
A. Anestésicos Locales	2
B. Antisépticos	6
C. Monografías:	
C.1. Benzocaína	9
C.2. Cloruro de Cetilpiridinio	17
D. Preformulación	24
D.1. Estabilidad	25
D.2. Compatibilidad	33
E. Pastillas	34
E.1. Pastillas de Caramelo Duro	35
E.2. Pastillas Comprimidas	36
F. Cromatografía	39
F.1. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución	41

G.	Validación de Métodos Analíticos	45
III. PARTE EXPERIMENTAL		
A.	Desarrollo y Validación de los Métodos Analíticos	51
A.1.	Determinación de Benzocaina por CLAR ..	52
A.2.	Determinación de Cloruro de Cetilpiridinio por CLAR	83
A.3.	Identificación de Anilina por CLAR	111
B.	Estabilidad	115
B.1.	Estabilidad de Benzocaina	115
B.2.	Estabilidad de Cloruro de Cetilpiridinio	118
B.3.	Compatibilidad Benzocaina-Excipientes ..	120
B.4.	Estabilidad del Producto	124
IV.	RESULTADOS	124
V.	DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES	180
VI.	BIBLIOGRAFIA	186

VII. ANEXOS

Anexo No. 1 :	Regresión Lineal	190
Anexo No. 2 :	Estudio de Paralelismo por Distribución t-Student	194

I. INTRODUCCION

En el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos, es de primordial importancia efectuar las determinaciones que permitan establecer la estabilidad de los principios activos que se encuentran presentes en sus formulaciones, además establecer las condiciones de almacenaje que permitan que, a través del tiempo y en un contenedor específico, se conserven óptimamente las características físicas, químicas, microbiológicas y toxicológicas de dichos productos.

Tradicionalmente, en los estudios convencionales de estabilidad se evalúa la estabilidad química del producto, realizando pruebas aceleradas, en las cuales se somete éste a condiciones extremas de temperatura, humedad, luz y pH con el fin de conocer los mecanismos de degradación de los fármacos, la compatibilidad tanto de los principios activos entre sí, como de éstos con los excipientes, y establecer, utilizando la ecuación de Arrhenius, el t_{90} o la vida de anaquel de el producto en evaluación.

Ahora bien, para realizar cualquiera de éstos estudios se requiere contar con métodos analíticos confiables, es decir, que se puedan realizar determinaciones cualitativas y cuantitativas no sólo exactas y precisas, sino libres de cualquier tipo de interferencias que puedan deberse a los excipientes presentes en las formulaciones, a los posibles productos de degradación, y/o a sustancias relacionadas o impurezas provenientes de la síntesis

del fármaco.

Desde luego, para poder desarrollar un método analítico se requiere, ante todo, conocer las propiedades fisicoquímicas de los principios activos que forman parte del producto y las características inherentes a la técnica analítica que se haya elegido; luego, realizar una correcta interpretación de los valores obtenidos mediante dicha técnica para cada uno de los parámetros de la validación del método. Una de las técnicas analíticas que permiten desarrollar métodos confiables y altamente específicos es la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).

En este trabajo se presentan el desarrollo y la validación de los métodos para cuantificar, por CLAR, benzocaína y cloruro de cetilpiridinio, ya sea como materias primas o como activos en diferentes formulaciones de pastillas, y para determinar la presencia de anilina, de la cual, como uno de los productos de degradación de la benzocaína en estado sólido, no se encuentra referencia alguna en la literatura especializada.

Así mismo, se presentan los estudios comparativos de estabilidad de la benzocaína y el cloruro de cetilpiridinio como materias primas, en estado sólido y en solución, los estudios de compatibilidad fármaco-fármaco y benzocaína-excipientes y los estudios de estabilidad de distintas formulaciones de pastillas, fabricadas por compresión directa, conteniendo estos dos principios activos.

II. GENERALIDADES

A. ANESTISICOS LOCALES (1, 2, 3)

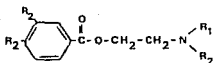
Los anestésicos locales son fármacos que se emplean para producir pérdida reversible de la sensibilidad en la zona del cuerpo donde se aplican. Este efecto lo logran al bloquear la conducción a lo largo de la fibra nerviosa (sea ésta sensitiva, motora o autónoma) y al impedir que el órgano sensorial inicie un impulso aferente. Las propiedades que tendría un anestésico local ideal son:

- Tener acción selectiva sobre las terminaciones nerviosas.
- Inhibir las estructuras nerviosas sin excitación previa.
- No causar irritación en el tejido en donde se aplique, ni lesión alguna a la estructura del nervio.
- No ocasionar reacciones tóxicas sobre el sistema nervioso central ni sobre otros órganos.
- No provocar farmacodependencia.
- No dar lugar a reacciones de hipersensibilidad.
- Debe absorberse poco desde el sitio de aplicación, lo cual disminuye su toxicidad y acentúa la acción anestésica local.
- Ser eficaz al inyectarse en tejido y al aplicarse en piel y mucosas.
- Su efecto debe comenzar rápidamente y tener una duración que permita realizar una intervención quirúrgica, pero no debe ser permanente.
- Ser soluble.
- Ser estable en solución.

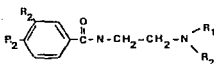
- Ser compatible con la adrenalina, lo cual permitiría la asociación entre ambos, presentándose una vasoconstricción local y una disminución en la absorción del anestésico local.

Para que un anestésico local consiga bloquear la conducción de una fibra nerviosa debe penetrar en ella; por lo tanto, debe ser lo suficientemente hidrosoluble para difundir en el líquido intersticial que lo rodea, y liposoluble para penetrar a través de la membrana nerviosa, rica en lípidos. En esta forma la velocidad de penetración en la fibra nerviosa depende de la naturaleza química del fármaco, de su concentración y del tipo de fibra.

La estructura química de un anestésico local se encuentra constituida por una porción aromática, una cadena intermedia y una porción aminica. La porción aromática confiere propiedades lipofílicas a la molécula, mientras que la porción aminica le proporciona características hidrofílicas. La unión entre el grupo intermedio y la porción aromática es un enlace amida, o una unión éster.



Anestésico local con unión tipo éster.



Anestésico local con unión tipo amida.

Figura No. 1 Estructura de los anestésicos locales, donde:
 R = grupo alquílico y R = grupo alquílico o
 1 2
 hidrógeno.

Las modificaciones en cualquier parte de la molécula alterán la potencia anestésica y la toxicidad del compuesto. De acuerdo a la unión que se presente entre el grupo intermedio y la porción aromática, los anestésicos locales se clasifican de la siguiente forma:

1. Esteres del ácido benzoico: Cocaina, Tetracaina.
2. Esteres del ácido meta-aminobenzoico: Ciclotetacaina, Metabutoxicaina.
3. Esteres del ácido para-aminobenzoico: Procaína, Benzocaina, Butetamina.
4. Amidas: Lidocaina, Dibucaina.

Los grupos éster o amida de la molécula del fármaco establecen las características de su metabolismo, los ésteres son casi completamente hidrolizados en el plasma por la pseudocolinesterasa. Los grupos amídicos se metabolizan en una forma más compleja, son degradados por los microsomas hepáticos, presentándose en primer término reacciones de N-desalquilación y posteriormente de hidrólisis.

Los ésteres del ácido para-aminobenzoico, que carecen del grupo amino terciario o secundario, presentan una baja solubilidad en agua y, por lo tanto, se absorben muy lentamente, son relativamente no tóxicos, pueden aplicarse directamente en heridas o en superficies ulceradas y su acción es prolongada.

Los anestésicos locales del tipo éster presentan mayores reacciones de hipersensibilidad que los de tipo amídico, que en general carecen de este problema.

B. ANTISEPTICOS (1, 2, 3)

Los antisépticos son fármacos que se aplican a tejidos vivos con el fin de que los microorganismos presentes en ellos se vuelvan inocuos, ya sea matándolos o inhibiendo su desarrollo. Su acción depende de la concentración, de la temperatura y del tiempo de exposición. Un antiséptico ideal presentaría las siguientes propiedades:

- Ser letal para todo microorganismo.
- Ser eficaz en presencia de materia orgánica.
- Tener un poder de penetración conveniente en las grietas y cavidades de los tejidos.
- Tener una tensión superficial baja aún en soluciones muy diluidas.
- Ser soluble.
- Ser químicamente estable.
- No causar lesiones a los tejidos donde sea aplicado.

Los mecanismos de acción de los antisépticos sobre los microorganismos pueden ser los siguientes:

- a) Precipitación y desnaturalización de las proteínas del protoplasma.
- b) Combinación con grupos sulfhidrilos y, por lo tanto, inhibición de las enzimas bacterianas.
- c) Oxidación de los constituyentes bacterianos, especialmente enzimas.
- d) Combinación con grupos amino de las proteínas bacterianas.

- e) Combinación con grupos ácidos y básicos del protoplasma bacteriano, especialmente nucleoproteínas.
- f) Alteración de la permeabilidad en la membrana celular de las bacterias.

Cualquiera que sea el mecanismo de acción de los antisépticos, el proceso nunca es instantáneo, sino gradual, la caída del número de microorganismo sobrevivientes es rápida al principio, pero luego se vuelve lenta.

Por su estructura química, los antisépticos se clasifican de la siguiente forma:

1. Antisépticos inorgánicos:

- a. Halogenados: yodo, cloro y derivados.
- b. Antisépticos oxidantes: sulfitos, metasulfitos de sodio o potasio.
- c. Metales pesados: compuestos de mercurio, de plata, de zinc o de cobre.
- d. Ácidos inorgánicos: ácido bórico.

2. Antisépticos orgánicos:

- a. Alcoholes: alcohol etílico.
- b. Aldehídos: formaldehído y derivados.
- c. Ácidos orgánicos: ácido mandélico y derivados.
- d. Derivados fenólicos: timol, hexilresorcinol, hexaclorofeno.
- e. Surfactantes aniónicos: jabones.
- f. Surfactantes catiónicos: compuestos de amonio cuaternario (cloruro de cetilpiridinio).
- g. Aceites esenciales y derivados: mentol.

h. Colorantes antisépticos.

i. Nitrofuranos: nitrofurazona.

j. Antisépticos diversos: lisostafina.

ANTISEPTICOS TOPICOS

Los ácidos inorgánicos, los surfactantes catiónicos, los aceites esenciales, los colorantes antisépticos, los nitrofuranos y la lisostafina se emplean como antisépticos tópicos en las mucosas, por su acción no irritante sobre los tejidos, y la mayoría de las veces se emplean como bacteriostáticos.

Surfactantes catiónicos:

Se caracterizan por tener un grupo hidrofílico de carga positiva. Los principales fármacos de este grupo son todos sales de amonio cuaternario, cuyo anión es un cloruro o un bromuro. En muchos de los casos, los cuatro átomos de hidrógeno del grupo amonio están remplazados por una cadena alquímica larga (que constituye la parte hidrofílica del compuesto), un grupo aromático alquilsustituido corto y dos grupos cortos (metilos). Estos surfactantes son potentes antisépticos que actúan sobre bacterias grampositivas y gramnegativas, hongos, protozoarios y virus, pero no actúan sobre las esporas.

C. MONOGRAFÍAS

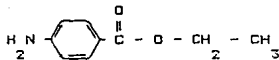
C.1 BENZOCAINA

- Nombres químicos y sinónimos: (7)

. 4-aminobenzoato de etilo, p-aminobenzoato de etilo.

. Americaina, Anestesia, Anestona, Aetoforno, Ortesina, Paratesina.

- Fórmula desarrollada: (7, 13)



- Fórmula molecular: (7)



- Peso molecular: (7)

165.19

- Descripción: (7, 11, 13)

Cristales incoloros o polvo cristalino blanco, inodoro, con sabor ligeramente amargo y adormecedor.

- pKa: (12)

2.49

- Solubilidad: (4, 7, 12, 14)

Prácticamente insoluble en agua, soluble en 8 partes de etanol al 96 por ciento, en 2 partes de cloroformo, en 4 partes de éter y en 50 partes de aceite de olivo, con calentamiento ligero. Soluble en ácidos minerales diluidos.

- Temperatura de fusión: (4, 7)

Entre 88°C y 92°C; el intervalo entre el principio y el final de su fusión no debe de exceder de 2°C.

- Ensayos de identidad:

a. Disolver 1.0 g en 100 ml de alcohol neutro, hasta obtener una solución clara; diluir esta solución con 10 ml de agua y añadir 2 gotas de solución indicadora de fenolftaleína y una gota de solución 0.1 N de hidróxido de sodio; se produce una coloración roja. (6)

b. Cromatografía en capa delgada. (4)

- Sistema: Placa de 20 x 20 cm, con una capa de 0.25 mm de espesor de gel de sílice G, desecada a 110°C por una hora.

- Muestra: 1.0 ml de una solución al 1 por ciento en solución 2 N de ácido acético.

- Sistema de solventes: Solución concentrada de hidróxido de amonio - metanol (1.5 : 100).

- Revelado: Con solución ácida de yodoplatinato (disolver 250 mg de cloruro de platino y 5 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua, añadir 2 ml de ácido

clorhídrico concentrado) o con solución de p-dimetilaminobenzaldehído (disolver 1.0 g de p-dimetilaminobenzaldehído en 100 ml de etanol y añadir 10 ml de ácido clorhídrico R.A.).

- Rf: 0.73

q. Espectro en el Infrarrojo (de una dispersión en bromuro de potasio): (4)

Presenta los siguientes máximos: 1280, 1598 ó 1680 y

-1
1170 cm⁻¹.

- Ensayo de pureza:

. Secado sobre pentóxido de fósforo, durante 3 horas, contiene no menos del 98.0 por ciento y no más del 101.0 por ciento de

C H N O . (6)
9 11 2

a. Acidez o alcalinidad: Diluir 5 ml de una solución al 10 por ciento (m/v) en etanol al 96 por ciento con 10 ml de agua y añadir 0.05 ml de solución indicadora de fenolftaleína; no se produce coloración rosa. Añadir 0.5 ml de una solución 0.01 M de hidróxido de sodio; la solución desarrollará un color rosa. (8)

b. Claridad de la solución: 10 ml de una solución al 10 por ciento (m/v) en alcohol al 96 por ciento es clara. (8)

c. Sulfatos: No más del 0.1 por ciento. (8)

d. Residuo de la ignición: No más del 0.1 por ciento. (8)

e. Pérdida por secado: Sobre pentóxido de fósforo, durante 3

horas, pierde no más del 1 por ciento de su peso. (6, 8)

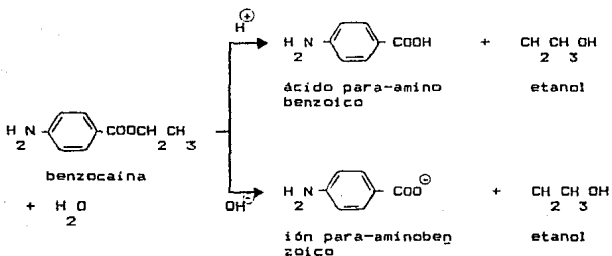
f. Metales pesados: No más del 0.001 por ciento. (6)

g. Cloruros: A una solución de 200 mg en 5 ml de alcohol, previamente acidulado con solución de ácido nítrico concentrado, añadirle unas gotas de nitrato de plata; no debe producirse turbidez inmediatamente. (3)

- Estabilidad: (11, 12)

Estable al aire. La reacción que más contribuye a la inestabilidad de la benzocaina es la hidrólisis del grupo éster, cuyos productos son el ácido para-aminobenzoico y el etanol.

Hidrólisis de la Benzocaina



El perfil completo de pH para la benzocaina no ha sido establecido (12). La hidrólisis alcalina tiene como punto importante la catálisis básica específica, a pH arriba de 9,

donde su constante a 30°C es de 6.31×10^{-8} seg, que corresponde a una vida media de 127 días.

El único medio para inhibir la hidrólisis es evitar su contacto con el agua, alcalis o ácidos.

- Compatibilidad: (11, 12, 15, 16)

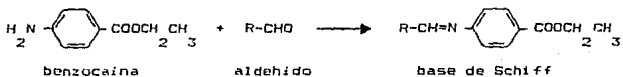
Para intentar la estabilización de las soluciones acuosas de benzocaina, se puede usar la complejación y micelización. Los compuestos con los cuales se ha demostrado (12) que la benzocaina puede formar complejos son: la cafeína y la β -ciclodextrina; mientras que en el proceso de micelización se pueden emplear surfactantes iónicos y no iónicos. Estudios con polivinilpirrolidona y derivados, urea y derivados, dimetilacetamida y polietilenglicol indicaron un retraso en la hidrólisis de la benzocaina.

En las pastillas que contienen benzocaina, tres de los excipientes más comunes, el ácido cítrico, el almibar de maíz y el sabor natural de cereza, promueven la degradación de la benzocaina. En contraste con la hidrólisis del éster, la degradación presente con estos compuestos está reportada como la del grupo amino primario aromático de la benzocaina. Los resultados de esta interacción se traducen en la pérdida del efecto anestésico.

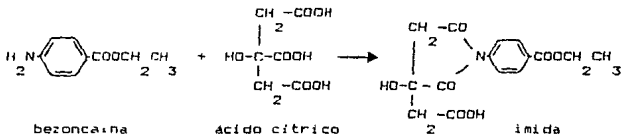
La benzocaina es extremadamente reactiva con los componentes aldehídicos de los azúcares reductores, sabores (sabor limón) y agentes acidulantes, al promoverse su degradación vía la

reacción de formación de bases de Schiff.

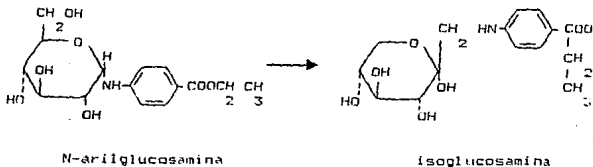
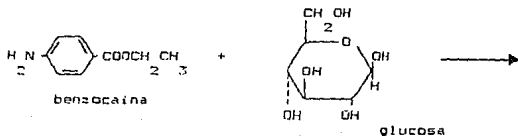
. Reacción de formación de bases de Schiff:



. Reacción de formación de imidas:



. Reacción de formación de isoglucosamina:



Al triturar la benzocaina con metanol, fenol o resorcinol se produce una masa suave o líquida.

- Valoración: (8)

Disolver 400 mg en una mezcla de 25 ml de solución 1 N de ácido clorhídrico y 50 ml de agua, añadir 3 g de bromuro de potasio, enfriar con hielo si es necesario, y titular amperiométricamente con solución 0.1 M de nitrato de sodio. Cada ml de la solución 0.1 M de nitrato de sodio equivale a 0.01652 g de $C_8H_7NO_2$.

9 11 2

- Farmacodinamia: (5)

Actúa casi exclusivamente sobre las terminaciones nerviosas, bloqueando reversiblemente la generación y conducción del impulso a lo largo de toda la fibra. A pesar de su baja solubilidad, puede atravesar las mucosas en grado suficiente para disminuir la sensación.

- Farmacocinética: (4, 5)

La absorción es rápida en las mucosas y membranas de la tráquea, faringe, pulmones, conjuntiva y uretra. Se excreta rápida y completamente por la orina, no se acumula y sus dos probables metabolitos urinarios son el ácido hipúrico y el ácido para-aminobenzoilglucurónico. La excreción urinaria normal para el ácido hipúrico, en el hombre, es de 1.0 a 2.5 gramos diarios, equivalentes a 0.7 a 1.7 gramos de ácido benzoico (17 mg/min).

- Usos: (7, 11)

La benzocaina es un anestésico local de tipo éster. Comparativamente no es irritante y tiene una baja toxicidad sistémica. Se puede usar por vía oral para aliviar el dolor en la úlcera y el carcinoma de estómago. Pastillas compuestas de benzocaina , disueltas lentamente en la boca, sirven para prevenir la náusea y el vómito en la toma de impresiones dentales y en la introducción de aparatos de endoscopia oral. Tanto en pastillas como en soluciones al 2 por ciento, la benzocaina puede utilizarse para aliviar el dolor causado por laceraciones en la lengua o mejillas, la faringitis aguda, la tonsilectomía y el carcinoma de lengua.

En concentraciones del 5 al 10 por ciento se emplea en ungüentos y polvos como una aplicación local sobre superficies ulceradas, quemadas o heridas, o para aliviar el prurito intratable.

La benzocaina absorbe la luz ultravioleta, por lo que, ha sido utilizada en filtros solares y lociones. Además, se ha usado como componente en inyecciones en el tratamiento de prurito y fisuras anales.

- Toxicidad: (5, 11)

Se han reportado algunos casos de metahemoglobinemia en niños, subsecuente a la absorción de benzocaina. De 877 personas con dermatitis o eczema sometidos a pruebas de parche con benzocaina al 15 por ciento en parafina amarilla suave, 5.9 por ciento presentaron reacción positiva. De 4000 pacientes sometidos a la prueba de parche en 5 clínicas europeas, 3.3 por ciento de los

hombres y 4.5 por ciento de las mujeres presentaron reacción positiva a la benzocaína al 5 por ciento en parafina suave.

No se recomienda su uso en pacientes que estén siendo tratados con sulfonamidas. La DL en dosis oral ha sido establecida en 50

diferentes especies animales: en rata es de 2.7 g/kg y en perro es de 2.0 g/kg.

- Dosis: (4, 5, 11, 19)

Se ha administrado hasta 4 g diarios; pero la dosis diaria máxima aceptable, estimada para el hombre por cualquier vía, es de 5 mg/kg de peso.

Por vía tópica: en cremas del 1 al 5 por ciento, en ungüentos del 1 al 20 por ciento, en aerosoles al 20 por ciento, en soluciones del 2 al 20 por ciento y en geles del 6.3 al 20 por ciento.

Por vía bucal: de 3 a 15 mg diarios, divididos en 6 dosis (una cada 4 horas) en pastillas, en spray al 1.5 por ciento y en geles al 20 por ciento.

Por vía oral: en soluciones del 5 al 20 por ciento.

Por vía ótica: en soluciones del 1 al 20 por ciento.

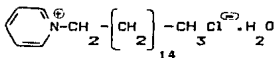
C.2. CLORURO DE CETILPIRIDINIO

- Nombre químico y sinónimos: (7)

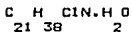
. Cloruro de 1-hexadecilpiridinio, monihidratado.

. Ceeprim, Cepacol, Cetamio, Dobendan, Merocet, Pristacina,
Piriset.

- Fórmula desarrollada: (7)



- Fórmula condensada: (7)



- Peso molecular: (7)

356.01

- Descripción: (11)

Polvo blanco, con olor ligero y característico.

- Solubilidad: (8, 11)

Soluble en 20 partes de agua, en 7 partes de cloroformo, en 4 partes de etanol al 95 por ciento, prácticamente insoluble en benceno y éter.

- Temperatura de fusión: (6)

80 a 84°C.

- Tensión superficial: (10)

43 dinas/cm en solución acuosa al 0.1 por ciento a 25°C.

- Cristalografía óptica: (10)
 - . Índice de refracción: $\alpha = 1.509$, $\beta = 1.556$, $\delta = 1.603$
 - . Signo óptico: negativo.
 - . Extinción: inclinada.
 - . $2 V$: 88°

- Ensayos de identidad:
 - a. A 10 ml de una solución 0.2 por ciento (m/v), añadir 3 ml de solución de ferricianuro de potasio (1 en 300): se produce un precipitado amarillo. (6, 8)
 - b. Cromatografía en capa delgada: (4)
 - Sistema: Placa de 20 x 20 cm, con una capa de 0.25 mm de espesor de gel de sílice G, desecada a 110°C por una hora.
 - Muestra: 1.0 ml de una solución al 1 por ciento en solución 2 N de ácido acético.
 - Sistema de disolventes: Solución concentrada de hidróxido de amonio - metanol (1.5 : 100).
 - Revelado: Con solución ácida de yodoplatinato (disolver 250 mg de cloruro de platino y 5 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua, añadir 2 ml de ácido clorhídrico concentrado).
 - Rf: 0.20
 - c. Espectro en el Infrarrojo (de una dispersión de bromuro de potasio): (6)

Exhibe máximos a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de cloruro de cetilpiridinio USP

(sustancia de referencia).

- Ensayos de pureza:

- . Contenido: Debe contener no menos del 99.0 por ciento y no más del 102.0 por ciento de C H ClN, calculado sobre la base
21 38
anhidra. (6)
- a. Contenido de agua: de 4.5 a 5.5 por ciento por el método de Karl Fischer. (6, 8)
- b. Acidez: disolver 500 mg en 50 ml de agua, añadir unas gotas de solución indicadora de fenolftaleína y titular con solución 0.02 N de hidróxido de sodio; no deber requerirse más de 2.5 ml, para neutralizar la solución. (6)
- c. pH: el pH de una solución al 1.0 por ciento (m/v) es de 5.0 a 5.4 (8)
- d. Sulfatos: no más del 0.20 por ciento. (6, 8)
- e. Residuo de la Ignición: no más del 0.20 por ciento, calculado en base anhidra. (6)
- f. Metales pesados: no más del 0.002 por ciento. (6)
- g. Piridina: disolver 1 g en una mezcla de 5 ml de solución 5 M de hidróxido de sodio y 5 ml de agua, sin calentar: no debe percibirse inmediatamente el olor a piridina. (6, 8)
- h. Aminas no cuaternarias: disolver 2 gramos en 100 ml de agua. Transferir 25 ml de solución a un embudo de separación, añadir 25 ml de cloroformo (R.A.) y 10 ml de solución 0.1 M de ácido clorhídrico. La diferencia entre el volumen de la solución volumétrica de yodato de potasio requerido en esta titulación y el requerido en la valoración

por titulación no debe ser mayor de 0.5 ml, para cada gramo de sustancia empleada. (B)

- Valoración: (B)

Disolver 2 g en 100 ml de agua. Transferir 25 ml de la solución a un embudo de separación, añadir 25 ml de cloroformo (R.A.), 10 ml de solución 0.1 M de hidróxido de sodio y 10 ml de solución al 5 por ciento (m/v) de yoduro de potasio, preparada recientemente. Agitar fuertemente, dejar que las capas se separen y retirar la fase clorofórmica. Agitar la solución acuosa con 2 porciones de cloroformo (R.A.), de 10 ml cada una, y desechar las fases clorofórmicas. Añadir 40 ml de ácido clorhídrico (R.A.), a la fase acuosa, enfriar y titular con solución 0.05 M de yodato de potasio, hasta que la solución comience a adquirir tonalidades café. Añadir 2 ml de cloroformo (R.A.) y continuar titulado hasta que el cloroformo se colorea.

Titular una mezcla de 20 ml de agua, 10 ml de solución al 5 por ciento (m/v) de yoduro de potasio y 40 ml de solución concentrada de ácido clorhídrico con una solución 0.05 M de yodato de potasio, de manera similar a la anterior; la diferencia entre las titulaciones representa la cantidad de solución 0.05 M de yodato de potasio requerida en su titulación. Cada ml de solución 0.05 M de yodato de potasio es equivalente a 0.0358 g de C H Cl.H O.

21 38 2

- Compatibilidad: (5, 9, 11)

La actividad bactericida del cloruro de cetilpiridinio se ve disminuida por la presencia de jabones aniónicos, ya que la porción aniónica del jabón reacciona con la porción catiónica del cloruro de cetilpiridinio, dando lugar a una sal insoluble biológicamente inactiva. Su actividad decrece con otros surfactantes aniónicos, debido a la formación de micelas.

La presencia de sangre, algodón, celulosa y iones calcio, magnesio y fierro (III), presentes en el agua dura, interfieren con su acción bactericida.

Es incompatible con adyuvantes ácidos; pero compatible con surfactantes catiónicos.

- Farmacodinamia: (5, 11)

Es más efectivo en soluciones neutrales o ligeramente alcalinas; su actividad bactericida decrece en medio ácido. La disociación del cloruro de cetilpiridinio en medio acuoso da lugar a un catión, relativamente largo y complejo, -que es el responsable de la acción superficial- y a un pequeño anión inactivo. Su acción bactericida se debe probablemente a que altera las características de permeabilidad de la membrana celular de los microorganismos, provocando la salida de enzimas, de coenzimas y de intermediarios metabólicos.

Es efectivo contra bacterias grampositivas y gramnegativas; en cambio su actividad contra esporas bacterianas, bacterias ácido-resistentes, virus y hongos es escasa.

Cuando se aplica sobre una superficie, forma una película bajo

la cual pueden sobrevivir algunos microorganismos que originan brotes de infección, como son Pseudomonas, Mycobacterium tuberculosis y otras bacterias gramnegativas.

- Farmacocinética: (5, 11)

Se absorbe parcialmente en el tracto digestivo y por las vías parenterales. Se combina rápidamente con proteínas del plasma.

- Usos: (4, 7, 9)

Se emplea como antiséptico tópico aplicable a la piel, a los tejidos y a la mucosas, como desinfectante de material médico y quirúrgico y como conservador.

- Toxicidad: (4, 5, 7, 11)

Cuando se ingiere oralmente puede causar náuseas y vómito. Tiene propiedades relajantes y despolarizantes musculares. Sus síntomas toxicológicos incluyen disnea y cianosis debido a la parálisis de los músculos respiratorios, que puede conducir a la asfixia. Produce depresión del sistema nervioso central con convulsiones, hipertensión y coma. A las concentraciones usadas en la piel (0.01 por ciento) generalmente no causa irritación. La dosis letal estimada para el hombre por vía oral es de 1 a 3 g. La DL₅₀ en ratas es de 250 mg/kg por vía subcutánea, de 30 mg/kg por intravenosa y de 200 mg/kg por oral.

- Dosis: (5, 11)

Por vía tópica: soluciones 1:100 a 1:1,000 para aplicarse en piel intacta, soluciones 1:1,000 para laceraciones menores,

soluciones 1:2,000 a 1:10,000 para aplicarse en mucosas.

Por vía bucal: de 3 a 15 mg diarios, divididos en 6 dosis (una cada 4 horas).

Veterinaria: tinturas 1:500, soluciones acuosas 1:1,000 para asepsia de la piel en preoperatorios y soluciones 1:1,000 a 1:5,000 para tratamientos de heridas.

D. PREFORMULACION (20, 21)

El primer paso a seguir dentro del desarrollo farmacéutico es la preformulación, la cual consiste en reunir y generar toda aquella información sobre el fármaco en estudio que facilite formular un medicamento efectivo, seguro, procesable y que mantenga la calidad deseada desde su producción hasta el momento de ser administrado.

Las áreas que conforman un estudio de preformulación y que permiten seleccionar la presentación química y física más adecuada del fármaco son:

a) Caracterización fisicoquímica del fármaco: En esta área se genera información referente a: estructura química, peso molecular, pureza, propiedades organolépticas, isomería óptica, solvatos-hidratos, polimorfismo, forma cristalina, tamaño de partícula, solubilidad en diferentes medios y disolventes, perfiles pH-solubilidad, disolución intrínseca, coeficiente de partición, constante de ionización y permeabilidad, es decir, paso a través de membranas biológicas.

b) Estabilidad del fármaco: Dentro de los objetivos de esta área están, por una parte, establecer la cinética química y el mecanismo de degradación del fármaco, así como aislar e identificar los productos de degradación, y por lo otra, determinar las interacciones fármaco-excipientes y seleccionar los excipientes para el producto farmacéutico. Los estudios que se realizan en esta área son:

1. Estabilidad en el estado sólido.
2. Estabilidad en solución.
3. Compatibilidad con excipientes.

c) Funcionalidad: En esta área se llevan a cabo determinaciones tales como: densidad aparente y grado de compactación, flujo y ángulo de reposo, grado de aglomeración, compresibilidad y grado de humectación.

Con esta información se puede seleccionar la presentación química y física más adecuada del fármaco y proporcionar una fuente invaluable de observaciones que permitirán un desarrollo de alta calidad y eficiencia del medicamento.

D.1. ESTABILIDAD (12, 20, 21, 22)

La estabilidad de un fármaco o de una forma farmacéutica puede ser definida como la capacidad de conservar sus características físicas, químicas, microbiológicas, terapéuticas y toxicológicas, al ser almacenado a través del tiempo en un contenedor específico.

1. Principios de Cinética Química

La cinética química estudia la velocidad de las reacciones químicas y elucida los mecanismos por los cuales éstas se efectúan. La velocidad de una reacción química es la intensidad con que varían en el tiempo las concentraciones de los reactivos; entre otros factores, puede depender de su concentración inicial, de la naturaleza de las sustancias en reacción, de la temperatura y de la presencia de catalizadores. Para poder determinarla, es necesario establecer, a temperatura constante, la concentración de un reactivo o de un producto de descomposición en función del tiempo, empleando métodos específicos para ese propósito.

La dependencia de la velocidad de reacción con respecto a las concentraciones de los reactivos queda descrita por el orden de reacción, entendiéndose por éste la suma de todos los exponentes a los cuales están elevadas las concentraciones en la ecuación de reacción:

$$-\frac{dC}{dt} = k C_1^{n_1} C_2^{n_2} C_3^{n_3}$$

donde k es la constante de velocidad, n_1 , n_2 , n_3 son los órdenes de reacción de los componentes individuales y C_1 , C_2 , C_3 son las concentraciones de los componentes.

La ecuación de velocidad de reacción es una ecuación diferencial que debe integrarse para poder obtener la concentración de los reactivos en función del tiempo.

En general, las reacciones de degradación de los fármacos son de orden cero, primero o pseudoprimerero, aunque muchos principios

activos se degradan por mecanismos complicados cuya expresión exacta, al ser de un orden superior, es compleja y no integrable.

La vida media de un compuesto ($t_{1/2}$) es el tiempo necesario para que su concentración se reduzca a un cincuenta por ciento; mientras que el t_{90} o la vida de anaquel de un compuesto es el tiempo requerido para que su concentración se reduzca a un noventa por ciento, lo cual, en términos de estabilidad, representa la mínima concentración del principio activo aceptable para que un medicamento pueda permanecer en el mercado.

1.1 Reacción de orden cero

Cuando la velocidad de la reacción es independiente de la concentración del reactivo, se considera que es una reacción de orden cero. Al no ser el factor limitante la concentración del fármaco, este tipo de reacción queda determinada por otros factores, como son la solubilidad, la absorción de la luz o la cantidad de un agente catalizador.

1.2 Reacción de primer orden

Se considera que la reacción es de primer orden cuando la velocidad de reacción es dependiente de la concentración de un sólo reactivo. En este tipo de reacciones el fármaco se descompone directamente en uno o más productos.

1.3 Reacción de segundo orden

Se considera que la reacción es de segundo orden cuando la velocidad de reacción es dependiente de la concentración de los reactivos o de la segunda potencia de un reactivo.

1.4 Reacción de pseudo-primer orden

El pseudo-primer orden de reacción se define como un segundo orden o como una reacción bimolecular que sigue el comportamiento de una reacción de primer orden. Este tipo de reacciones se presentan cuando uno de los reactivos se encuentra en gran exceso o mantiene una concentración constante en comparación con el otro; bajo estas circunstancias, la velocidad de reacción es determinada por uno de los reactivos, aún cuando ambos estén presentes, a pesar de que el segundo reactivo no exhibe un cambio significativo en la concentración durante la reacción de degradación.

1.5 Reacción de pseudo-cero orden

Se define como reacción de pseudo-cero orden aquella reacción de primer orden que sigue un comportamiento de orden cero. Este tipo de reacciones tiene lugar frecuentemente en suspensiones y emulsiones, en las cuales la concentración del fármaco que se está degradando en solución puede mantenerse constante automáticamente, empleando una solución saturada del mismo en contacto con un exceso del soluto, y sólo se degrada el fármaco que está en solución, con un cinética de primer orden. Pero como la concentración del compuesto en solución no varía con el tiempo, la cinética total de la reacción es de pseudo-cero orden.

Tabla No. 1

Orden	Ecuación	Ecuación Integrada	Vida media	Vida de Anaqueil
Cero	$-\frac{dC}{dt} = k$	$C = -kt + C_0$	$t_{1/2} = \frac{0.5 C_0}{k_0}$	$t_{90} = \frac{0.1 C_0}{k_0}$
Primero	$-\frac{dC}{dt} = kC$	$\ln C = -kt + \ln C_0$	$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_0}$	$t_{90} = \frac{\ln 100/90}{k_0}$
Segundo	$-\frac{dC}{dt} = kC^2$	$\frac{1}{C} = kt + \frac{1}{C_0}$	$t_{1/2} = \frac{1}{C_0 k_0}$	$t_{90} = \frac{0.1}{0.9 C_0 k_0}$
	$-\frac{dC}{dt} = k_1 C_1 C_2$	$k = \frac{1}{(C_0 - C_0) t} \ln \frac{1}{C_1 C_2}$		

donde: C = Concentración del reactivo
 C₀ = Concentración inicial del reactivo
 k = Constante de velocidad de reacción
 t = Tiempo

2. Mecanismos

Se entiende por mecanismo de reacción la descripción detallada del proceso por medio del cual las sustancias reaccionantes se transforman en productos. La importancia de definir el mecanismo de degradación de los fármacos durante los estudios de preformulación radica en que permite:

- a. Determinar la velocidad de degradación y cuáles son los productos.
- b. Establecer el grado de toxicidad de los productos de la reacción.
- c. Desarrollar métodos analíticos específicos que permitan separar el fármaco de sus productos de degradación.
- d. Conocer las condiciones óptimas que permitan el desarrollo de una forma farmacéutica estable.

Los principales mecanismos de degradación a través de los cuales los fármacos se pueden degradar son: hidrólisis, fotólisis, racemización, oxidación-reducción, descarboxilación, pirólisis y complejación.

3. Influencia de diversos factores sobre la velocidad de reacción.

La velocidad de degradación de los fármacos se ve modificada por diferentes factores como pH, temperatura, oxígeno, luz, humedad y fuerza iónica.

3.1 Influencia del pH

Para determinar la influencia de este parámetro sobre la velocidad

de reacción, se coloca el fármaco en varias soluciones de diferentes pH's, se analizan muestras a intervalos de tiempos determinados y se determinan las constantes de velocidad de degradación del compuesto a los diferentes pH's. Los valores del logaritmo de las constantes de velocidad obtenidas se grafican contra los valores de pH, y el punto de inflexión de la curva representa el pH de máxima estabilidad de un compuesto.

3.2 Influencia de la temperatura

Las constantes de las velocidades de las reacciones dependen sustancialmente de la temperatura, debido a que el número de colisiones entre las partículas se incrementa conforme asciende la temperatura. Arrhenius demostró que los datos de las constantes (k) para muchas reacciones podía ajustarse por la expresión:

$$k = A e^{-E_a/RT}$$

donde A y E_a son constantes características de la reacción, la constante A se denomina factor de frecuencia y E_a es la llamada energía de activación de Arrhenius. R es la constante universal de los gases, y T es la temperatura.

Si se obtiene los logaritmos naturales de la ecuación de Arrhenius se tendrá:

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT}$$

La representación gráfica del logaritmo natural de la constante de reacción contra el inverso de la temperatura absoluta dará como resultado una línea recta, cuya pendiente es igual a $-E_a/R$ y el

intercepto de la línea con el eje de las ordenadas es igual al logaritmo natural de A. En esta gráfica de Arrhenius, al extrapolarse el valor de la temperatura ambiente (25°C) puede obtenerse el valor de la constante de velocidad para esta temperatura y, a partir de esta, la vida media de anaquel del fármaco.

Para poder aplicar los estudios de Arrhenius a las reacciones de degradación, deben hacerse ciertas consideraciones sobre la naturaleza de dichas reacciones (24):

- a) La energía de activación debe ser independiente de la temperatura, aunque en muchos de los casos sólo ocurre en un intervalo estrecho de temperatura.
- b) El mecanismo de reacción es el mismo para todas las temperaturas. Si pueden ocurrir dos reacciones con energías de activación diferentes, la gráfica de Arrhenius resultante exhibirá una deflexión positiva en la región donde las dos velocidades de reacción son comparables.
- c) El sistema de reacción no presenta cambios físicos, tales como precipitación, sublimación, fusión o vaporización. En consecuencia, la cinética total del sistema de reacción puede cambiar con la temperatura. En una reacción que sufre un cambio de fase durante su curso, sólo pueden ser graficados los datos de velocidad de reacción inicial, para determinar la relación de Arrhenius.
- d) Los equilibrios que ocurren en la reacción no son dependientes de la temperatura; si ésto se presenta, la línea de la gráfica

de Arrhenius será una curva.

e) La cinética de la reacción no está gobernada por enlaces migratorios.

D.2. COMPATIBILIDAD (19, 20, 23, 25)

Para poder obtener una forma farmacéutica estable y terapéuticamente eficiente es necesario, durante los estudios de preformulación, evaluar las posibles interacciones entre el o los fármacos y los excipientes, para así poder determinar cuáles de éstos son los más adecuados en cada caso.

Se considera que los excipientes son sustancias "inertes"; sin embargo, son capaces de reaccionar como cualquier otro compuesto químico. Debido a la gran cantidad que de ellos existe, las pruebas de compatibilidad se realizan con los compuestos más característicos y con aquellos que pudieran llegar a intervenir en la formulación y en la forma farmacéutica.

En general, las pruebas se realizan con mezclas simples fármaco-excipiente, pero en ocasiones es necesario recurrir al estudio de mezclas que sigan los procesos de fabricación que se emplearán para obtener el medicamento. Esto se debe a que ciertos factores inherentes a procesos tales como la granulación, el mezclado o el secado, pueden modificar su interacción. Para efectuar el análisis de las mezclas se emplean técnicas analíticas como: análisis térmico diferencial, espectroscopía de infrarrojo, cromatografía en capa delgada, cromatografía de gases y

cromatografía de líquidos de alta resolución.

Los principales efectos de las interacciones fármaco-excipientes son:

1. Cambios físicos de la forma farmacéutica tales como: precipitación, decoloración o formación de color.
2. Cambios químicos: complejación, cambios de pH o en solubilidad.
3. Cambios farmacológicos: (a) Potenciación de los efectos terapéuticos de los ingredientes. (b) Inactivación terapéutica de uno o más ingredientes. (c) Incremento en la toxicidad del producto.

E. PASTILLAS (15)

Las pastillas son formas farmacéuticas sólidas que deben mantenerse y disolverse lentamente en la boca, y que contienen sabores y principios activos tales como: analgésicos, anestésicos locales, antihistamínicos, antibióticos, descongestionantes, antisépticos, astringentes, vitaminas, o la combinación de algunos de ellos.

Los síntomas orofaríngeos que las pastillas deben aliviar, son comúnmente causados por infecciones locales, por alergias o por la resequecedad de las mucosas debida a la respiración por la boca. Dependiendo del método empleado para su manufactura, existen dos tipos de pastillas:

- pastillas de caramelo duro

- pastillas comprimidas

E.1. PASTILLAS DE CARAMELO DURO

El caramelo duro que constituye la base de estas pastillas, es una mezcla de azúcar y de otros carbohidratos que conserva una condición amorfa o cristalina; en general, puede considerarse como un jarabe sólido con un contenido de humedad entre 0.5 y 1.5 por ciento. La preparación de las pastillas de caramelo duro se ha considerado esencialmente como un arte, y muchas de las formulaciones usadas en su manufactura se basan en preparaciones del tipo de confitería. El equipo utilizado para producirlas es una adaptación del empleado en la preparación de caramelos, el cual debe ser mejor controlado para reproducir el medicamento con la tolerancia adecuada del tamaño, peso y uniformidad de contenido.

Las materias primas que se emplean en la elaboración de pastillas de caramelo duro son generalmente:

- a) Azúcar (sacarosa, normalmente en solución al 67.5 por ciento).
- b) Jarabe de maíz (normalmente 80.5 por ciento de sólidos). El contenido de azúcar invertida (mezcla equimolecular de fructosa-dextrosa) y azúcares reductores debe ser controlado especialmente durante el cocimiento, lo cual le dará sus propiedades de resistencia a granulación, absorción de humedad, así como, de retardar su cristalización.
- c) Acidulantes (ácido cítrico, tartárico, fumárico y málico).

- d) Colorantes.
- e) Saborizantes.
- f) Principios activos.

E.2. PASTILLAS COMPRIMIDAS

Los procesos básicos de granulación, molienda y secado, así como de compresión, son análogos a los empleados en la manufactura de tabletas; sin embargo, la mayor desviación ocurre en el tipo específico de materias primas a emplearse, en los requerimientos de desintegración, en las consideraciones de compresión y granulación necesarios para conseguir la dureza y las dimensiones de la pastilla comprimida, así como en las especificaciones organolépticas inherentes a la vía de administración empleada.

Mientras que las tabletas orales son diseñadas para conseguir características de rápida desintegración y disolución, las pastillas comprimidas, cuyos fármacos deben de actuar en las mucosas de la boca y de la faringe, se formulan generalmente a un diámetro de 14 a 19 mm y un intervalo de peso entre 1.5 y 4.0 gramos, y el objetivo final del diseño es el tener una desintegración o erosión lenta, uniforme y fácil que debe extenderse durante un periodo de tiempo de entre 5 y 10 minutos, dentro de la cavidad oral. Así mismo, debe conservar la suavidad y el sabor agradable del producto, con el objeto de conseguir la aceptación del paciente durante la disolución del mismo.

En cuanto a las principales ventajas que presentan las pastillas

por compresión sobre las pastillas de caramelo duro están las siguientes:

1. No requieren temperaturas elevadas (135 a 150°C) para los procesos de preparación de la base.
2. En general, las pastillas comprimidas presentan menos problemas de estabilidad de los principios activos, así como de incompatibilidad con algunos sabores y acidulantes.
3. Sin modificar las características organolépticas del producto permiten incorporar dosis más elevadas de un principio activo o de la combinación de varios de ellos, disminuyendo el número de pastillas necesarias durante un tratamiento.
4. El equipo para producir pastillas comprimidas puede ser el mismo que para manufacturar tabletas, mientras que el equipo requerido para producir pastillas de caramelo duro puede no ser accesible.

La selección de excipientes para este tipo de pastillas está determinada por sus efectos en la compresibilidad, la sensación bucal, la desintegración (erosión), y las características de flujo del polvo o de granulación.

Cuando una pastilla se elabora por compresión las siguientes materias primas son esenciales para formular un producto adecuado:

a) Base o vehículo

Los materiales escogidos para conformar la base de una pastilla determinarán tanto el método general de su manufactura (granulación húmeda o compresión directa), como las

características fisicoquímicas del producto. Entre los excipientes que pueden conformar la base o vehículo de estas pastillas están: sacarosa, dextrosa, materiales para compresión directa basados en azúcares modificados (Embex, Nu-tab, Di-pac, Sugar-tab, etc.), manitol, sorbitol, polietilenglicoles (4,000 y 6,000), celulosa microcristalina y lactosa.

b) Aglutinantes

Su función en una base de pastillas comprimidas vía granulación húmeda, es la de mantener unidos en forma de gránulos discretos a las partículas individuales. El aglutinante es también el que contribuye principalmente a la dureza final de la pastilla, puesto que dependiendo del tipo y la concentración del aglutinante presente se incrementarán las fuerzas de unión intragranulares e intergranulares.

Algunos aglutinantes ayudan a mejorar las características demulcentes y de textura superficial de las pastillas por granulación húmeda mientras se disuelven en la cavidad bucal. Entre los más efectivos están: goma acacia, jarabe de raíz, gelatina, jarabe de azúcar, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y metilcelulosa.

c) Lubricantes

Entre los lubricantes más empleados están: estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, dióxido de silicio coloidal, polietilenglicoles o su combinación.

d) Colorantes y saborizantes

e) Principios activos

Los principios activos deberán estar contenidos en un máximo de 25 a 30 por ciento del peso total de la pastilla con objeto de optimizar las características organolépticas, de sensación bucal y de desintegración.

F. CROMATOGRAFIA (26, 27, 28, 29)

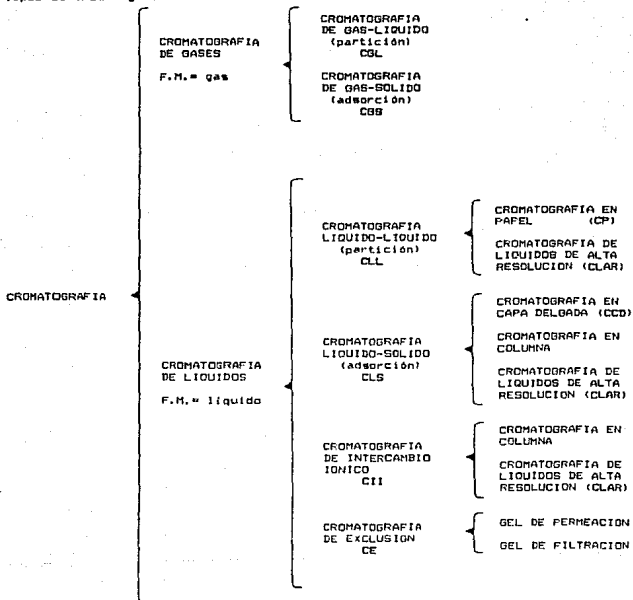
Basándose en el estado físico de la fase estacionaria y la fase móvil, en las propiedades fisicoquímicas (solubilidad, grado de ionización, punto de ebullición, polaridad) y en las interacciones entre los tres componentes del sistema, la cromatografía puede dividirse en cuatro tipos:

1. Cromatografía de Adsorción.
2. Cromatografía de Partición.
3. Cromatografía de Intercambio Iónico.
4. Cromatografía de Exclusión.

Conforme se han ido desarrollando nuevas técnicas cromatográficas la combinación de los cuatro tipos de cromatografía ha sido más frecuente; con lo cual, se podría establecer la siguiente división de la cromatografía (Tabla No. 2).

Tabla No. 2

Tipos de Cromatografía



F.1. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCION

En la década de los 60's comienza el desarrollo de una nueva técnica cromatográfica: la Cromatografía de Líquidos a Alta Presión (CLAP), denominada más tarde como Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), que permitía conferirle una mayor rapidez y eficiencia a la cromatografía líquida clásica, la cromatografía en columna. Esto se logró al reunirse: a) Columnas con diámetro interno pequeño (2 a 8 mm). b) Empaques con distribución de tamaño de partícula reducido (3 a 10 micras).

- c) Bombas de alta presión (arriba de $5,000^2$ lb/pulg²).
d) Detectores capaces de operar a bajo caudal y de detectar, eficientemente, bajas concentraciones de sustancias.

1. Tipos de Cromatografía

Dependiendo de las características del empaque y de la fase móvil, y de la combinación que de ellas se realice la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución se puede dividir en cuatro tipos: (a) Cromatografía en fase normal, (b) Cromatografía en fase inversa, (c) Cromatografía de par iónico y (d) Cromatografía de permeación en gel.

1.1 Cromatografía en Fase Normal

En este tipo de cromatografía la fase estacionaria tiene una polaridad relativamente alta, mientras que la de la fase móvil puede ser de media a baja. Entre los empaques utilizados en este tipo de cromatografía están: el gel de sílice y las fases

enlazadas con grupos terminales ciano y amino.

1.2 Cromatografía en Fase Inversa

En la cromatografía en fase inversa la fase estacionaria tiene una polaridad baja y la fase móvil una de media a alta. Los empaques de fases enlazadas con grupos terminales amino, ciano, fenilo y cadenas alquílicas de ocho y dieciocho carbonos son los que se emplean con mayor frecuencia.

1.3 Cromatografía de Par Iónico

Este tipo de cromatografía se aplica a muestras polares como son bases, ácidos, iones (cationes y aniones) y compuestos con múltiples grupos ionizables. Dado que consiste en añadir a la fase móvil un contra-ión, la separación se podrá deber: (1) A la interacción entre un par iónico neutro (formado al unirse fuertemente los iones de la muestra y el contra-ión), la fase estacionaria y la fase móvil. (2) A la adsorción, en primer término, del contra-ión sobre el empaque y, en segundo, de la interacción de los iones del soluto de signo contrario con el contra-ión adsorbido.

Los factores que deben controlarse son: tipo y concentración del contra-ión, el pH, la temperatura y la composición de la fase móvil. Se emplean como contra-iones las sales sódicas de los ácidos pentan, hexan y heptansulfónicos y el ión perclorato para separar cationes y bases; y para separar aniones y ácidos el ión tetraalquilamonio. El empaque más utilizado en la cromatografía de par iónico es el de fase enlazada con grupo terminal de

octadecilsilano (C₁₈) con tamaño de partícula pequeño (5 micras).

18

1.4 Cromatografía de Exclusión

En la cromatografía de exclusión las moléculas del soluto se separan según su tamaño real en el disolvente contenido tanto en los poros de las partículas del empaque (gel), como en los espacios intersticiales que existen entre dichas partículas; eluyendo primero las de mayor tamaño y quedando retenidas durante un tiempo más prolongado aquellas que sí penetran en los poros.

La cromatografía de exclusión recibe también el nombre de cromatografía de permeación en gel cuando se utiliza para caracterizar y separa mezclas complejas de polímeros, empleando como empaque: partículas altamente porosas, de gel semirígido de estirendivinilbenceno con enlaces cruzados, en disolventes orgánicos (tolueno, tetrahidrofurano, cloruro de metileno).

La separación de polímeros hidrosolubles y de proteínas según su tamaño en solución suele ser asimismo designada con el nombre de cromatografía de filtración en gel, y los empaques en ellas utilizados son del tipo de geles semirígidos de sílica porosa, geles hidrofílicos de poli(acrilamida, polidextranos, gel de sílice monoclorosilanizada, polivinilacetato y metilmetacrilato. El factor más importante que debe controlarse en este tipo de cromatografía es la temperatura.

2. Parámetros Cromatográficos

La resolución (R) es el factor que describe el grado de separación entre dos picos y se define como la distancia entre los centros de

ambos picos dividida entre el promedio del ancho de las bases de los componentes. La expresión matemática que la representa es:

$$R = \frac{TR_2 - TR_1}{1/2 [W_1 + W_2]}$$

La resolución puede ser afectada por los siguientes parámetros:

2.1 Selectividad (α)

La selectividad de la columna se mide por la retención relativa de los picos. Matemáticamente se expresa como:

$$\alpha = \frac{TR_2 - TR_0}{TR_1 - TR_0} = \frac{K_2}{K_1}$$

donde K_1 y K_2 son los coeficientes de distribución de los componentes 1 y 2 respectivamente.

2.2 Factor de Capacidad (k')

Este factor está dado por la capacidad de los componentes de interactuar con la fase estacionaria de una columna. Su expresión matemática es:

$$k' = \frac{TR_2 - TR_1}{TR_0}$$

2.3 Eficiencia

La eficiencia de la columna está dada por el número de platos teóricos (N) y compara la amplitud del pico (W_1) a lo largo del tiempo en que el compuesto ha sido retenido dentro de la columna (TR_1).

$$N = 16 \left[\frac{TR_1}{W_1} \right]^2$$

Este parámetro depende de la longitud de la columna, del tamaño del empaque y de la velocidad de flujo.

Relacionando estos tres parámetros, la ecuación de la resolución puede escribirse como:

$$R = 1/4 \left[\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right] \left[\sqrt{N} \right] \left[\frac{k^*}{1 - k^*} \right]$$

Selectividad Eficiencia Capacidad

G. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS (30, 31)

Para definir el concepto de validación se cuenta con dos alternativas: la primera de ellas afirma que es la determinación del grado de validez de un proceso de medición, y sugiere una actividad que toma lugar después de que ha sido desarrollado el

proceso de medición. La segunda definición establece que es "hacer válido", en el sentido de producir el resultado deseado, y sugiere una actividad que toma lugar mientras el proceso de medición está siendo desarrollado, es decir, que se va evaluando cada paso del desarrollo y detectando si existe alguna falla antes de concluirlo.

La etapa previa a la validación de un método analítico es su desarrollo, y los puntos más importantes para realizar éste son:

- a) Investigación bibliográfica.
- b) Especificar, razonándolo, si se requiere equipo y condiciones especiales y otros aparatos disponibles comercialmente.
- c) Realizar y reportar los resultados de los ensayos de prueba.
- d) Describir la metodología y proporcionar los datos para establecer los parámetros que califican al método (linealidad, precisión, exactitud, especificidad, etc.).
- e) Señalar las posibles fuentes de error y/o de imprecisión del método, indicando las medidas para poder eliminarlas.
- f) Llevar un registro experimental completo del análisis de muestras reales.
- g) Efectuar comparación de métodos para contar con alternativas.

1. Parámetros de Validación

Dentro de los parámetros básicos que conforman la validación de los métodos analíticos están:

1.1 Linealidad

Es la medida del grado en el cual la curva de calibración

analítica se aproxima a una línea recta, o bien el grado en el cual la sensibilidad (τ) es constante, siendo ésta última la relación entre la pendiente de una curva de calibración (m) y la variabilidad de los puntos experimentales o error estándar de regresión (Sy/x):

$$\tau = \frac{m}{Sy/x}$$

Los parámetros que califican la linealidad de un método son: coeficiente de variación de los porcentajes recuperados (CV), coeficiente de correlación (r), pendiente de la curva (m), intercepto de la curva con el eje de las ordenadas (b).

1.2 Exactitud

Es la concordancia entre un determinado valor experimental y el valor aceptado como referencia. El parámetro de calificación es generalmente la media de los valores recuperados con referencia a los teóricos o adicionados, así como su intervalo de confianza.

1.3 Precisión

Es el grado de concordancia entre mediciones repetidas de una misma propiedad; se expresa en términos de repetibilidad y/o reproducibilidad. Para repetibilidad es recomendable evaluar a diferentes concentraciones de la sustancia de interés, que se encuentren dentro del intervalo de linealidad. El parámetro que califica a la precisión es el coeficiente de variación (CV).

1.4 Reproducibilidad

Es la precisión de un método expresada como la concordancia entre determinaciones realizadas ya sea por diferentes analistas, en distintos días, en el mismo y/o en diferentes laboratorios, con el mismo equipo o con otro diferente. El parámetro que califica a la reproducibilidad es el coeficiente de variación (CV).

1.5 Especificidad

Es el grado en cual la medición se debe a la sustancia a ser determinada y no a "otras sustancias" que pueden estar presentes en el material a ser analizado. Un tipo de especificidad es la llamada "especificidad en estabilidad"; en ella las otras sustancias son aquellas que pueden formarse durante el almacenamiento del material bajo condiciones normales o específicas de temperatura, luz, humedad, etc. Cuando se demuestra que la señal analítica obtenida sólo se debe a la sustancia de interés, el método se llamará específico y podrá ser utilizado como indicativo de estabilidad.

1.6 Estabilidad de la muestra

En este parámetro se establece la estabilidad de la sustancia de interés en el disolvente utilizado para la preparación de la muestra. Para determinarla, se dejan las muestras ya analizadas a temperatura ambiente, en cámara oscura y/o en refrigeración durante un periodo determinado y, concluido

este, se vuelven a analizar bajo las mismas condiciones de operación.

El criterio que califica a este parámetro está dado por la relación entre la media del por ciento recuperado del segundo análisis (S) y la del primero (I), la cual debe ser aproximadamente igual a 1:

$$\frac{S}{I} \approx 1$$

1.7 Tolerancia del sistema

En este parámetro se determina cómo se afecta la separación cuando se varía una condición de operación determinante. Para CLAR se puede probar:

- a) Variar la composición de la fase móvil.
- b) Utilizar una columna usada y una nueva.
- c) Emplear diferentes tipos de columnas con la misma fase móvil.

2. Valoración estadística

Para el cálculo de los estadísticos mencionados para efectuar la validación de un método analítico se emplean las siguientes fórmulas:

$$2.1 \text{ Media } (\bar{x}) = \frac{\Sigma(x)}{n}$$

$$2.2 \text{ Pendiente de la curva } (m) = \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

2.3 Intercepto con el eje de las ordenadas (b) = $\bar{y} - m\bar{x}$

2.4 Coeficiente de correlación

$$(r) = \frac{n \Sigma xy - \Sigma n \Sigma y}{\sqrt{[n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2] [n \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2]}}$$

2.5 Error estándar de la regresión (Sy/x) = $\sqrt{\frac{\Sigma (y - \hat{y})^2}{n - 2}}$

donde \hat{y} es el valor predicho a partir de la curva de regresión: $\hat{y} = mx + b$

2.6 Sensitividad (τ) = $\frac{m}{Sy/x}$

2.7 Desviación estándar (DE) = $\sqrt{\frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$

2.8 Coeficiente de variación (CV) = $\frac{DE}{\bar{x}} * 100$

2.9 Error estándar (Es) = $\frac{DE}{\sqrt{n}}$

2.10 Intervalo de confianza para el 95% de probabilidad

(IC) = $Es * t_{95\%}$

2.11 Límites de confianza para el 95% de probabilidad

$$(LC) = \bar{x} \pm IC$$

III. PARTE EXPERIMENTAL

A. DESARROLLO Y VALIDACION DE LOS METODOS ANALITICOS

En este capítulo se describe la metodología y la validación de los métodos analíticos, por CLAR, empleados para determinar cuantitativamente benzocaina y cloruro de cetilpiridinio en pastillas, y cualitativamente anilina (producto de degradación de la benzocaina).

El equipo y los materiales que a continuación se describen, fueron utilizados para los tres métodos:

- Cromatógrafo de Líquidos Waters equipado con:

- (a) Bomba modelo M-6000,
- (b) Inyector universal (manual), modelo U6K,
- (c) Módulo-Z de compresión radial,
- (d) Detector de absorbancia U.V. de longitud de onda fija, modelo 440,
- (e) Módulo de datos, modelo 730.

- Sistema de microfiltración para disolventes:

- (a) Membrana Millipore tipo FHUP 04700 de 0.5 μ m de tamaño de poro, para filtrar disolventes orgánicos,
- (b) Membrana

Millipore tipo HAWP 04700 de 0.045 μm de tamaño de poro, para filtrar disolventes acuosos.

- Papel filtro Whatman no. 2.
- Baño de Ultrasonido.
- Microjeringa de 25 mcl.
- Matraces volumétricos.
- Pipetas volumétricas.

A.1. DETERMINACION DE BENZOCAINA POR CLAR

A.1.1. Preparación de las soluciones

Solución de Referencia

Pesar con exactitud alrededor de 28 mg de benzocaina, sustancia de referencia o estándar de trabajo, y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. Añadir 30 ml de metanol (Lichrosolv), disolver y llevar al volumen con fase móvil. Mezclar bien. (Concentración ± 0.28 mg/ml).

Solución de Referencia Interna

Pesar con exactitud alrededor de 36.8 mg de dimenhidrinato, sustancia de referencia o estándar de trabajo, y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. Añadir 30 ml de fase móvil y agitar en el baño de ultrasonido durante 2 minutos. Llevar al volumen con fase móvil. Mezclar bien. (Concentración ± 0.368 mg/ml).

Solución Factor Respuesta

Tomar con pipeta volumétrica, por duplicado, 3 ml de la solución de referencia, transferir a matraces volumétricos de 10 ml, añadir 3 ml de la solución de referencia interna y llevar al volumen con fase móvil. Mezclar bien. (Concentración ± 0.084 mg/ml de benzocaina y ± 0.1104 mg/ml de dimenhidrinato). Soluciones R1 y R2.

Solución Problema

Pesar 10 pastillas y determinar el peso promedio (PP). Moler las 10 pastillas en un mortero. Tamizar el polvo a través de malla no. 60 y mezclar el polvo. Pesar, por duplicado, una cantidad de polvo equivalente a 14 mg de benzocaina y transferir a matraces volumétricos de 50 ml. Añadir 30 ml de metanol (Lichrosolv) y agitar las muestras en el baño de ultrasonido por 15 minutos. Llevar cada solución al volumen con metanol (Lichrosolv) y mezclar bien. Filtrar las soluciones a través de papel filtro Whatman no. 2. Tomar con pipeta volumétrica 3 ml de cada solución filtrada y transferir a un matraz volumétrico de 10 ml. Añadir 3 ml de solución de referencia interna a cada matraz. Llevar al volumen con fase móvil y mezclar bien. Filtrar las soluciones a través de papel filtro Whatman no. 2. Soluciones S1 y S2.

A.1.2. Parámetros Instrumentales

Condiciones

Fase móvil: 40 por ciento de metanol (lichrosolv)/
60 por ciento de solución 0.02 M de
fosfato monobásico de potasio.
Filtrada y degasificada.

Velocidad de flujo: 0.8 ml/min.

Columna: de acero inoxidable de 15 cm (long.)
por 3.9 mm (d.i.) empacada con
partículas esféricas de sílica de 5
micras de diámetro recubiertas con
octadecilsilano (Nova-Pak C ,
18
Waters).

Detector: U.V. a 254 nm, 0.02 UA.

Presión: aprox. 2,500 lb/pulg.²

Velocidad de la carta: 0.25 cm/min.

Volumen de inyección: 15 µl.

Tiempo de corrida: 12 minutos.

Tiempos de Retención

Dimenhidrinato (estándar interno) aprox. 2.9 min.

Benzocaína aprox. 8.0 min.

(Ver Figura No. 3)

Nota: Las condiciones cromatográficas descritas se aproximan a los parámetros óptimos. Sin embargo, en base al equilibrio del sistema, a las variaciones en la inyección y en la

columna, la elución y los tiempos de retención pueden variar.

A.1.3. Análisis

Inyectar por duplicado 15 µl de las soluciones R1, R2, S1, S2.

Una vez terminado el análisis, lavar la bomba y la columna primero con 50 ml de agua destilada, después con 50 ml de una solución de 60 por ciento de metanol (Lichrosolv) y 40 por ciento de agua destilada.

A.1.4. Cálculos

Medir con exactitud la respuesta (área o altura de los picos) de la solución de referencia y de la solución problema.

a) Factor Respuesta (FR)

$$FR = \frac{Ab}{Ad} * \frac{Wd}{Wp}$$

Donde:

Ab = área o altura del pico de la benzocaina en la solución factor respuesta.

Ad = área o altura del pico del dimenhidrinato en la solución factor respuesta.

Wb = peso de la benzocaína, sustancia de referencia o estándar de trabajo, mg.

Wd = peso de dimenhidrinato, sustancia de referencia o estándar de trabajo, mg.

b) Calcular la cantidad de benzocaína por pastillas con la fórmula siguiente:

$$\text{mg benzocaína/pastilla} = \frac{A_m}{A_d} \times \frac{W_d}{100} \times \frac{P_P}{F_R} \times 0.5$$

Donde:

A_m = área o altura del pico de la benzocaína en la solución problema.

A_d = área o altura del pico del dimenhidrinato en la solución problema.

W_d = peso del dimenhidrinato, estándar interno, mg.

W_m = peso de la muestra, mg.

F_R = factor respuesta para la benzocaína.

P_P = peso promedio de las pastillas, mg.

0.5 = factor de dilución.

c) Calcular el porcentaje de benzocaína con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ benzocaína} = \frac{\text{mg benzocaína/pastilla}}{\text{mg teóricos de benzocaína/pastilla}} \times 100$$

A.1.4. Validación del Método

Linealidad y Precisión del Sistema

Con el fin de determinar si la relación entre las concentraciones de la benzocaina y el área o altura de los picos del cromatograma resultante sigue una respuesta lineal, cuando se trabaja con diferentes concentraciones del principio activo, se efectuó la linealidad del sistema; por lo que, se prepararon soluciones a concentraciones del 33.33 al 166.67 por ciento del nivel normal del análisis. La concentración del estándar interno (dimenhidrinato) se mantuvo constante en todas las soluciones.

La Figura No. 2 muestra la linealidad del sistema y en la Tabla No. III se muestran los resultados obtenidos y su análisis estadístico.

La precisión del sistema se probó realizando inyecciones de seis soluciones con una concentración del 100 por ciento de benzocaina del nivel normal del análisis. Ver resultados en la Tabla No. IV.

Precisión y Exactitud del Método

La precisión y la exactitud del método se probaron analizando muestras preparadas añadiendo benzocaina al 80, 100 y 120 por ciento de la cantidad etiquetada a un producto sin benzocaina. Los resultados obtenidos y su análisis estadístico se muestran en las Tablas No. V, VI y VII.

Reproducibilidad del Método

La reproducibilidad del método se probó analizando 12 muestras de pastillas, por un analista, seis muestras en dos diferentes días. Los resultados obtenidos y su análisis estadístico se muestran en la Tabla No. VIII.

Especificidad del Método

La especificidad en estabilidad se estableció analizando los productos, los placebos y la benzocaina (materia prima), que fueron sometidos a condiciones extremas de temperatura, luz U.V. y humedad relativa de acuerdo al siguiente programa:

<u>Muestra</u>	<u>Condiciones</u>	<u>Tiempo</u>
Benzocaina, materia prima.	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp). pH 14, 100°C	14 días 15 min.
Producto sin benzocaina (pastillas sabor: naran- ja, lima y miel-limón).	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp).	14 días
Producto sin cloruro de cetilpiridinio (pastillas sabor: naranja, lima y miel-limón).	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp).	14 días

<u>Muestra</u>	<u>Condiciones</u>	<u>Tiempo</u>
Placebo (pastillas sabor: naranja, lima y miel-limón).	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp).	14 días
Producto (pastillas sabor: naranja, lima y miel-limón).	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp).	14 días

Se demostró la capacidad del sistema para separar el pico de la benzocaina de los picos de los placebos y los posibles productos de descomposición. Los resultados se muestran en la Figura No. 3 a la 16.

Tolerancia del Sistema

Con el fin de determinar como se afecta la separación de la benzocaina y el dimenhidrinato (estándar interno), se varió el porcentaje de metanol en la fase móvil en +10 por ciento y -10 por ciento, y se calculó la resolución entre ambos picos. En la Tabla No. IX se muestran los resultados obtenidos.

Estabilidad de la Muestra

Para determinar la estabilidad de la benzocaina en el disolvente se analizaron seis muestras de producto y se dejaron por 24 horas a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se reanalizaron. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla No. X.

Tabla No. III

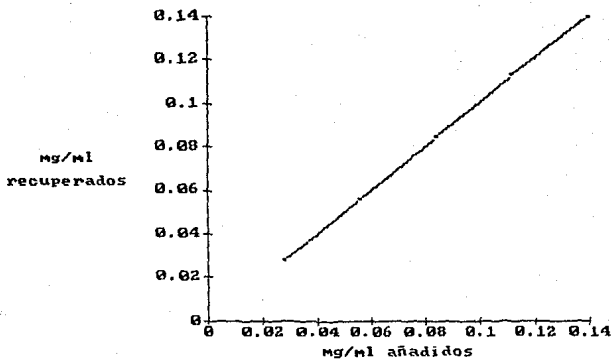
Linealidad del Sistema para el Método por CLAR para Benzocaina

mg/ml añadidos	mg/ml recuperados	% Recuperación
0.0280	0.0279	99.64
0.0560	0.0559	99.82
0.0840	0.0843	100.36
0.1120	0.1126	100.54
0.1400	0.1396	99.71

Media	=	100.01%
Desviación estándar	=	0.4081
Coefficiente de variación	=	0.41%
Coefficiente de correlación	=	0.99996

Figura No. 2

Linealidad del Sistema para Benzocaina por CLAR



Pendiente = 1.00036
Intercepto = 0.00003
Coeficiente de correlación = 0.99996
Error estándar de la regresión = 0.00045

Tabla No. IV

Precisión del Sistema para el Método por CLAR para Benzocaina

Número de Solución de Referencia	Factor Respuesta (FR)	% Recuperación
1	3.028	100.13
2	3.024	100.00
3	3.023	99.97
4	3.022	99.93
5	3.024	100.00
6	3.025	100.03
Media	= 3.024	
Desviación estándar	= 0.002	
Coefficiente de variación	= 0.07%	
Promedio del por ciento de recuperación	= 100.01%	

Tabla No. V

Precisión y Exactitud del Método por CLAR para Benzocaina

Muestra	80% de la cantidad etiquetada (4.8 mg/pastilla)	% Recuperación
1	4.826	100.54
2	4.788	99.75
3	4.787	99.73
4	4.810	100.21
5	4.798	99.26
6	4.828	100.58
Media	= 4.806 mg/pastilla	
Desviación estándar	= 0.018	
Coficiente de variación	= 0.37%	
Promedio del porciento de recuperación	= 100.13%	
Límite de confianza (95%)	= 4.806 ± 0.019	

Tabla No. VI

Precisión y Exactitud del Método por CLAR para Benzocaina

Muestra	100% de la cantidad etiquetada (6.0 mg/pastilla)	% Recuperación
1	6.048	100.80
2	6.066	101.10
3	6.004	100.07
4	6.062	101.03
5	6.051	100.85
6	6.004	100.07

Media	=	6.039 mg/pastilla
Desviación estándar	=	0.028
Coefficiente de variación	=	0.46%
Promedio del porcentaje de recuperación	=	100.65%
Límite de confianza (95%)	=	6.039 ± 0.029

Tabla No. VII

Precisión y Exactitud del Método por CLAR para Benzocaina

Muestra	120% de la cantidad etiquetada (7.2 mg/pastilla)	% Recuperación
1	7.203	100.04
2	7.220	100.28
3	7.195	99.93
4	7.212	100.17
5	7.213	100.18
6	7.198	99.97

Media	=	7.207 mg/pastilla
Desviación estándar	=	0.010
Coefficiente de variación	=	0.14%
Promedio del porcentaje de recuperación	=	100.10%
Límite de confianza (95%)	=	7.207 ± 0.010

Tabla No. VIII

Reproducibilidad del Método por CLAR para Benzocaina

<u>Día</u>	<u>Químico</u>	<u>mg/pastilla</u>	<u>% Recuperación</u>
1	A	5.983	99.72
1	A	6.016	100.27
1	A	6.034	100.57
1	A	6.006	100.10
1	A	5.986	99.77
1	A	6.008	100.13
2	A	6.001	100.02
2	A	5.991	99.85
2	A	6.000	100.00
2	A	6.010	100.17
2	A	5.995	99.92
2	A	6.038	100.68

Media = 6.006 mg/pastilla

Desviación estándar = 0.017

Coefficiente de variación = 0.28%

Promedio del por ciento de recuperación = 100.10%

Tabla No. IX

Tolerancia del Sistema para el Método por CLAR para
Benzocaina

Fase Móvil		Variación	Resolución
Metanol	0.02 M KH ₂ PO ₄		
44 %	60 %	+ 10 %	2.40
40 %	60 %	normal	3.56
36 %	60 %	- 10 %	3.84

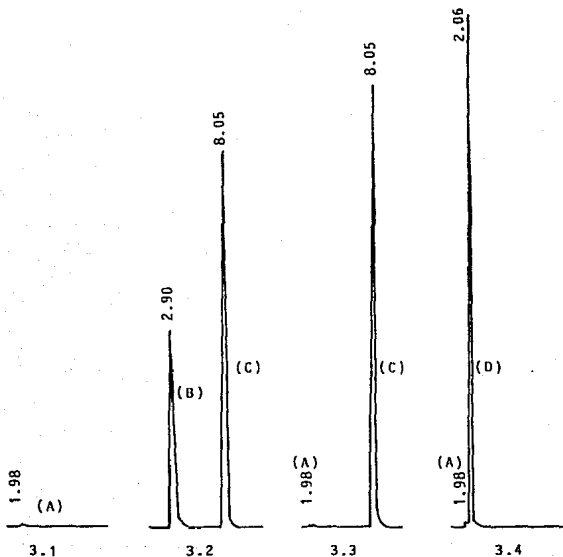
Tabla No. X

Estabilidad de la Muestra para el Método por CLAR para
Benzocaina

% del Etiquetado Inicial (I)	% del Etiquetado después de 24 hrs (S)	Relación (S/I)
100.57	100.52	1.000
100.27	100.22	1.000
100.13	98.72	0.980
99.77	98.57	0.988
99.72	98.06	0.983
100.10	99.87	0.998
Media=		
100.99 %	99.24 %	0.992

ESPECIFICIDAD EN ESTABILIDAD

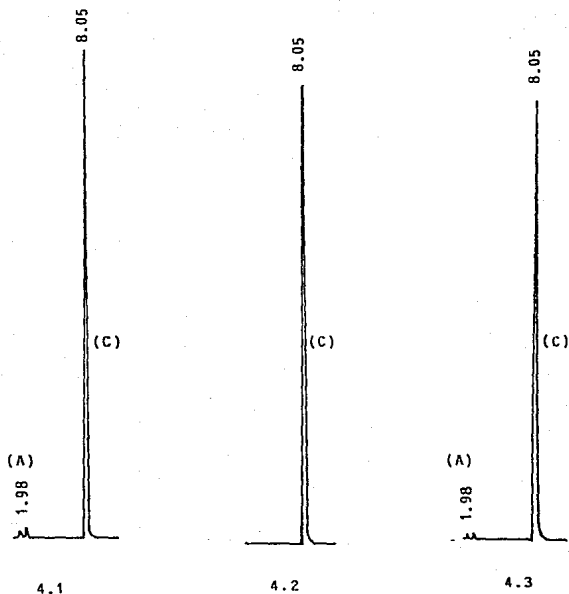
Figura No. 3



- 3.1 Fase móvil.
- 3.2 Solución Factor Respuesta.
- 3.3 Benzocaina, materia prima, a 32°C/80% H.R. por 14 días.
- 3.4 Benzocaina, materia prima, a 100°C, pH 14 por 15 minutos.

- (A) Fase móvil.
- (B) Dimenhidrinato.
- (C) Benzocaina.
- (D) Producto de degradación de la benzocaina.

Figura No. 4

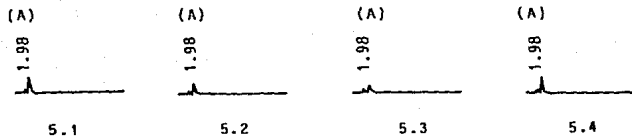


- 4.1 Benzocaina, materia prima, a temperatura ambiente.
4.2 Benzocaina, materia prima, a luz ultravioleta (510 amp) por 14 dias.
4.3 Benzocaina, materia prima, a 65°C por 14 dias.

(A) Fase móvil.
(B) Benzocaina.

Figura No. 5

Producto sin benzocaina de las pastillas con sabor naranja
(lote no. T-0844):

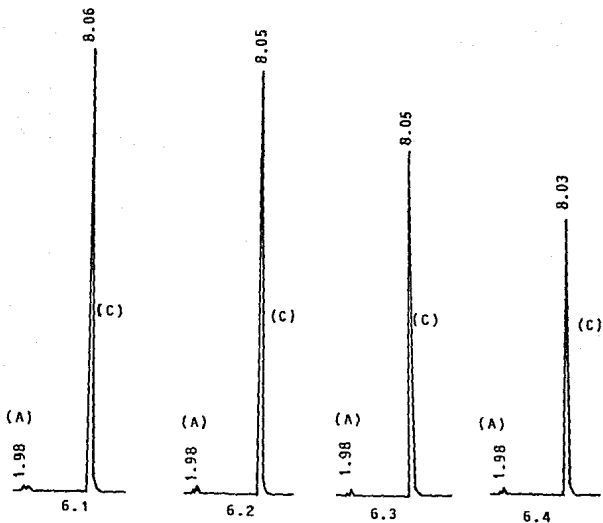


- 5.1 a temperatura ambiente
- 5.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
- 5.3 a 65°C por 14 días
- 5.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.

Figura No. 6

Producto sin cloruro de cetilpiridinio de las pastillas con sabor naranja (lote no. T-0845):

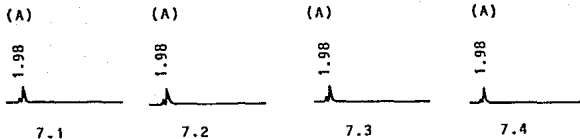


- 6.1 a temperatura ambiente
6.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
6.3 a 65°C por 14 días
6.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(B) Benzocaina.

Figura No. 7

Placebo de las pastillas con sabor naranja (lote no. T-0846):

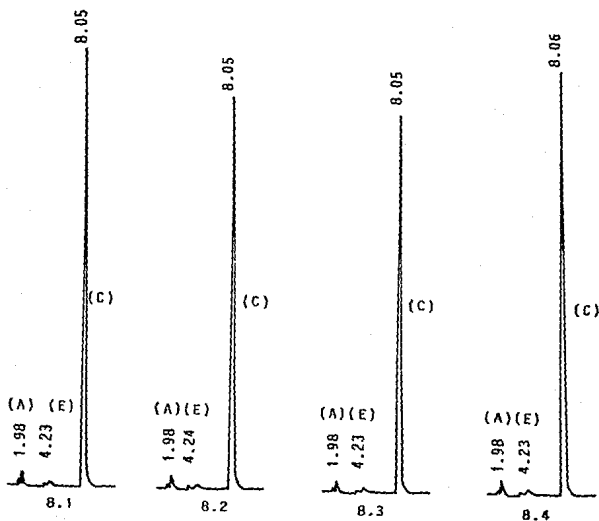


- 7.1 a temperatura ambiente
- 7.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
- 7.3 a 65°C por 14 días
- 7.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.

Figura No. B

Producto con sabor naranja (lote no. E-0109):

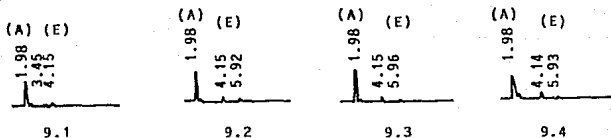


- B.1 a temperatura ambiente
B.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
B.3 a 65°C por 14 días
B.4 a luz ultravioleta (S10 amp) por 14 días

- (A) Fase móvil.
(B) Benzocaina.
(C) Excipiente(s).

Figura No. 6

Producto sin benzocaína de las pastillas con sabor miel-limón
(lote no. T-0B47):

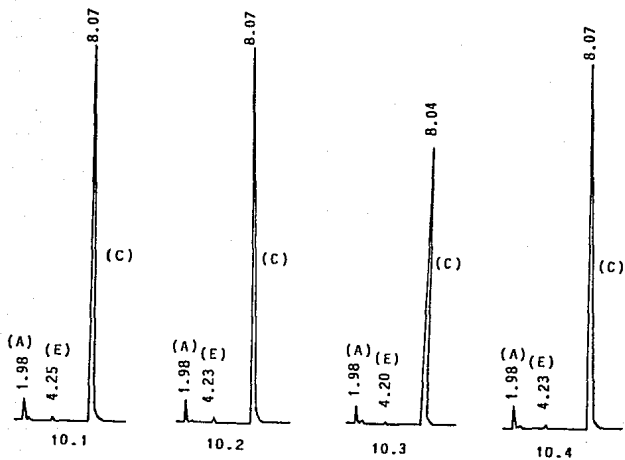


- 9.1 a temperatura ambiente
9.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
9.3 a 65°C por 14 días
9.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(E) Excipiente(s).

Figura No. 10

Producto sin cloruro de cetilpiridinio de las pastillas con sabor miel-limón (lote no. T-0848):

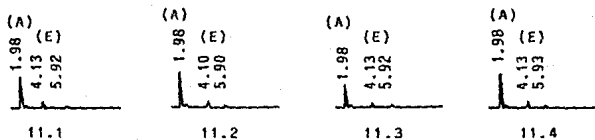


- 10.1 a temperatura ambiente
10.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
10.3 a 65°C por 14 días
10.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

- (A) Fase móvil.
(C) Benzocaina.
(E) Excipientes.

Figura No. 11

Placebo de las pastillas con sabor miel-limón (lote no. T-0B49):

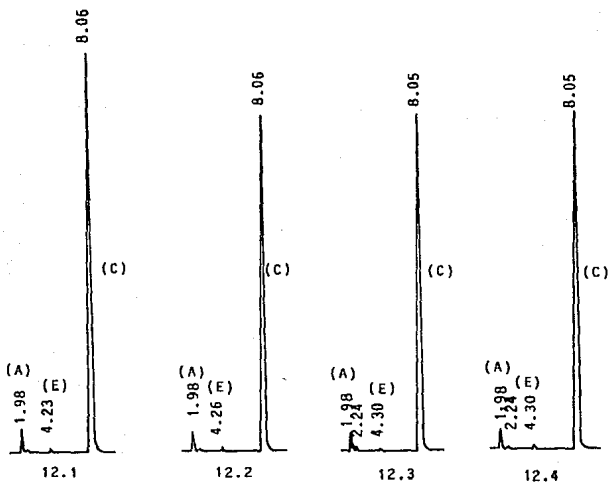


- 11.1 a temperatura ambiente
11.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
11.3 a 65°C por 14 días
11.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(E) Excipiente(s).

Figura No. 12

Producto con sabor miel-limón (lote no. E-0110):

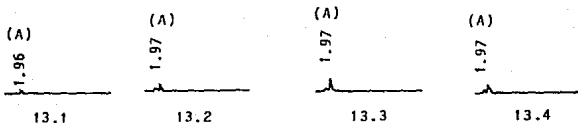


12.1 a temperatura ambiente
12.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
12.3 a 65°C por 14 días
12.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(C) Benzocaina.
(E) Excipiente(s).

Figura No. 13

Producto sin benzocaína de las pastillas con sabor lima (lote no. T-0850):



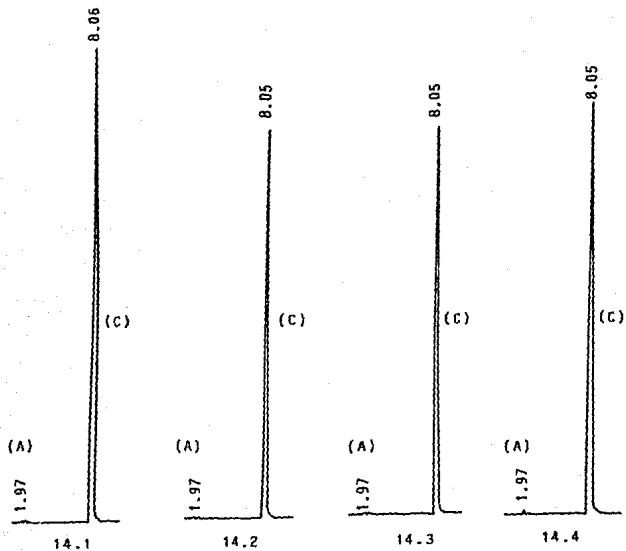
13.1 a temperatura ambiente
13.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
13.3 a 65°C por 14 días
13.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA
pág. 79

Figura No. 14

Producto sin cloruro de cetilpiridinio de las pastillas con sabor lima (lote no. T-0851):

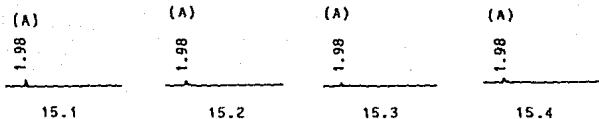


- 14.1 a temperatura ambiente
14.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
14.3 a 65°C por 14 días
14.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(C) Benzocaina.

Figura No. 15

Placebo de las pastillas con sabor lima (lote no. T-0852):



15.1 a temperatura ambiente

15.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días

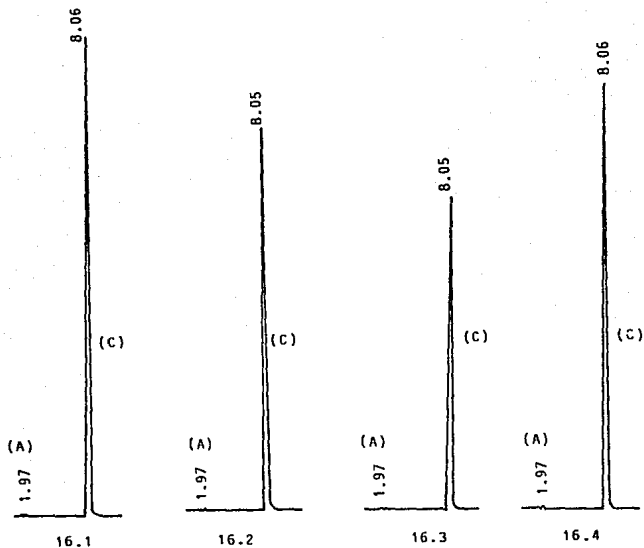
15.3 a 65°C por 14 días

15.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.

Figura No. 16

Producto con sabor lima (lote no. E-0111):



- 16.1 a temperatura ambiente
16.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
16.3 a 65°C por 14 días
16.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(C) Benzocaina.

A.2. DETERMINACION DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO POR CLAR

A.2.1. Preparación de las Soluciones

Solución de Referencia

Pesar con exactitud alrededor de 50 mg de cloruro de cetilpiridinio, sustancia de referencia o estándar de trabajo, y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. Disolver y llevar al volumen con fase móvil. Mezclar bien. (Concentración ± 0.50 mg/ml).

Tomar con pipeta volumétrica, por duplicado, 5 ml de la solución anterior y transferir a matraces volumétricos de 50 ml. Llevar al volumen con fase móvil. (Concentración ± 0.050 mg/ml de cloruro de cetilpiridinio). Soluciones R1 y R2.

Solución Problema

Pesar 10 pastillas y determinar el peso promedio (PP). Moler las pastillas en un mortero. Tamizar el polvo a través de malla no. 60 y mezclar el polvo. Pesar, por duplicado, una cantidad de polvo equivalente a 5 mg de cloruro de cetilpiridinio y transferir a matraces volumétricos de 50 ml. Añadir 30 ml de metanol (Lichrosolv) y agitar las muestras en el baño de ultrasonido por 15 minutos. Llevar al volumen con metanol (Lichrosolv) y mezclar bien. Filtrar las soluciones a través de papel Whatman no. 2. Tomar, con pipeta volumétrica, 5 ml de cada solución filtrada y

transferir a matraces volumétricos de 10 ml. Llevar al volumen con fase móvil y mezclar bien. Soluciones S1 y S2.

A.2.2. Parámetros Instrumentales

Condiciones

Fase móvil: 70 por ciento de metanol (Lichrosolv)/
30 por ciento de solución al 0.005 por
ciento de acetato de amonio. Filtrada
y degasificada.

Velocidad de flujo: 0.8 ml/min.

Columna: cartucho de compresión radial de
10 cm (long.) por 8 mm (d.i.),
empacado con partículas irregulares de
sílica gel de 10 micras de diámetro
recubiertas con grupos amino
(μ Bondapak NH₂, Waters).

Detector: U.V. a 254 nm, 0.1 UA.

Presión: aprox. 50 lb/pulg.².

Velocidad de la carta: 0.25 cm/min.

Volumen de inyección: 25 μ l.

Tiempo de corrida: 10 minutos.

Tiempo de retención

Cloruro de cetilpiridinio aprox. 3.5 min.

(Ver Figura No. 17)

Nota: Las condiciones cromatográficas descritas se aproximan

a los parámetros óptimos. Sin embargo, en base al equilibrio del sistema, a las variaciones en la inyección y en la columna, la elución y el tiempo de retención pueden variar.

A.2.2. Análisis

Inyectar por duplicado 25 mcl de las soluciones R1, R2, S1 y S2.

Una vez terminado el análisis, lavar la bomba y la columna primero con 100 ml de agua destilada, después con 75 ml de una solución de 60 por ciento de metanol (Lichrosolv) y 40 por ciento de agua destilada.

A.2.4. Cálculos

Medir con exactitud la respuesta (área o altura del pico) de la solución de referencia y de la solución problema.

a) Calcular la cantidad de cloruro de cetilpiridinio por pastilla con la fórmula siguiente:

$$\text{mg cloruro de cetilpiridinio/pastilla} = \frac{A_m}{A_r} * \frac{W_r}{W_p} * 0.1 * PP$$

Donde:

A_m = área o altura del pico del cloruro de cetilpiridinio en la solución problema.

A_r = área o altura del pico del cloruro de cetilpiridinio en

la solución de referencia.

W_r = peso del cloruro de cetilpiridinio, sustancia de referencia.

W_m = peso de la muestra, mg.

PP = peso promedio de las pastillas, mg.

$O. i$ = factor de dilución.

b) Calcular el porcentaje de cloruro de cetilpiridinio con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ cloruro de cetilpiridinio} = \frac{\text{mg cloruro de cetilpiridinio}}{\text{mg teóricos de cloruro de cetilpiridinio/pastillas}} \times 100$$

A.2.4. Validación del Método

Linealidad y Precisión del Sistema

Con el fin de determinar si la relación entre las concentraciones del cloruro de cetilpiridinio y el área o altura de los picos del cromatograma resultante siguen una respuesta lineal, cuando se trabaja con diferentes concentraciones del principio activo, se efectuó la linealidad del sistema; por lo que, se prepararon soluciones del 60 al 140 por ciento del nivel normal del análisis.

La Figura No. 17 muestra la linealidad del sistema y en la Tabla No. XI se muestran los resultados obtenidos y su análisis estadístico.

La precisión del sistema se probó realizando inyecciones de seis soluciones con una concentración del 100 por ciento de cloruro de cetilpiridinio del nivel normal del análisis. Ver los resultados en la Tabla No. XII.

Precisión y Exactitud del Método

La precisión y la exactitud del método se probaron analizando muestras preparadas añadiendo cloruro de cetilpiridinio al 80, 100 y 120 por ciento de la cantidad etiquetada a un producto sin cloruro de cetilpiridinio. Los resultados obtenidos y su análisis estadístico se muestran en las Tablas No. XIII, XIV y XV.

Reproducibilidad del Método

La reproducibilidad del método se probó analizando 12 muestras de pastillas, por un analista, seis muestras en dos días diferentes. Los resultados obtenidos y su análisis estadístico se muestran en la Tabla No. XV.

Especificidad en Estabilidad

La especificidad en estabilidad se estableció analizando los productos, los placebos y el cloruro de cetilpiridinio (materia prima), que fueron sometidos a condiciones extremas de temperatura, luz U.V. y humedad relativa de acuerdo con el siguiente programa:

Muestra	Condiciones	Tiempo
Cloruro de cetilpiridinio, materia prima.	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp).	14 días
Producto sin cloruro de cetilpiridinio (pastillas sabor: naranja, lima y miel-limón).	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp).	14 días
Producto sin benzocaína (pastillas sabor: naranja, lima y miel-limón).	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp).	14 días
Placebo (pastillas sabor: naranja, lima y miel-limón).	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp).	14 días
Producto (pastillas sabor: naranja, lima y miel-limón).	Temperatura ambiente; 32°C/80% H.R.; 65°C; luz U.V. (510 amp).	14 días

Se demostró la capacidad del sistema para separar el pico del cloruro de cetilpiridinio de los picos de los placebos y los posibles productos de descomposición. Los resultados se muestran de la Figura No. 18 a la 30.

Estabilidad de la Muestra

Para determinar la estabilidad de la muestra del cloruro de cetilpiridinio en el solvente se analizaron seis muestras de producto y se dejaron por 48 horas a 5°C. Después de este tiempo, se reanalizaron las muestras, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla No. XVII.

Tabla No. XI

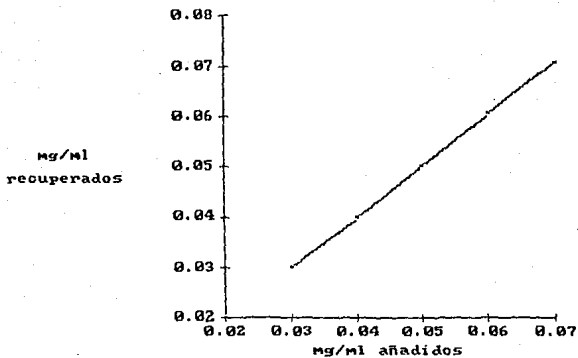
Linealidad del Sistema para el Método por CLAR para Cloruro de Cetilpiridinio

mg/ml añadidos	mg/ml recuperados	% Recuperación
0.0300	0.0299	99.67
0.0400	0.0398	99.50
0.0500	0.0500	100.00
0.0600	0.0605	100.83
0.0700	0.0704	100.57

Media	=	100.11%
Desviación estándar	=	0.5718
Coefficiente de variación	=	0.57%
Coefficiente de correlación	=	0.99996

Figura No. 17

Linealidad del Sistema para Cloruro de Cetilpiridinio por CLAR



Pendiente	= 0.98232
Intercepto	= 0.00078
Coefficiente de correlación	= 0.99996
Error estándar de la regresión	= 0.00072

Tabla No. XII

Precisión del Sistema para el Método por CLAR para Cloruro de
Cetilpiridinio

Número de Solución de Referencia	mg/ml recuperados	% Recuperación
1	0.0500	100.00
2	0.0501	100.20
3	0.0504	100.80
4	0.0498	99.60
5	0.0502	100.40
6	0.0501	100.20

Media	=	0.0501 mg/ml
Desviación estándar	=	0.0002
Coefficiente de variación	=	0.40%
Promedio del por ciento de recuperación	=	100.20%

Tabla No. XIII

Precisión y Exactitud del Método por CLAR para Cloruro de
Cetilpiridinio

Muestra	80% de la cantidad etiquetada (2.0 mg/pastilla)	% Recuperación
1	2.005	100.25
2	2.020	101.00
3	2.009	100.45
4	1.993	99.65
5	1.996	99.80
6	2.003	100.15

Media	=	2.004 mg/pastilla
Desviación estándar	=	0.010
Coefficiente de variación	=	0.50%
Promedio del por ciento de recuperación	=	100.22%
Límite de confianza (95%)	=	2.004 ± 0.010

Tabla No. XIV

Precisión y Exactitud del Método por CLAR para Cloruro de
Cetilpiridinio

Muestra	100% de la cantidad etiquetada (2.5 mg/pastilla)	% Recuperación
1	2.513	100.52
2	2.499	99.96
3	2.535	101.40
4	2.526	101.04
5	2.505	100.20
6	2.526	101.04

Media	=	2.517 mg/pastilla
Desviación estándar	=	0.014
Coefficiente de variación	=	0.56%
Promedio del por ciento de recuperación	=	100.69%
Límite de confianza (95%)	=	2.517 ± 0.015

Tabla No. XV

Precisión y Exactitud del Método por CLAR para Cloruro de Cetilpiridinio.

Muestra	120% de la cantidad etiquetada (3.0 mg/pastilla)	% Recuperación
1	3.001	100.03
2	3.001	100.03
3	3.001	100.03
4	3.000	100.00
5	3.010	100.33
6	3.009	100.30

Media	=	3.004 mg/pastilla
Desviación estándar	=	0.005
Coefficiente de variación	=	0.17%
Promedio del por ciento de recuperación	=	100.12%
Límite de confianza (95%)	=	3.004 ± 0.005

Tabla No. XVI

Reproducibilidad del Método por CLAR para Cloruro de
Cetilpiridinio

<u>Día</u>	<u>Químico</u>	<u>mg/pastilla</u>	<u>% Recuperación</u>
1	A	2.511	100.44
1	A	2.508	100.32
1	A	2.509	100.36
1	A	2.488	99.52
1	A	2.500	100.00
1	A	2.506	100.24
2	A	2.514	100.56
2	A	2.498	99.92
2	A	2.497	99.88
2	A	2.502	100.08
2	A	2.499	99.96
2	A	2.511	100.44

Media = 2.504 mg/pastilla
 Desviación estándar = 0.008
 Coeficiente de variación = 0.32%
 Promedio del por ciento de
 recuperación = 100.14%

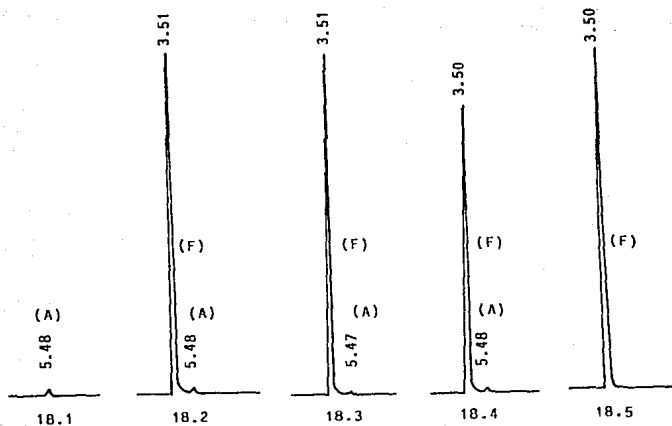
Tabla No. XVII

Estabilidad de la Muestra para el Método por CLAR para
Cloruro de Cetilpiridinio

% del Etiquetado Inicial (I)	% del Etiquetado después de 24 hrs. (S)	Relación (S/I)
100.56	99.44	0.989
99.92	97.08	0.972
99.98	97.75	0.978
100.08	98.80	0.987
99.96	97.83	0.979
100.44	98.71	0.983
Media =		
100.16%	98.27%	0.981

ESPECIFICIDAD EN ESTABILIDAD

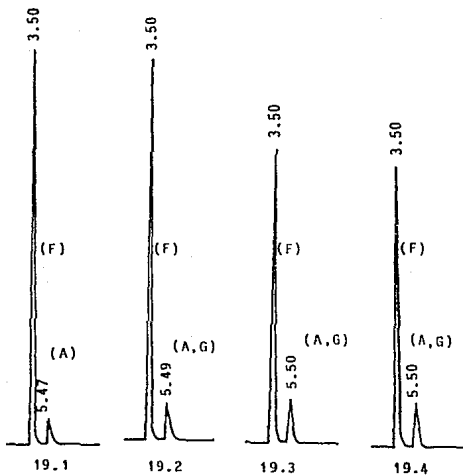
Figura No. 1B



- 18.1 Fase móvil.
18.2 Solución de referencia.
18.3 Cloruro de cetilpiridinio, materia prima, a 32°C/80% H.R. por 14 días.
18.4 Cloruro de cetilpiridinio, materia prima, a 65°C por 14 días.
18.5 Cloruro de cetilpiridinio, materia prima, a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días.
- (A) Fase móvil.
(F) Cloruro de cetilpiridinio.

Figura No. 19

Producto sin benzocaina de las pastillas con sabor naranja
(lote no. T-0844):

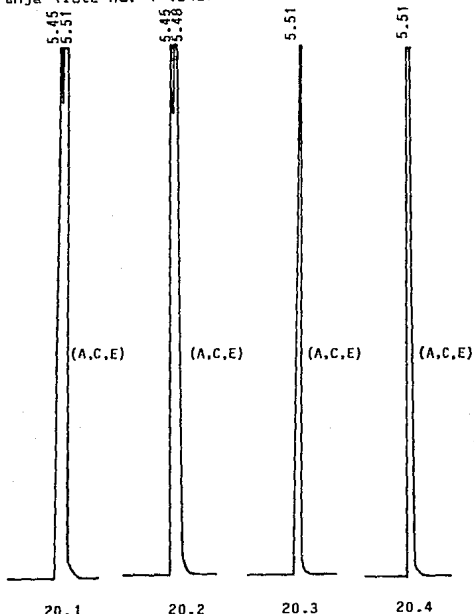


- 19.1 a temperatura ambiente
19.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
19.3 a 65°C por 14 días
19.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

- (A) Fase móvil.
(F) Cloruro de cetilpiridinio.
(G) Producto de degradación del cloruro de cetilpiridinio.

Figura No. 20

Producto sin cloruro de cetilpiridinio de las pastillas con sabor naranja (lote no. T-0845):

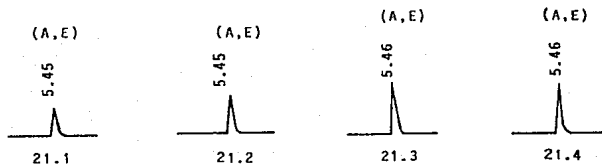


- 20.1 a temperatura ambiente
20.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
20.3 a 65°C por 14 días
20.4 a luz ultravioleta (S10 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(C) Benzocaina.
(E) Excipiente(s).

Figura no. 21

Placebo de las pastillas con sabor naranja (lote no. T-0846):

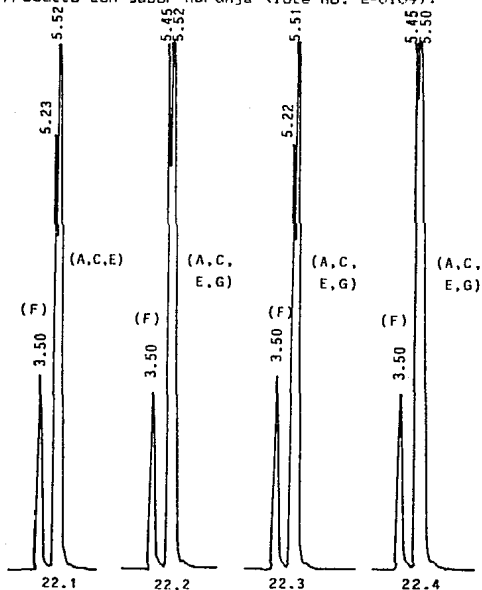


- 21.1 a temperatura ambiente
21.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
21.3 a 65°C por 14 días
21.4 a luz ultravioleta (S10 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(E) Excipiente(s).

Figura No. 22

Producto con sabor naranja (lote no. E-0109):

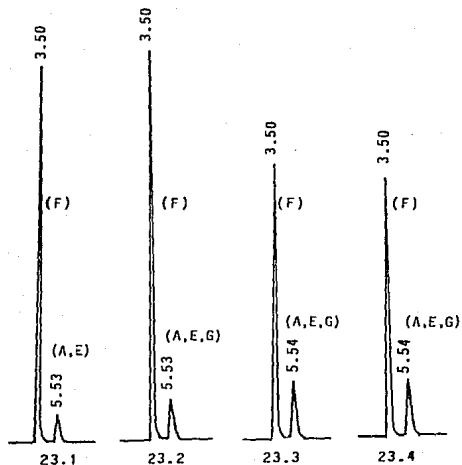


22.1 a temperatura ambiente
22.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
22.3 a 65°C por 14 días
22.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(C) Benzocaina.
(E) Excipiente(s).
(F) Cloruro de cetilpiridinio.
(G) Producto de degradación del cloruro de cetilpiridinio.

Figura No. 23

Producto sin benzocaina de las pastillas con sabor miel-limón
(lote no. T-0847):

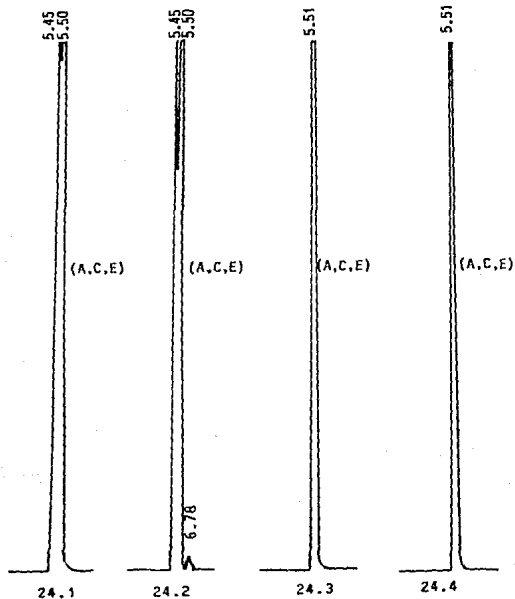


- 23.1 a temperatura ambiente
23.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
23.3 a 65°C por 14 días
23.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

- (A) Fase móvil.
(E) Excipiente(s).
(F) Cloruro de cetilpiridinio.
(G) Producto de degradación del cloruro de cetilpiridinio.

Figura No. 24

Producto sin cloruro de cetilpiridinio de las pastillas con sabor miel-limón (lote no. 7-0848):

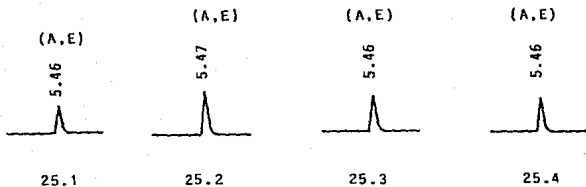


- 24.1 a temperatura ambiente
24.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
24.3 a 65°C por 14 días
24.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(C) Benzocaina.
(E) Excipiente(s).

Figura no. 25

Placebo de las pastillas con sabor miel-limón (lote no. T-0849):

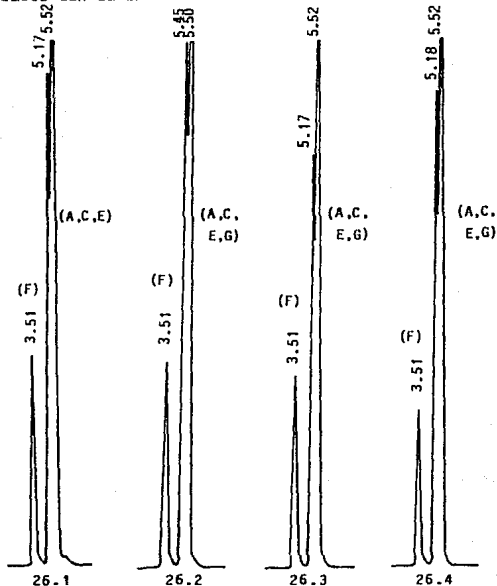


25.1 a temperatura ambiente
25.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
25.3 a 65°C por 14 días
25.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(E) Excipiente(s).

Figura No. 26

Producto con sabor miel-limón (lote no. E-0110):

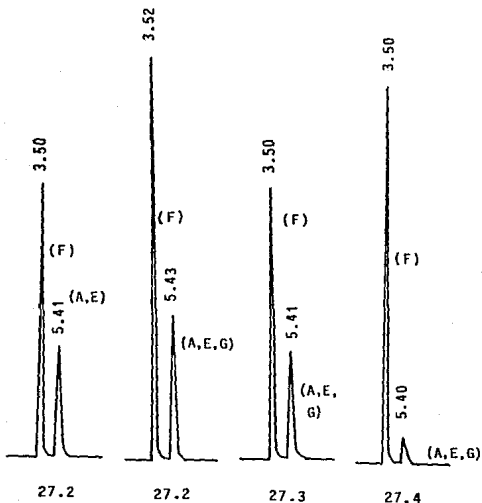


- 26.1 a temperatura ambiente
26.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
26.3 a 65°C por 14 días
26.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

- (A) Fase móvil.
(C) Benzocaína.
(E) Excipiente(s).
(F) Cloruro de cetilpiridinio.
(G) Producto de degradación del cloruro de cetilpiridinio.

Figura No. 27

Producto sin benzocaina de las pastillas con sabor lima (lote no. T-0850):

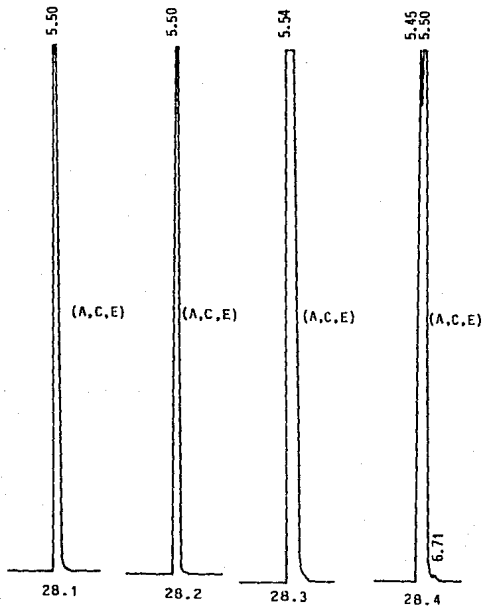


- 27.1 a temperatura ambiente
27.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
27.3 a 65°C por 14 días
27.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

- (A) Fase móvil.
(E) Excipiente(s).
(F) Cloruro de cetilpiridinio.
(G) Producto de degradación del cloruro de cetilpiridinio.

Figura No. 28

Producto sin cloruro de cetilpiridinio de las pastillas con sabor lima (lote no. T-0851):

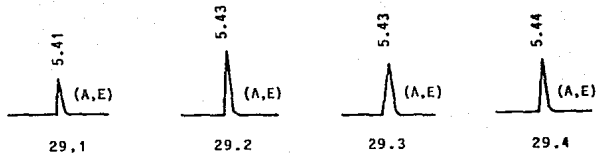


- 28.1 a temperatura ambiente
28.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
28.3 a 65°C por 14 días
28.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(C) Benzocaina.
(E) Excipiente(s).

Figura No. 29

Placebo de las pastillas con sabor lima (lote no. T-0852):

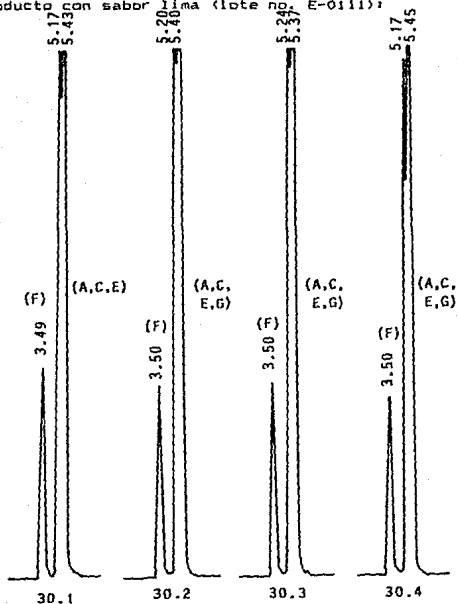


- 29.1 a temperatura ambiente
- 29.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
- 29.3 a 65°C por 14 días
- 29.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

(A) Fase móvil.
(E) Excipiente(s).

Figura No. 30

Producto con sabor Lima (lote no. E-0111):



- 30.1 a temperatura ambiente
30.2 a 32°C/80% H.R. por 14 días
30.3 a 65°C por 14 días
30.4 a luz ultravioleta (510 amp) por 14 días

- (A) Fase móvil.
(C) Benzocaina.
(E) Excipiente(s).
(F) Cloruro de cetilpiridinio.
(G) Producto de degradación del cloruro de cetilpiridinio.

A.3. IDENTIFICACION DE ANILINA POR CLAR

A.3.1. Preparación de las Soluciones

Solución de Referencia

Pesar con exactitud alrededor de 15.78 mg de anilina, estándar de trabajo, y transferir a un matraz volumétrico de 100 ml. Disolver y llevar al volumen con fase móvil. Mezclar bien. (Concentración ± 0.1578 mg/ml). Solución R.

Solución Problema

Transferir la muestra contenida en una ampollita de vidrio ámbar, tipo I, de 10 ml de capacidad, a un matraz volumétrico de 100 ml. Disolver y llevar al volumen con fase móvil. Mezclar bien. Solución S.

A.3.2. Parámetros Instrumentales

Condiciones

Fase móvil:	50 por ciento de metanol (Lichrosolv)/ 50 por ciento de agua destilada. Filtrada y degasificada.
Velocidad de flujo:	1.0 ml/min.
Columna:	Cartucho de compresión radial, de 10 cm (long.) por 8 mm (d.i.), empacado con partículas irregulares de sílica gel de 10 micras recubiertas

A.3.4. Validación del Método

Especificidad

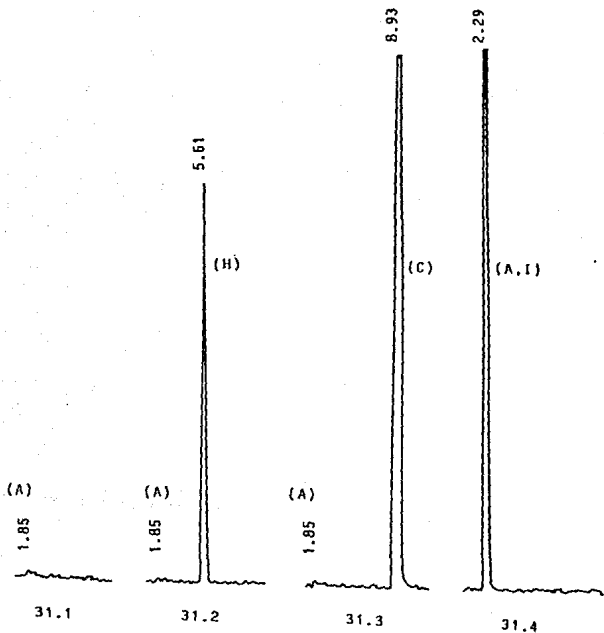
La especificidad se estableció analizando muestras de:

- a) Fase móvil.
- b) Benzocaína.
- c) Acido para-aminobenzoico.
- d) Anilina.

Se demostró la capacidad del sistema para separar el pico de la anilina de los picos de la benzocaína y del ácido para-aminobenzoico. Los resultados se muestran en la Figura No. 31.

ESPECIFICIDAD DEL METODO

Figura No. 31



- | | | |
|------|--------------------------|-----|
| 31.1 | Fase móvil | (A) |
| 31.2 | Anilina | (H) |
| 31.3 | Benzocaina | (C) |
| 31.4 | Acido para-aminobenzoico | (I) |

B. ESTABILIDAD

En este capítulo se describe la metodología empleada para determinar el comportamiento cinético y la estabilidad de la benzocaina y del cloruro de cetilpiridinio, tanto en solución como en estado sólido. Así como, los estudios de compatibilidad fármaco-fármaco y benzocaina-excipientes, y la estabilidad de las pastillas con sabor naranja, lima y miel-limón.

B.1. ESTABILIDAD DE LA BENZOCAINA

Para establecer el comportamiento cinético y la estabilidad de la benzocaina, tanto en solución como en estado sólido, se realizaron los siguientes estudios:

B.1.1. Estudio en Solución

Procedimiento

Preparar una solución de benzocaina, con una concentración de 7.0 mg/ml. Transferir con pipeta volumétrica 4 ml de la solución a frascos de vidrio claro tipo III, de 10 ml de capacidad, con tapón de hule natural (fórmula 541 de West Rubber) y con casquillo de aluminio.

Dividir los frascos en 4 grupos y someter cada uno de ellos, respectivamente, a la acción de: temperatura ambiente, 40°C, 55°C o 70°C. Analizar las muestras a tiempos determinados,

empleando 2 frascos para cada tiempo y condición.

Determinar el por ciento residual de benzocaina utilizando el método descrito en A.1.

B.1.2. Estudio en estado sólido

B.1.2.1. Pesar 28 mg de benzocaina, materia prima, en frascos de vidrio claro tipo III, de 10 ml de capacidad, con tapón de hule natural (fórmula 541 de West Rubber) y con casquillo de aluminio. Dividir los frascos en 4 grupos y someter cada uno de ellos, respectivamente, a la acción de: temperatura ambiente, 40°C, 55°C o 70°C. Analizar las muestras a tiempos determinados, empleando 2 frascos para cada tiempo y condición. Determinar el por ciento residual de benzocaina utilizando el método descrito en A.1.

B.1.2.2. Pesar 8 gramos de benzocaina, materia prima, en cajas petri, de vidrio. Dividir las cajas en 4 grupos y someter cada uno de ellos, respectivamente, a la acción de: temperatura ambiente, 40°C, 55°C o 70°C. Pesar aproximadamente cada 5 días las cajas petri. Calcular el por ciento residual de sólidos.

- B.1.2.3. Realizar el estudio de paralelismo por distribución "t" de Student para los métodos de evaluación del por ciento residual de benzocaína (B.1.2.1.) y del por ciento residual de sólidos (B.1.2.2.).
- B.1.2.4. (a) Pesar 500 mg de benzocaína, materia prima, en ampollitas de vidrio ámbar, tipo I, de 10 ml de capacidad.
- (b) Sellar las ampollitas.
- (c) Dividir en 3 grupos y someter cada uno de ellos, respectivamente, a la acción de: 40°C, 55°C o 70°C, durante 15 días.
- (d) Determinar la presencia o ausencia de anilina, en cada grupo de ampollitas, utilizando el método descrito en A.3.

B.1.3. Estudio de Compatibilidad Benzocaína-Cloruro de Cetilpiridinio

Para determinar la compatibilidad entre benzocaína y cloruro de cetilpiridinio, se llevó a cabo el siguiente estudio:

Procedimiento

- (a) Pesar 10 porciones de 28 mg de benzocaína y transferir cada una a un matraz volumétrico de 100 ml.
- (b) Añadir a cuatro de los matraces 11.66 mg de cloruro de cetilpiridinio y a todos ellos 20 ml de metanol (Licrosolv);

agitar hasta disolver la benzocaína y el cloruro de cetilpiridinio. Añadir a cada matraz 30 ml de agua destilada y agitar.

(c) Colocar los 4 matraces con solución de benzocaína y los 4 matraces con solución de benzocaína-cloruro de

cetilpiridinio en el autoclave, a 121°C, 15 lb/pulg², durante 90 y 120 minutos. Dejar enfriar y llevar al volumen con agua destilada.

(d) Determinar el por ciento residual de benzocaína para cada muestra, empleando el método descrito en A.1.

(e) Comparar los por cientos residuales de benzocaína obtenidos en las soluciones de benzocaína y en las soluciones de benzocaína-cloruro de cetilpiridinio.

B.2. ESTABILIDAD DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO

Para establecer el comportamiento cinético y la estabilidad del cloruro de cetilpiridinio, tanto en solución como en estado sólido, se realizaron los siguientes estudios:

B.2.1. Estudio en solución

Preparar una solución de cloruro de cetilpiridinio con una concentración de 0.50 mg/ml. Transferir con pipeta volumétrica 5 ml de la solución a frascos de vidrio claro tipo III, de 10 ml de capacidad, con tapón de hule natural (fórmula 541 de West Rubber) y con casquillo de aluminio.

Dividir los frascos en 4 grupos y someter cada uno de ellos, respectivamente, a la acción de: temperatura ambiente, 40°C, 55°C o 70°C. Analizar las muestras a tiempos determinados, empleando 2 frascos para cada tiempo y condición. Determinar el por ciento residual de cloruro de cetilpiridinio utilizando el método descrito en A.2.

B.2.2. Estudio en estado sólido

Pesar 50 mg de cloruro de cetilpiridinio, materia prima, en frascos de vidrio claro tipo III, de 10 ml de capacidad, con tapón de hule natural (fórmula 541 de West Rubber) y con casquillo de aluminio.

Dividir los frascos en 4 grupos y someter cada uno de ellos, respectivamente, a la acción de: temperatura ambiente, 40°C, 55°C o 70°C. Analizar las muestras a tiempos determinados, empleando 2 frascos para cada tiempo y condición. Determinar el por ciento residual de cloruro de cetilpiridinio utilizando el método descrito en A.2.

B.2.3. Estudio de Compatibilidad Cloruro de Cetilpiridinio-Benzocaina

Para determinar la compatibilidad entre el cloruro de cetilpiridinio y la benzocaina, se llevó a cabo el siguiente estudio:

Dividir los frascos en 4 grupos y someter cada uno de ellos, respectivamente, a la acción de: temperatura ambiente, 40°C, 55°C o 70°C. Analizar las muestras a tiempos determinados, empleando 2 frascos para cada tiempo y condición. Determinar el por ciento residual de cloruro de cetilpiridinio utilizando el método descrito en A.2.

B.2.2. Estudio en estado sólido

Pesar 50 mg de cloruro de cetilpiridinio, materia prima, en frascos de vidrio claro tipo III, de 10 ml de capacidad, con tapón de hule natural (fórmula 541 de West Rubber) y con casquillo de aluminio.

Dividir los frascos en 4 grupos y someter cada uno de ellos, respectivamente, a la acción de: temperatura ambiente, 40°C, 55°C o 70°C. Analizar las muestras a tiempos determinados, empleando 2 frascos para cada tiempo y condición. Determinar el por ciento residual de cloruro de cetilpiridinio utilizando el método descrito en A.2.

B.2.3. Estudio de Compatibilidad Cloruro de Cetilpiridinio-Benzocaina

Para determinar la compatibilidad entre el cloruro de cetilpiridinio y la benzocaina, se llevó a cabo el siguiente estudio:

Procedimiento

(a) Pesar 10 porciones de 50 mg de cloruro de cetilpiridinio y transferir cada una a un matraz volumétrico de 100 ml.

(b) Añadir a cuatro de los matraces 120 mg de benzocaína y a todos ellos 30 ml de metanol (Lichrosolv); agitar hasta disolver el cloruro de cetilpiridinio y la benzocaína. Añadir a cada matraz 20 ml de agua destilada y agitar.

(c) Colocar los 4 matraces con solución de cloruro de cetilpiridinio y los 4 matraces con solución de cloruro de cetilpiridinio-benzocaína en el autoclave, a 121°C,

²
15 lb/pulg, durante 90 y 120 minutos. Dejar enfriar y llevar al volumen con agua destilada.

(d) Determinar el por ciento residual de cloruro de cetilpiridinio para cada muestra, empleando el método descrito en A.2.

(e) Comparar el por ciento residual de cloruro de cetilpiridinio obtenido en las soluciones de cloruro de cetilpiridinio y en las soluciones de cloruro de cetilpiridinio-benzocaína.

B.3. COMPATIBILIDAD BENZOCAINA-EXCIPIENTES

Para determinar la compatibilidad entre la benzocaína y los excipientes presentes en las formulaciones se realizaron los siguientes estudios.

B.3.1. Estudios en autoclave

B.3.1.1. Utilizar los excipientes y las cantidades indicadas en la Tabla No. XVIII para 28 mg de benzocaína.

Tabla No. XVIII

Excipientes	mg por cada 28 mg de benzocaína
1. Sorbitol Merck M-30	7508.29
2. Polietilenglicol 8000	119.00
3. Aerosil 200	46.67
4. Estearato de Magnesio	119.00
5. Sabor Naranja	93.33
6. Sabor Lima	93.33
7. Sabor Miel	46.67
8. Sabor Limón	46.67

Pesar 4 porciones de la cantidad indicada para cada excipiente, y transferir cada una a un matraz volumétrico de 100 ml.

A cada matraz, añadir 28 mg de benzocaína y 20 ml de metanol (Lichrosolv). Colocar los matraces en

el baño de ultrasonido durante 15 minutos. Añadir 40 ml de agua destilada y agitar.

Colocar en el autoclave a 121°C y 15 lb/pulg², los matraces y muestrear, por duplicado, a los 90 y 120 minutos. Dejar enfriar y llevar al volumen con agua destilada. Determinar el por ciento residual de benzocaina para cada muestra, empleando el método descrito en A.1.

B.3.1.2. Para los colores:

(a) Pesar 42 mg de los colores amarillo no. 6 FD&C y amarillo no. 5 FD&C y transferir cada uno a un matraz volumétrico de 100 ml; añadir 10 ml de agua destilada, agitar y llevar al volumen con agua destilada. Identificar la solución como A, para el color amarillo no. 6, y como B, para el color amarillo no. 5. Transferir a 4 matraces volumétricos de 100 ml, 2 ml de la solución A, y a 4 matraces volumétricos de 100 ml, 2 ml de la solución B.

Añadir 28 mg de benzocaina y 20 ml de metanol (Lichrosolv) a cada uno de los matraces. Agitar bien y agregar 40 ml de agua destilada.

(b) Pesar 16.8 mg de color azul no. 1 FD&C y transferir a un matraz volumétrico de 500 ml. Añadir 80 ml de agua destilada, agitar y llevar al

volumen con agua destilada. Marcar la solución como C. Transferir a 4 matraces volumétricos de 200 ml, 2 ml de la solución C. A cada matraz añadir 56 mg de benzocaina y 40 ml de metanol (Lichrosolv); agitar bien. Agregar 80 ml de agua destilada, a cada matraz.

(c) Colocar en el autoclave a 121°C y 15 lb/pulg², los matraces y muestrear, por duplicado, a los 90 y 120 minutos. Dejar enfriar y llevar al volumen con agua destilada. Determinar el por ciento residual de benzocaina para cada muestra, empleando el método descrito en A.1.

B.3.1.3. Para el mentol:

Pesar 4 porciones de 14 mg de mentol y transferir cada una de ellas a un matraz volumétrico de 200 ml. A cada matraz añadir, 56 mg de benzocaina y 40 ml de metanol (Lichrosolv). Agitar bien. Añadir 80 ml de agua destilada, a cada matraz, y agitar.

Colocar en el autoclave, a 121°C y 15 lb/pulg², los matraces y muestrear, por duplicado, a los 90 y 120 minutos. Dejar enfriar y llevar al volumen con agua destilada. Determinar el por ciento residual de benzocaina para cada muestra, empleando el método descrito en A.1.

B.4. ESTABILIDAD DEL PRODUCTO

Para determinar la estabilidad del producto, someter pastillas con sabor naranja, lima y miel-limón a condiciones de temperatura ambiente, 40°C, 55°C, y a 32°C y 80% de humedad relativa. Analizar a tiempos determinados, empleando, para determinar el por ciento residual de benzocaina y el cloruro de cetilpiridinio, los métodos descritos en A.1. y A.2., respectivamente.

IV. RESULTADOS

En el presente capítulo se exponen los resultados obtenidos en:

1. Los estudios de estabilidad de la benzocaina y el cloruro de cetilpiridinio, tanto en solución como en estado sólido.
2. Los estudios de Arrhenius para los casos de la benzocaina en solución y del cloruro de cetilpiridinio en solución y en estado sólido.
3. El estudio de paralelismo por distribución "t" de Student para el caso de la benzocaina en estado sólido.

4. Los estudios de compatibilidad fármaco-fármaco y benzocaina-excipientes.

5. Los estudios de estabilidad de las formulaciones propuestas para las pastillas.

Así mismo, se presentan las gráficas que ilustran los resultados obtenidos.

Tabla No. XIX

Estabilidad de la Benzocaina en Solución

Tiempo (días)	T E M P E R A T U R A			
	temperatura ambiente	40°C	55°C	70°C
0	100.00 %	100.00 %	100.00 %	100.00 %
7	98.49 %	97.67 %	97.96 %	93.77 %
14	98.13 %	97.33 %	97.73 %	92.09 %
23	-----	-----	96.08 %	89.41 %
28	96.47 %	96.24 %	95.12 %	88.08 %
35	95.49 %	95.63 %	94.16 %	85.67 %
42	93.66 %	92.90 %	-----	-----

Tabla No. 31

Estabilidad de la benzocaina en solución
(Química Química)

Temperatura	°C	40.0	55.0	70.0
	°K	313.15	328.15	347.15
	$1/T_K$	2.9142×10^{-3}	2.9974×10^{-3}	2.9142×10^{-3}
Orden: Cero	r	0.9455	0.9875	0.9692
	a	-0.1751	-0.1573	-0.2765
	b	99.48%	99.68%	98.11%
	Sy/x	0.0617	0.3755	1.3915
	k	$0.3151 \times \text{día}^{-1}$	$0.1593 \times \text{día}^{-1}$	$0.3765 \times \text{día}^{-1}$
	$\text{II}(y_1 - y_1)^2 / n$	2.7695	0.5690	7.7524
Orden: Primer	r	0.9444	0.9801	0.9744
	a	-1.4001×10^{-3}	-1.6425×10^{-3}	-4.0135×10^{-3}
	b	99.49%	99.76%	98.17%
	Sy/x	4.0313×10^{-3}	2.7075×10^{-3}	0.0177
	k	$1.4001 \times 10^{-3} \text{ día}^{-1}$	$1.6425 \times 10^{-3} \text{ día}^{-1}$	$4.0135 \times 10^{-3} \text{ día}^{-1}$
	$\text{II}(y_1 - a)^2 / n$	3.0100	0.5570	0.4849
Orden: Segunda	r	0.9631	0.9835	0.9780
	a	1.4520×10^{-8}	1.6746×10^{-8}	4.3254×10^{-8}
	b	99.31%	99.72%	99.24
	Sy/x	9.4848×10^{-8}	3.8520×10^{-8}	1.3474×10^{-6}
	k	$1.4520 \times 10^{-8} (\text{día})^{-1}$	$1.6746 \times 10^{-8} (\text{día})^{-1}$	$4.3254 \times 10^{-8} (\text{día})^{-1}$
	$\text{II}(y_1 - a)^2 / n$	3.0243	0.5309	6.2578

1 Ver anexo no. 1

Tabla no. XXI

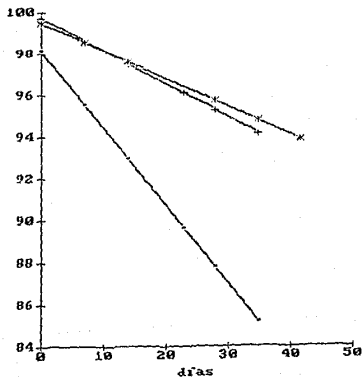
Estabilidad de la benzocaina en solución
(Archivos)

Orden	Cero	Primero	Segundo
Ea (kcal/mol)	7.1040	7.4114	7.7278
$k_{25^{\circ}\text{C}}$	6.7762×10^{-2} (% día ⁻¹)	6.7915×10^{-4} (día ⁻¹)	6.8026×10^{-6} (% día ⁻¹)
$t_{1/2}$ (años)	2.02	2.80	4.03
t_{90} (meses)	4.92	5.17	5.45

Figura No. 32

BENZOCAINA EN SOLUCION
ORDEN CERO

% residual
de benzocaína

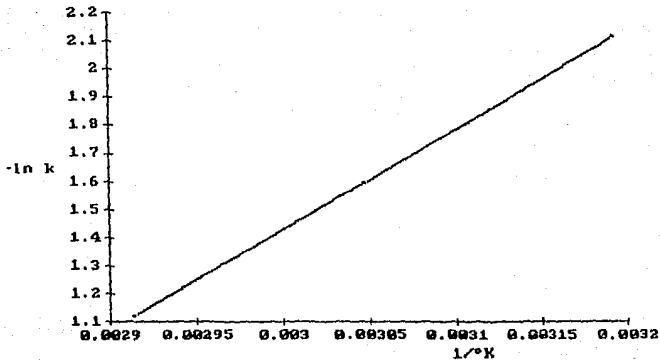


-- 70°C
+ 55°C
* 40°C

ajuste por
MIMOS
cuadrados

Figura No. 33

BENZOCAINA EN SOLUCION
ARRHENIUS: ORDEN CERO

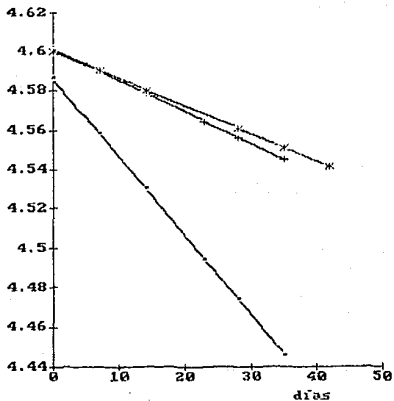


* ajuste por mínimos cuadrados

Figura No. 34

BENZOCAINA EN SOLUCION
PRIMER ORDEN

ln % residual
de benzocaina



• 70°C
+ 55°C
* 40°C

ajuste por
mínimos
cuadrados

Figura No. 35

BENZOCAINA EN SOLUCION
ARRHENIUS: PRIMER ORDEN

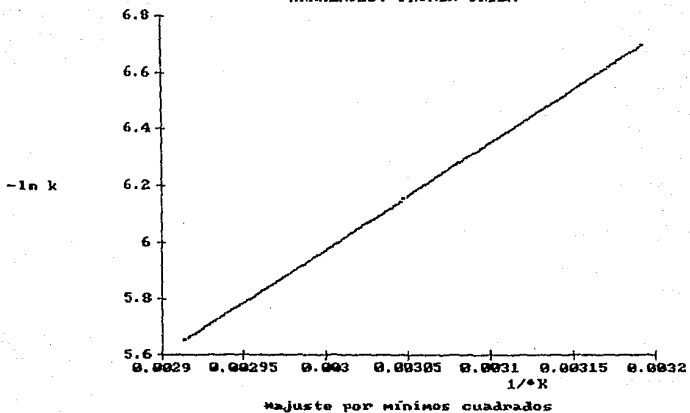


Figura No. 36

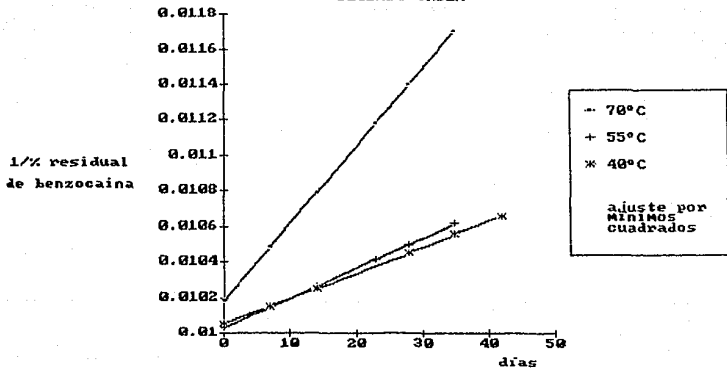
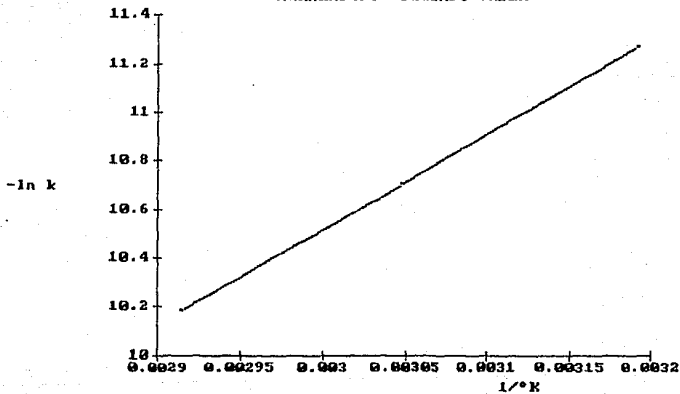
BENZOCAINA EN SOLUCION
SEGUNDO ORDEN

Figura No. 37

BENZOCAINA EN SOLUCION
ARRHENIUS: SEGUNDO ORDEN



* ajuste por mínimos cuadrados

Tabla No. XIII

ESTABILIDAD DE LA MONEDAJA EN ESTADO SÓLIDO

Tiempo (días)	Temperatura ambiente									
	I		K		P		A		S	
	% Residual de Benzocaina (a)	% Residual de Saliina (b)	% Residual de Benzocaina (a)	% Residual de Saliina (b)	% Residual de Benzocaina (a)	% Residual de Saliina (b)	% Residual de Benzocaina (a)	% Residual de Saliina (b)	% Residual de Benzocaina (a)	% Residual de Saliina (b)
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
3					99.43					94.11
4										
7										
10	99.25	99.99	98.22		97.03				97.17	
14										85.60
15	99.08	99.96	97.04		93.37			96.83	78.03	81.43
20										73.60
22							94.06	94.72	87.98	68.74
24										
28								93.27		
29		99.94								
30	99.04		94.22		97.11		92.10	91.63	87.44	
31			97.96							60.46
33								96.82		
35	99.38	99.95	94.05		96.48		90.42	90.52	49.07	52.09
36										
39										
40		99.93			96.09					41.28
41									89.12	
42	99.00		92.86							
45			97.93		95.44				87.91	34.93
46										30.49
49										
50										
51			99.93						86.37	
52					94.77					
54					90.63					24.10
57			99.95							
60					94.10				84.93	
61			99.96		93.91				81.93	18.02
63			99.93							
66									82.77	
70			99.95						81.73	
71					83.34					
75			99.93		83.01				80.20	
76										
78					92.81					
80			99.96		92.34				79.21	
84										
85			99.93		91.70				77.87	
90			99.93						74.63	
94			99.93		91.48				73.55	
95			99.93		91.29				74.12	
100										

Resultados obtenidos por:
 (a) Ensayo por CLAM
 (b) Por diferencia de peso

Figura No. 38
BENZOCAINA EN ESTADO SOLIDO
Temperatura ambiente

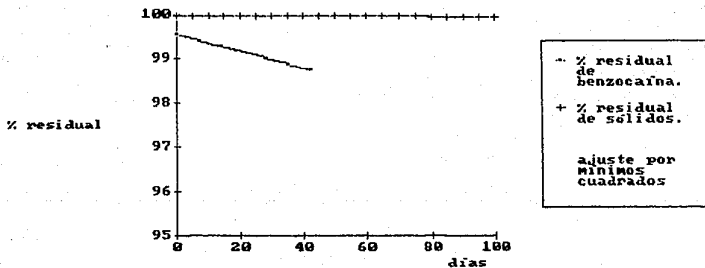


Figura No. 39
BENZOCAINA EN ESTADO SOLIDO
40°C

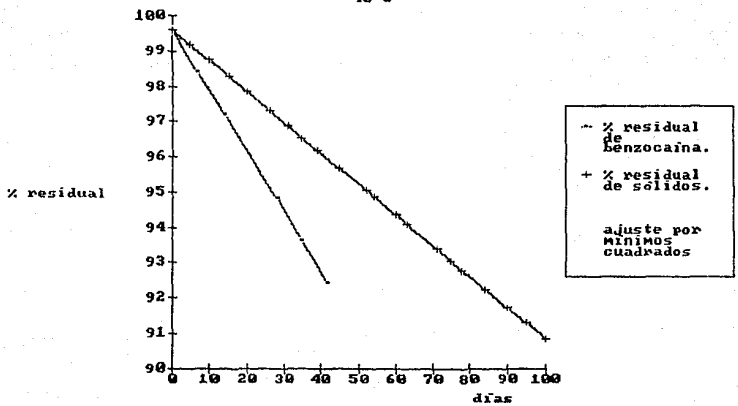


Figura No. 40

BENZOCAINA EN ESTADO SOLIDO

55°C

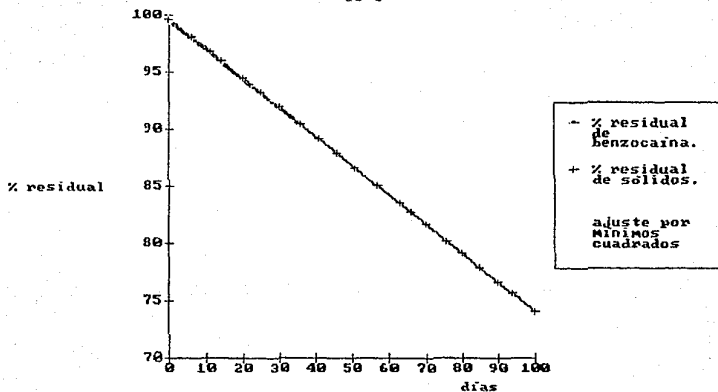


Figura No. 41

BENZOCAINA EN ESTADO SOLIDO
70°C

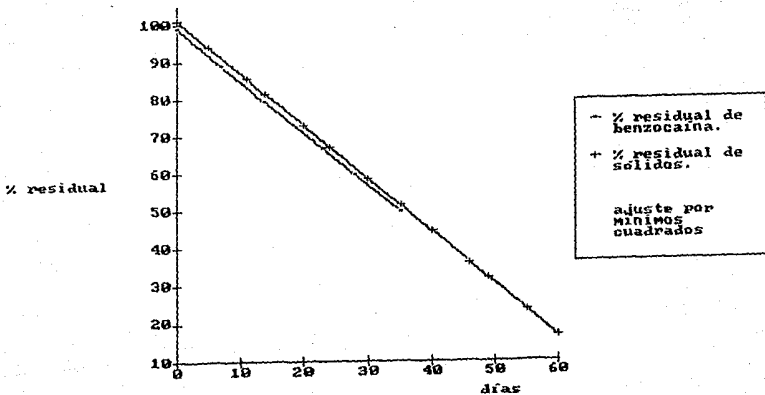


Tabla No. XXIII

ESTUDIO DE PARALELISMO

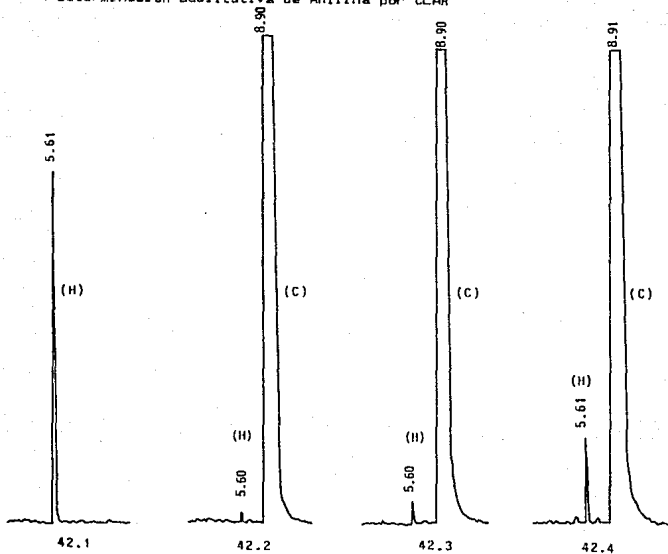
Temperatura		% Residual de benzocaina	% Residual de sólidos	t 95%	t cal.	#1
Temperatura ambiente	n	6.0	21.0			
	m	- 0.0192	- 0.0004			
	r	- 0.5027	- 0.6982	2.0687	0.0308	
	b	99.53%	99.98%			
	Sy/x	0.6110	0.0122			
40°C	n	6.0	21.0			
	m	- 0.1711	- 0.0878			
	r	- 0.9906	- 0.9973	2.0687	0.1880	
	b	99.62%	99.63%			
	Sy/x	0.4375	0.1925			
55°C	n	6.0	21.0			
	m	- 0.2546	- 0.2562			
	r	- 0.9904	- 0.9999	2.0687	0.0029	
	b	99.44%	99.69%			
	Sy/x	0.5244	0.1321			
70°C	n	6.0	13.0			
	m	- 1.4059	- 1.4117			
	r	- 0.9979	- 0.9986	2.0687	0.0041	
	b	98.85%	101.09%			
	Sy/x	1.3526	1.5109			

#1 Ver Anexo No. 2

Figura No. 42

BENZOCAINA EN ESTADO SOLIDO

Determinación Cualitativa de Anilina por CLAR



- 42.1 Solución de referencia.
42.2 Benzocaina, materia prima, a 40°C por 15 días
42.3 Benzocaina, materia prima, a 55°C por 15 días
42.3 Benzocaina, materia prima, a 70°C por 15 días

(H) Anilina.
(C) Benzocaina.

COMPATIBILIDAD BENZOCAINA - CLORURO DE CETILPIRIDINIO

(Estudio en autoclave a 121°C y 15 lb/pulg²).

Los datos que se presentan son los por cientos residuales de benzocaina.

S o l u c i ó n	T I E M P O (minutos)		
	0	90	120
benzocaina	99.44%	97.87%	96.05%
benzocaina-cloruro de cetilpiridinio	99.44%	97.37%	92.27%

Figura No. 43

COMPATIBILIDAD BENZOCAINA-CLORURO DE CETILPIRIDINIO

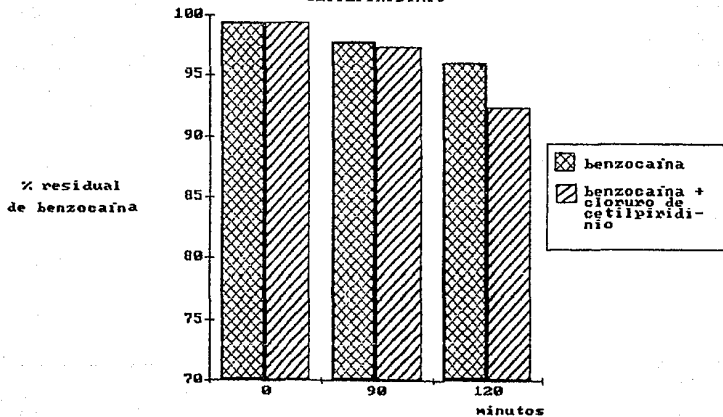


Tabla No. XXV

COMPATIBILIDAD BENZOCAINA - EXCIPIENTES

(Estudio en autoclave a 121°C y 15 lb/pulg²).

Los datos que se presentan son los por cientos residuales de benzocaína.

Ex c i p i e n t e s	T I E M P O (minutos)		
	0	90	120
Benzocaína	99.69%	97.67%	96.03%
1. Sorbitol Merck M-30	---	97.79%	96.05%
2. Polietilenglicol 8000	---	97.77%	92.07%
3. Aerosil 200	---	98.75%	97.92%
4. Estearato de Magnesio	---	99.87%	97.77%
5. Sabor Naranja	---	97.87%	93.77%
6. Sabor Lima	---	95.74%	93.14%
7. Sabor Miel	---	99.46%	93.82%
8. Sabor Limón	---	98.46%	95.69%
9. Amarillo no. 6 FD&C	---	97.21%	91.59%
10. Amarillo no. 5 FD&C	---	96.99%	95.49%
11. Azul no. 1 FD&C	---	96.04%	94.68%
12. Mentol	---	98.55%	82.23%

Figura No. 44
COMPATIBILIDAD BENZOCAINA-EXCIPIENTES
120 minutos

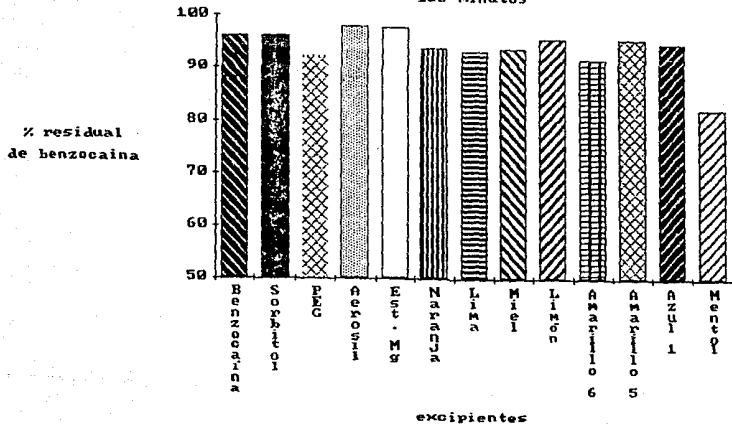


Tabla No. XXVI

ESTABILIDAD DE BENZOCAINA EN PASTILLAS

(por ciento promedio de tres lotes del producto para cada sabor)

Pastillas con sabor de:	Tiempo	Condición	Pastillas sin mental	Pastillas con mental	Materia Prima 1
	Inicial	T.A.	100.00%	100.00%	100.00%
	1 mes	T.A.	---	98.00%	98.96%
	3 meses	T.A.	99.82%	---	97.80%
	6 meses	T.A.	90.49%	90.70%	92.23%
Naranja	1 mes	32°C/80% HR	100.50%	91.53%	---
	2 meses	32°C/80% HR	89.36%	---	---
	1 mes	40°C	---	87.69%	94.40%
	2 meses	40°C	88.46%	---	89.35%
	3 meses	40°C	85.90%	79.01%	84.27%
	1 mes	55°C	92.07%	83.25%	91.80%
Lima	Inicial	T.A.	100.00%	100.00%	100.00%
	1 mes	T.A.	---	97.25%	98.96%
	3 meses	T.A.	91.29%	---	97.80%
	6 meses	T.A.	88.50%	70.23%	97.23%
	1 mes	22°C/80% HR	90.76%	91.96%	---
	2 meses	22°C/80% HR	87.13%	---	---
	1 mes	40°C	---	88.90%	94.40%
	2 meses	40°C	85.83%	---	89.35%
3 meses	40°C	84.14%	80.82%	84.27%	
1 mes	55°C	86.16%	82.30%	91.80%	
Miel-Limon	Inicial	T.A.	100.00%	100.00%	100.00%
	1 mes	T.A.	---	97.47%	98.96%
	3 meses	T.A.	91.57%	---	97.80%
	6 meses	T.A.	84.32%	90.20%	97.23%
	1 mes	32°C/80% HR	91.94%	93.57%	---
	2 meses	32°C/80% HR	86.98%	---	---
	1 mes	40°C	---	88.80%	94.40%
	2 meses	40°C	86.82%	---	89.35%
	3 meses	40°C	84.91%	81.05%	84.27%
	1 mes	55°C	87.12%	84.90%	91.80%

T.A. = temperatura ambiente
HR = humedad relativa

1 Valores obtenidos de las Figuras, No. 38, 39, 40.

Figura No. 45

ESTABILIDAD DE BENZOCAINA
EN PASTILLAS (Sabor Naranja)
temperatura ambiente

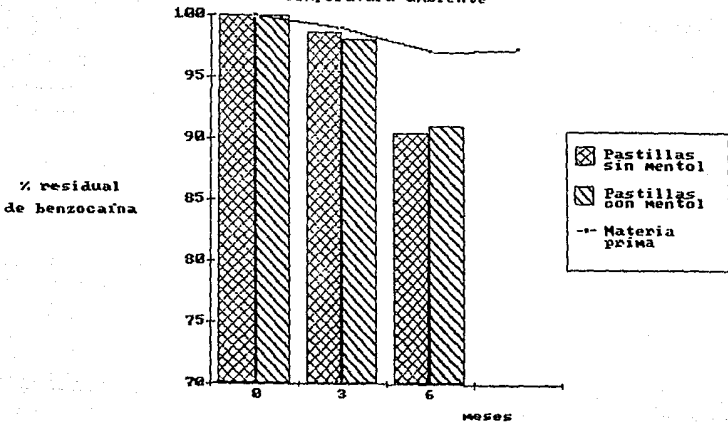


Figura No. 46

ESTABILIDAD DE BENZOCAINA
EN PASTILLAS (Sabor Lima)

Temperatura ambiente

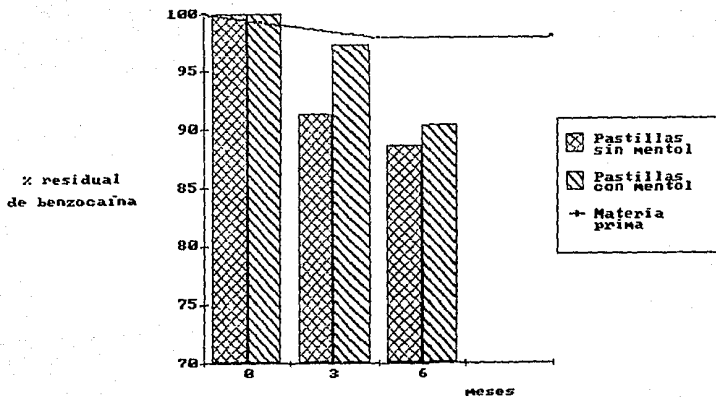
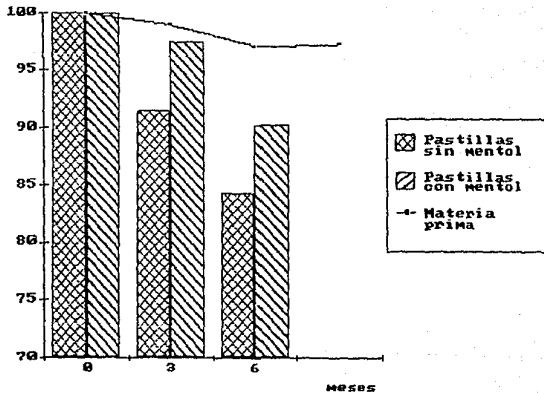


Figura No. 47

ESTABILIDAD DE BENZOCAINA
EN PASTILLAS (Sabor Miel-Limon)

Temperatura ambiente

% residual
de benzocaína



MESES

Figura No. 48

ESTABILIDAD DE BENZOCAINA
EN PASTILLAS

32°C , 80% H.R.

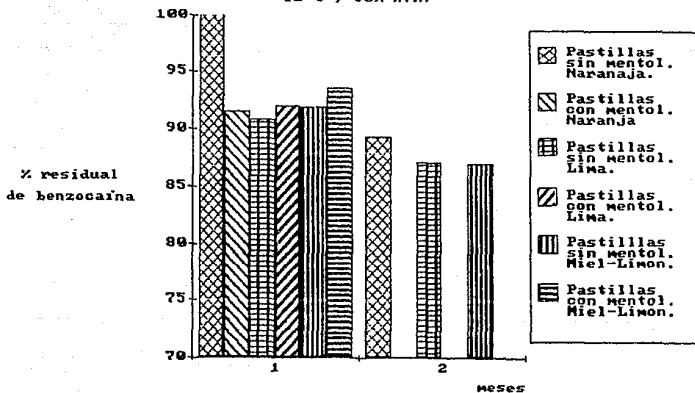


Figura No. 49

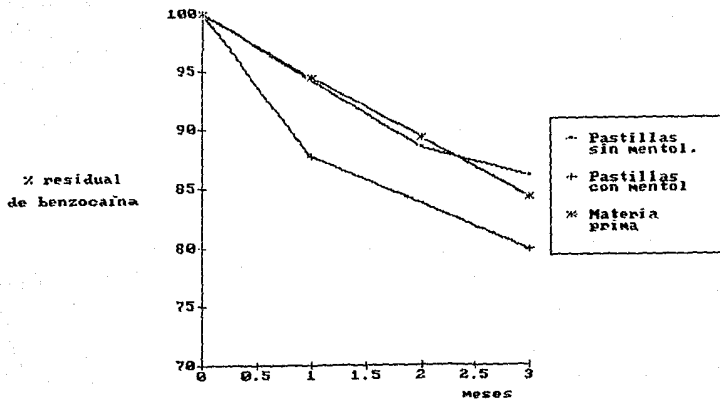
ESTABILIDAD DE BENZOCAINA
EN PASTILLAS (Sabor Naranja)
40°C

Figura No. 50

ESTABILIDAD DE BENZOCAINA
EN PASTILLAS (Sabor Lima)
40°C

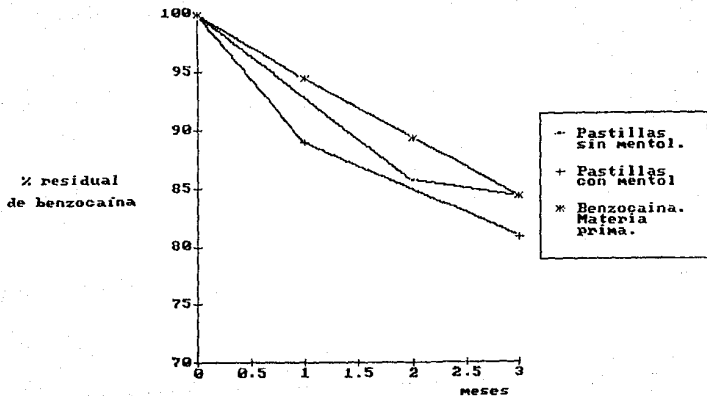
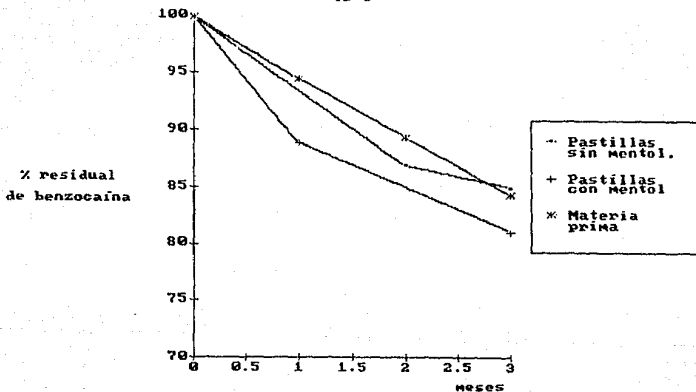


Figura No. 51

ESTABILIDAD DE BENZOCAINA
EN PASTILLAS (Sabor Miel-Limon)
40°C



psl. 154

Figura No. 52

ESTABILIDAD DE BENZOCAINA
EN PASTILLAS

55°C, 1 mes

% residual
de benzocaína

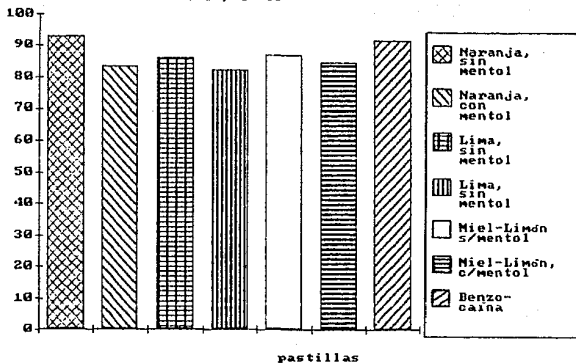


Tabla No. XXVII

ESTABILIDAD DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN SOLUCION

T E M P E R A T U R A				
Tiempo (días)	temperatura ambiente	40°C	55°C	70°C
0	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
14	99.87%	97.31%	96.42%	94.85%
21	99.30%	96.37%	95.93%	94.36%
28	98.64%	96.09%	93.53%	90.67%
46	97.25%	92.84%	91.67%	88.26%
58	---	---	88.53%	---
60	97.04%	91.34%	---	81.63%
72	---	---	86.67%	---
76	96.31%	89.43%	---	79.69%
86	---	---	84.19%	---
90	95.68%	87.78%	---	75.47%
102	---	---	82.17%	---
105	95.26%	85.92%	---	72.59%
116	---	---	79.81%	---
120	95.02%	84.16%	---	68.82%

ESTABILIDAD DEL CLORURO DE CETILPÍRIDINIO EN SOLUCIÓN
'Cloruro Quínico'

Temperatura		40.0	50.0	70.0
°C				
°F		103.15	122.15	158.15
1/K		3.1924×10^{-3}	3.0474×10^{-3}	2.8142×10^{-3}
Orden	r	0.9976	0.9963	0.9956
	w	-0.1241	-0.1378	-0.2560
	E	99.35 %	99.15 %	99.97 %
	S _{yy}	0.3826	0.2506	1.0660
	k	0.1241 día^{-1}	0.1678 día^{-1}	0.2560 día^{-1}
$S_{xx} = 0.11^2$		1.1697	2.7676	6.1906
Primer Orden	r	0.9986	0.9978	0.9960
	w	-1.4077×10^{-3}	-1.7014×10^{-3}	-3.0700×10^{-3}
	E	99.52 %	99.44 %	99.80 %
	S _{yy}	3.2212×10^{-3}	5.2914×10^{-3}	1.7493×10^{-2}
	k	$1.4077 \times 10^{-3} \text{ día}^{-1}$	$1.7014 \times 10^{-3} \text{ día}^{-1}$	$3.0700 \times 10^{-3} \text{ día}^{-1}$
$S_{xx} = 0.11^2$		0.7651	1.9401	7.1609
Segundo Orden	r	0.9990	0.9990	0.9954
	w	1.5379×10^{-5}	2.1351×10^{-5}	3.7118×10^{-5}
	b	94.73 %	99.01 %	100.94 %
	S _{yy}	2.4464×10^{-5}	4.5948×10^{-5}	1.5220×10^{-4}
	k	$1.5379 \times 10^{-5} \text{ día}^{-1}$	$2.1351 \times 10^{-5} \text{ día}^{-1}$	$3.7118 \times 10^{-5} \text{ día}^{-1}$
$S_{xx} = 1.2111^2$		0.5829	1.7801	17.2028

* Ver Anexo 13.]

Tabla No. XXIX

ESTABILIDAD DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN SOLUCION

(Arrhenius)

Orden	Cero	Primero	Segundo
E_a (kcal/mol)	4.8544	5.5255	6.2426
$k_{25^\circ C}$	8.4908×10^{-2} (% día ⁻¹)	8.7070×10^{-4} (día ⁻¹)	8.9010×10^{-6} (1/X día) ⁻¹
$t_{1/2}$ (años)	1.64	2.21	3.08
t_{90} (meses)	3.93	4.03	4.16

% residual de
cloruro de
cetilpiridinio

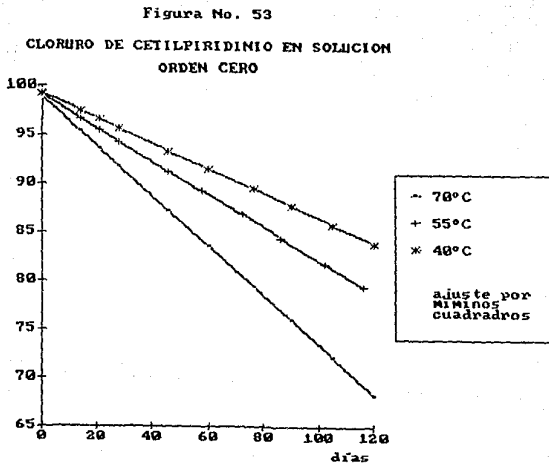
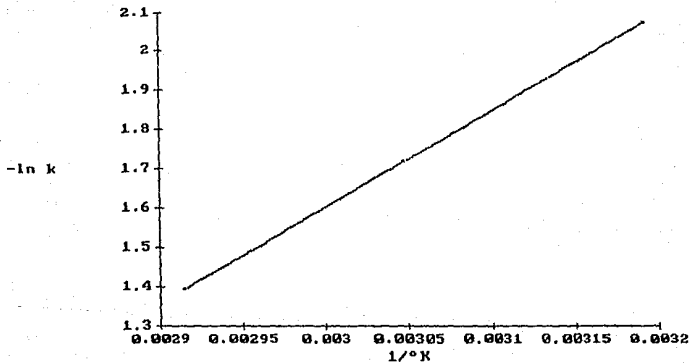


Figura No. 54

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN SOLUCION

ARRHENIUS: ORDEN CERO



* ajuste por mínimos cuadrados

Figura No. 55

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN SOLUCION
PRIMER ORDEN

ln % residual
de cloruro de
cetilpiridinio

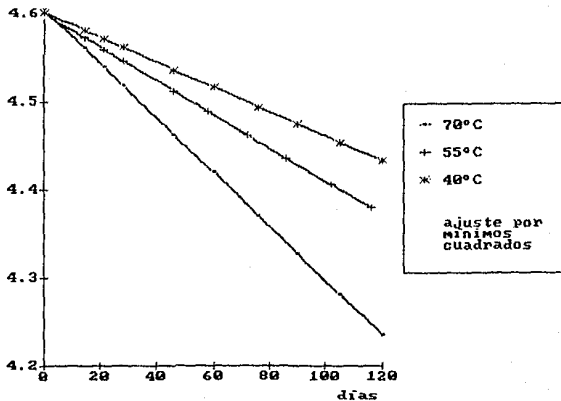
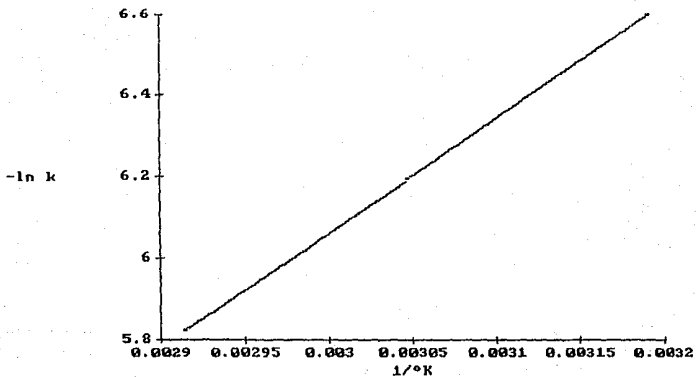


Figura No. 56

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN SOLUCIÓN

ARRHENIUS: PRIMER ORDEN



* ajuste por mínimos cuadrados

Figura No. 57

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN SOLUCIÓN
SEGUNDO ORDEN

% residual
de cloruro de
cetilpiridinio

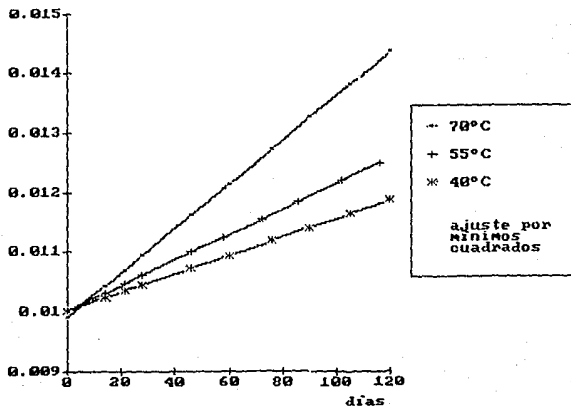
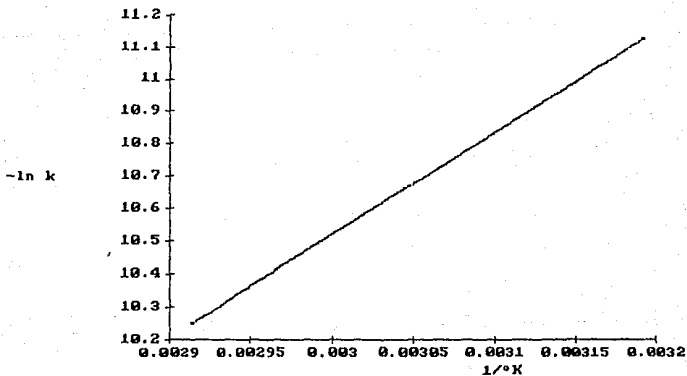


Figura No. 58

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN SOLUCIÓN
ARRHENIUS: SEGUNDO ORDEN



* ajuste por mínimos cuadrados

Tabla No. XXX

ESTABILIDAD DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN ESTADO SOLIDO

Tiempo (días)	T E M P E R A T U R A			
	temperatura ambiente	40°C	55°C	70°C
0	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
14	100.94%	98.59%	97.85%	96.57%
21	100.11%	97.81%	97.05%	95.55%
28	100.39%	97.09%	95.93%	94.49%
46	100.41%	95.56%	93.61%	92.12%
58	---	---	92.84%	---
60	100.36%	93.48%	---	90.03%
72	---	---	90.26%	---
76	100.01%	92.31%	---	87.61%
86	---	---	89.11%	---
90	100.22%	90.75%	---	85.32%
102	---	---	87.03%	---
105	100.18%	89.36%	---	83.21%
116	---	---	85.16%	---
120	100.23%	87.58%	---	80.89%

Tabla No. 1111

ESTABILIDAD DEL CLORURO DE DIFILIPINO EN ESTADO
SOLIDO
(CLASIS DE QUIMICA)

	°C	40.0	50.0	70.0
Temperatura	°K	313.15	328.15	343.15
	(°K)	3.1954×10^{-3}	3.0474×10^{-3}	2.9142×10^{-3}
r		0.9992	0.9983	0.9982
	a	-0.1057	-0.1751	-0.1529
Orden	b	100.01 %	99.68 %	99.12 %
Cero	By/a	0.1785	0.2873	0.3941
	k	0.1027×10^{-1}	0.1231×10^{-1}	0.1525×10^{-1}
	$2(t) - a^{1/2} \times$	0.2548	0.4533	1.2392
r		0.9996	0.9985	0.9987
	a	-1.0952×10^{-2}	-1.3541×10^{-2}	-1.6462×10^{-2}
Primer	b	100.12 %	99.64 %	99.36 %
Orden	By/a	2.1144×10^{-3}	2.2626×10^{-3}	2.7519×10^{-3}
	k	$1.0952 \times 10^{-2} \times 10^{-1}$	$1.2541 \times 10^{-2} \times 10^{-1}$	$1.6462 \times 10^{-2} \times 10^{-1}$
	$2(t) - a^{1/2} \times$	0.2118	0.5940	1.0299
r		0.9992	0.9982	0.9981
	a	1.1494×10^{-3}	1.4887×10^{-3}	1.8614×10^{-3}
Segundo	b	100.24 %	100.04 %	99.71 %
Orden	By/a	2.2776×10^{-3}	2.6244×10^{-3}	3.0433×10^{-3}
	k	$1.1494 \times 10^{-3} \times 10^{-1}$	$1.4887 \times 10^{-3} \times 10^{-1}$	$1.8614 \times 10^{-3} \times 10^{-1}$
	$2(t) - 1/2 a^{1/2} \times$	0.4480	0.7279	1.2902

* Ver Anexo No. 1

Tabla No. XXXII

ESTABILIDAD DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN ESTADO
SOLIDO (ácido) α

Orden	Cero	Primero	Segundo
E_a (kcal/mol)	2.8115	3.1096	3.4171
$k_{25^\circ C}$	8.1585×10^{-2} (% día ⁻¹)	8.4741×10^{-4} (día ⁻¹)	8.8054×10^{-6} (1/2 día ⁻¹)
$t_{1/2}$ (años)	1.70	2.27	3.11
t_{90} (meses)	4.09	4.14	4.21

Figura No. 59

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN ESTADO SOLIDO
ORDEN CERO

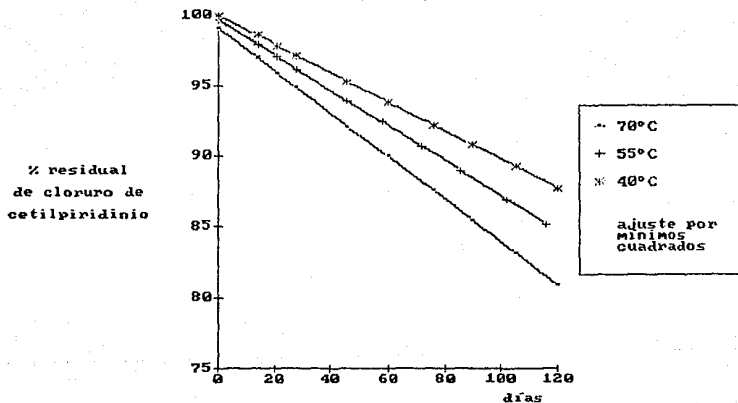
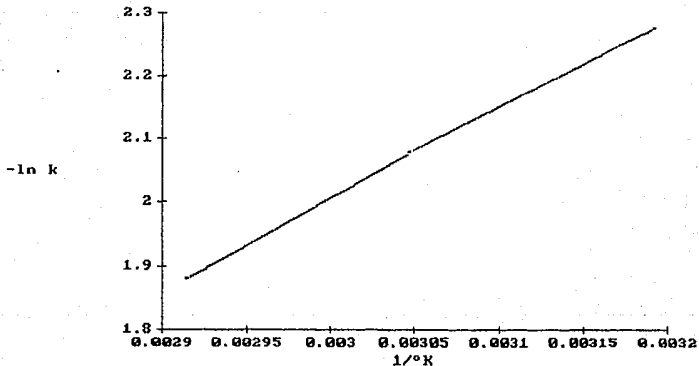


Figura No. 60

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN ESTADO SÓLIDO

ARRHENIUS: ORDEN CERO



* ajuste por mínimos cuadrados

Figura No. 61

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN ESTADO SOLIDO
PRIMER ORDEN

ln % residual
de cloruro de
cetilpiridinio

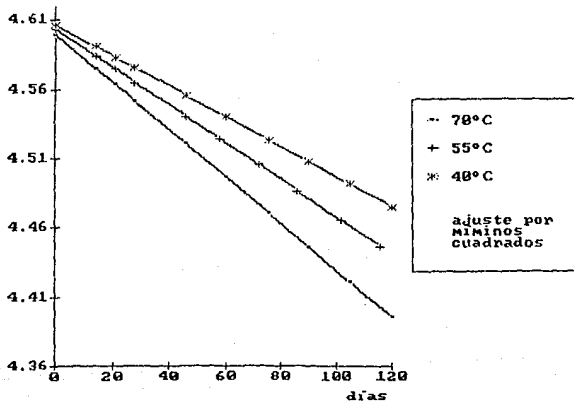
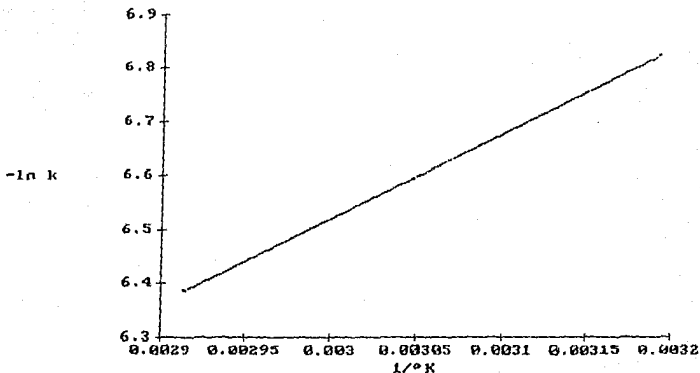


Figura No. 62

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN ESTADO SÓLIDO

ARRHENIUS: PRIMER ORDEN



* ajuste por mínimos cuadrados

Figura No. 63

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN ESTADO SOLIDO
SEGUNDO ORDEN

1/X residual
de cloruro de
cetilpiridinio

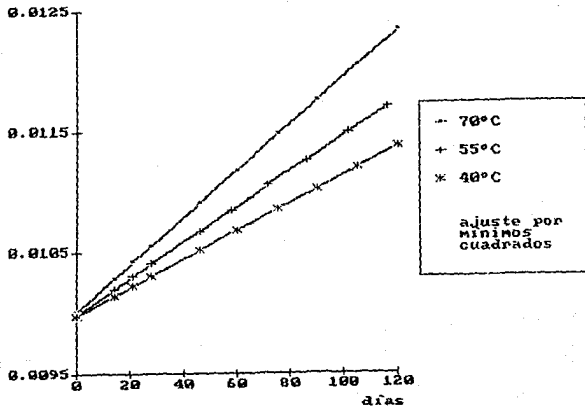
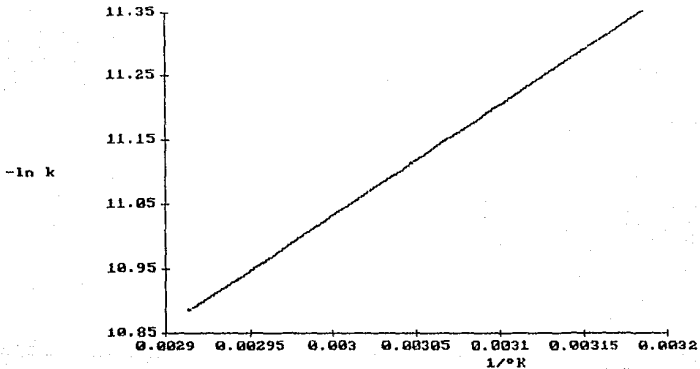


Figura No. 64

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN ESTADO SOLIDO

ARRHENIUS: SEGUNDO ORDEN



* ajuste por mínimos cuadrados

Tabla No. XXXIII

COMPATIBILIDAD CLORURO DE CETILPIRIDINIO - BENZOCAINA

(Estudio en autoclave a 121°C y 15 lb/pulg²).

Los datos que se presentan son los por cientos residuales de cloruro de cetilpiridinio.

S o l u c i ó n	T I E M P O (minutos)		
	0	90	120
Cloruro de Cetilpiridinio	99.89%	99.35%	99.02%
Cloruro de cetilpi ridinio-benzocaina	99.89%	99.43%	99.21%

Figura No. 65

COMPATIBILIDAD DE CLORURO DE
CETILPIRIDINIO - BENZOCAINA

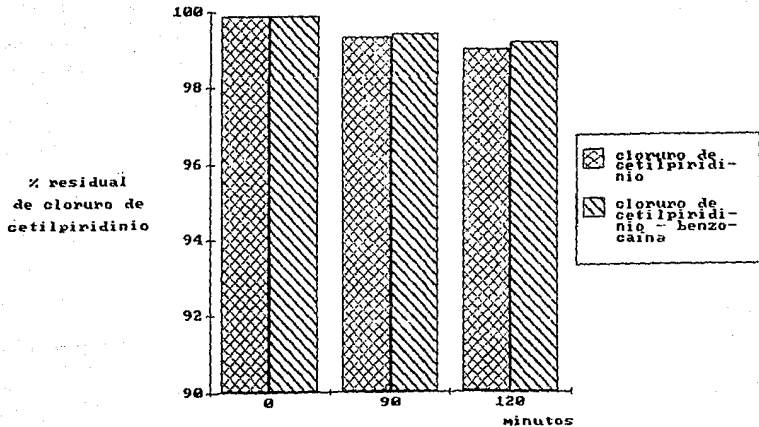


Tabla No. XXXIV

ESTABILIDAD DEL CLORURO DE CETILPIRIDINIO EN PASTILLAS

(Por ciento promedio de 3 lotes del producto para cada sabor.)

Pastillas con sabor de:	Tiempo	Condición	Pastillas sin mentol	Materia Prima †	
Naranja	Inicial	T.A.	100.00%	100.00%	
	3 meses	T.A.	101.14%	100.23%	
	6 meses	T.A.	100.91%	100.07%	
	1 mes	32°C/80% HR	99.53%	---	
	2 meses	32°C/80% HR	97.90%	---	
	2 meses	40°C	100.85%	93.84%	
	3 meses	40°C	99.60%	90.76%	
	1 mes	55°C	97.89%	95.92%	
	Lima	Inicial	T.A.	100.00%	100.00%
		3 meses	T.A.	99.13%	100.23%
6 meses		T.A.	99.74%	100.07%	
1 mes		32°C/80% HR	100.22%	---	
2 meses		32°C/80% HR	100.66%	---	
2 meses		40°C	99.73%	93.84%	
3 meses		40°C	97.83%	90.76%	
1 mes		55°C	99.43%	95.92%	
Miel-Limón		Inicial	T.A.	100.00%	100.00%
		3 meses	T.A.	98.30%	100.23%
	6 meses	T.A.	97.60%	100.07%	
	1 mes	32°C/80% HR	97.85%	---	
	2 meses	32°C/80% HR	99.16%	---	
	2 meses	40°C	98.88%	93.84%	
	3 meses	40°C	97.93%	90.76%	
	1 mes	55°C	100.64%	95.92%	

T.A. = temperatura ambiente

HR = humedad relativa

† Valores obtenidos de la Figura No. 59

Figura No. 66

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN PASTILLAS

Temperatura ambiente

% residual
de cloruro de
cetilpiridinio

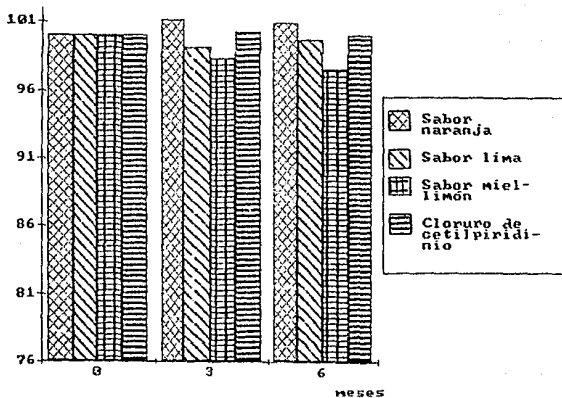


Figura No. 67

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN PASTILLAS
32°C , 80% H.R.

% residual
de cloruro de
cetilpiridinio

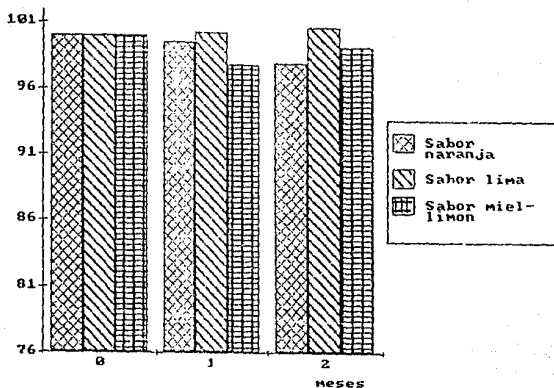
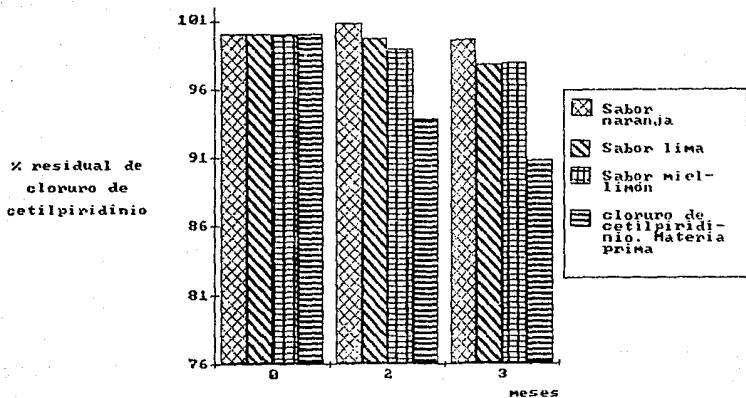
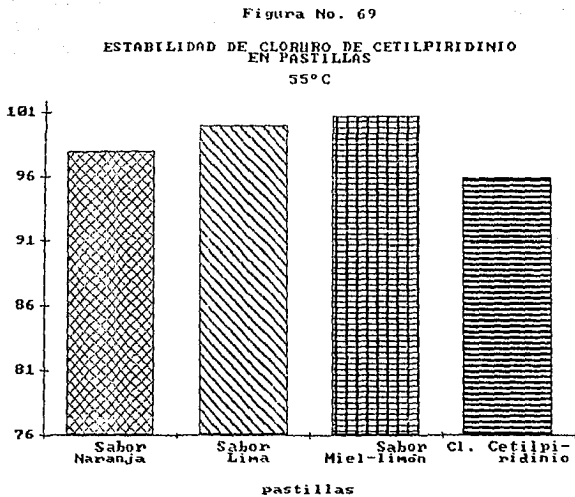


Figura No. 68

ESTABILIDAD DE CLORURO DE CETILPIRIDINIO
EN PASTILLAS
40°C



% residual
de cloruro de
cetilpiridinio



V. DISCUSION DE RESULTADOS

Y CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos de los diferentes parámetros de validación, se puede establecer que los métodos desarrollados para determinar benzocaina y cloruro de cetilpiridinio son:

- Lineales: porque cumplen con los parámetros de validación, coeficientes de correlación mayores de 0.99 y de variación menores de 0.7%, en los intervalos de concentración empleados para cada uno de los principios activos (de 33.33% a 166.66% para benzocaina y de 60% a 140% para cloruro de cetilpiridinio).
- Precisos y exactos: puesto que se obtuvieron coeficientes de variación menores 2.0% para los recobros a tres concentraciones diferentes (80, 100 y 120% de la cantidad etiquetada) de cada uno de los principios activos.
- Reproducibles: ya que en ambos casos se obtuvieron

coeficientes de variación menores del 2.0% cuando se efectuaron mediciones de benzocaina y cloruro de cetilpirridinio, de un mismo lote, en dos días diferentes y por un mismo analista.

- Específicos:

dado que pueden separar los principios activos de los excipientes y los diferentes productos de degradación, y no existen interferencias en ambos métodos.

En conclusión: los métodos analíticos para cuantificar benzocaina y cloruro de cetilpiridinio, por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución, son confiables y específicos, y pueden ser empleados en los estudios de estabilidad de ambos activos en estado sólido, en solución y en las diferentes formulaciones propuestas para las pastillas.

El método desarrollado para determinar la presencia de anilina, es específico, ya que permite separar a ésta de la benzocaina y del ácido para-aminobenzoico y, por lo tanto, se puede emplear en los estudios de estabilidad de la benzocaina en estado sólido.

En los estudios de estabilidad de la benzocaína en solución y en estado sólido se demostró que:

1. La vía de degradación de la benzocaína en solución es una hidrólisis que presenta las siguientes características:

a) Sus productos de degradación son el ácido para-aminobenzoico y el etanol.

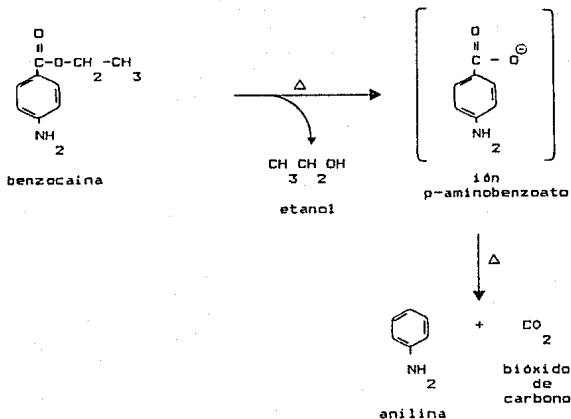
b) Su reacción es de segundo orden, al tener en este caso un coeficiente de correlación mayor y un valor de suma inexplicada de cuadrados menor, que para los otros dos órdenes.

c) Sus vidas media y de anaquel son dependientes de las concentraciones de los reactivos, y a través de la ecuación de Arrhenius se establecieron para ellas valores respectivos de 28 y 3 meses.

d) Su constante de velocidad de degradación es independiente de la concentración, en tanto que la velocidad de reacción es dependiente de la concentración del principio activo.

e) Su energía de activación es de 7.73 kcal/mol.

2. La vía de degradación de la benzocaína en estado sólido y sometido a temperaturas que van desde los 40°C hasta los 70°C, es una pirólisis, que da lugar a la formación de anilina, bióxido de carbono y etanol:



Dado que en este tipo de reacción la energía de activación y los equilibrios que ocurren en ellas son dependientes de la temperatura, su cinética total no puede establecerse con certeza.

De acuerdo con los datos obtenidos en el estudio de paralelismo por distribución "t" de Student, los métodos para evaluar el por ciento residual de benzocaina, en estado sólido, resultarán ser equivalentes. Por lo tanto, puede emplearse cualquiera de ellos para determinar el por ciento

residual del este activo.

Se demostró que en los estudios de estabilidad del cloruro de cetilpiridinio, en solución y en estado sólido, se presenta una reacción de primer orden, para el cual se obtuvo, en casi todos los casos, un coeficiente de correlación mayor y una suma de cuadrados menor, que para los otros dos órdenes. Por lo tanto:

1. La constante de la velocidad de degradación es independiente de la concentración del reactivo, y la velocidad de reacción es dependiente de la concentración del reactivo.
2. Las vidas medias y de anaquel son independientes de la concentración del reactivo y tienen un valor, respectivamente, de 2.2 años y 4 años.

En los estudios de compatibilidad efectuados con los activos se probó que no existe incompatibilidad entre ambos; mientras que en el estudio de compatibilidad benzocaina-excipientes se encontró que:

1. El sorbitol Merck M-30, polietilenglicol 8000, estearato de magnesio, aerosil 200, sabores naranja, lima, miel, limón, y colores amarillo no. 6, amarillo no. 5 y azul no. 1, son compatibles con la benzocaina.
2. El mentol muestra una incompatibilidad con la benzocaina provoca hasta un 14% de degradación de ésta.

En los estudios de estabilidad acelerada para las formulaciones propuestas se encontró que:

1. Las formulaciones sin y con mentol son estables para el caso del cloruro de cetilpiridinio.
2. En el caso de la benzocaina, las formulaciones sin mentol son más estables que aquellas que lo contienen, observándose que la incompatibilidad benzocaina-mentol aumenta con el incremento de la temperatura.
3. Las formulaciones con mentol muestran, bajo las mismas condiciones, un comportamiento similar al que tiene la benzocaina como materia prima, en estado sólido.
4. Los productos sometidos a 40°C y 55°C, presentan, al igual que la benzocaina como materia prima, en estado sólido, un mecanismo de degradación diferente al que sufren a la temperatura ambiente: Por ello, se recomienda:
 - a) Que se evalúe la vida décima de los productos mediante pruebas de campo o mediante estudios de estabilidad a largo plazo, con muestras conservadas a temperatura ambiente.
 - b) Que los productos lleven en sus marbetes una leyenda que recomiende su conservación en lugares frescos.

VI. BIBLIOGRAFIA

1. Goth, Andrés,
Farmacología Médica. Principios y Conceptos,
6a. edición,
Ed. Nueva Editorial Interamericana,
México, 1977,
págs. 303-308 y 516-518.
2. Litter, Manuel,
Compendio de Farmacología,
2a. edición,
Editorial "El Ateneo",
España, 1980,
págs. 137-146 y 486-501.
3. Goodman, Louis S.; Gilman, Alfred,
Bases Farmacológicas de la Terapéutica,
5a. edición,
Ed. Interamericana,
México, 1979,
págs. 319-329 y 826-852.
4. Clarke, E. G.,
Isolation and Identification of Drugs,
The Pharmaceutical Press,
Londres, Inglaterra, 1969,
págs. 214, 244.
5. AMA Drug Evaluation,
4a. edición,
American Medical Association,
Chicago Illinois, USA, 1980,
págs. 293, 1045.
6. USP XXI,
Mark Publishing Co.,
Easton P.A., USA, 1985,
págs. 85, 184.
7. The Merck Index,
An Encyclopedia of Chemical and Drugs,
9a. edición,
Merck & Co., Inc.,
USA, 1976,
págs. 1980, 3693.
8. British Pharmacopoeia,
Published on the recommendation of the Medicines
Commission,
Londres, Inglaterra, 1981,
Vol. I, págs. 51, 91-92.

9. The Pharmaceutical Codex,
The Pharmaceutical Press,
11a. edición,
Londres, Inglaterra, 1979,
pág. 157.
10. Official Methods of Analysis of Association of Official
Analytical Chemists. (ADAC),
14a. edición,
Association of Official Analytical Chemists, Inc.,
Virginia, USA, 1984,
págs. 693-694, 711, 1089 y 1098.
11. Blacow, N. W. Martindale,
The Extra Pharmacopea,
27a. edición,
The Pharmaceutical Press,
Londres, Inglaterra, 1977,
págs. 506-507 y 866-867.
12. Connors, Kenneth; Amidon, A.; Gordon, L.; Kennon, Lloyd,
Chemical Stability of Pharmaceuticals. A Handbook for
Pharmacists,
John Wiley & Sons,
USA, 1979,
págs. 3-62 y 175-184.
13. Syded Laik Ali,
Analytical Profiles of Drugs Substances,
Ed. Klaus Florey,
Academic Press,
Nueva York, USA, 1983,
Vol. 12, págs. 73-104.
14. Swingard, Edward; Stewart, C. Harvey,
Regminton's Pharmaceutical Sciences,
15a. edición,
Merck Publishing Company,
Pennsylvania, USA, 1975,
págs. 986-987 y 1090.
15. Lieberman, Herbert A.; Lachman, Leon,
Pharmaceutical Dosage Forms, Tablets,
Marcel Dekker, Inc.,
Nueva York, USA, 1980,
Vol. I, págs. 339-466.
16. Kabasakalian, P.; Cannon, G.; Pinchuk, G.,
Fractional Factorial Experimental Design Study of the
Incompatibility of Benzocaine in Throat Lozengs,
Journal of Pharmaceutical Sciences,
Enero, 1969,
Vol. 58, No. 1, págs. 45-57.

17. Simmnons, D. L.; Ranz, R. J.; Quan, C. C. D., Available Benzocaine Content in Throat Lozenge Products on the Canadian Market, Canadian Journal of Pharmaceutical Sciences, 1970, Vol. 5, No. 3, págs. 85-86.
18. Narang, P. K.; Bird, G.; Crouthamel, W. G., High-Performance Liquid Chromatographic Assay for Benzocaine and p-Aminobenzoic Acid, Including Preliminary Stability Data, Journal of Pharmaceutical Sciences, Diciembre, 1980, Vol. 69, No. 12, págs. 1384-1387.
19. Wall, G. Michael, Pharmaceutical Applications of Drug Crystal Studies, Pharmaceutical Manufacturing, Febrero, 1986, págs. 33-42.
20. Lachman, L.; Lieberman, H. A.; Kaning, J. L., The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 2a. edición, Lea & Fediger, Filadelfia, USA, 1976, págs. 1-77.
21. Martin, Alfred; Swarbrick, James; Cammarata, Arthur, Physical Pharmacy. Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences, 2a. edición, Lea & Fediger, Filadelfia, USA, 1970, págs. 353-413.
22. Levine, Ira. N., Físicoquímica, McGraw-Hill, México, 1986, págs. 345-376.
23. Jacobs, Allen L., Pruebas para Determinar la Relación Óptima de Fármaco-Excipiente, Pharmaceutical Manufacturing, Junio, 1985, Vol. 2, No. 6, págs. 42-45.

24. Monkhouse, Donald C.; Van Campen, Lynn,
Drug Development and Industrial Pharmacy: Solid State
Reactions-Theoretical and Experimental Aspects,
Canadian Journal and Pharmaceutical Sciences,
1984,
Vol. 10, No. 8 y 9, págs. 1257-1276.
25. Monkhouse, Donald C.; Lach, J. L.;
Drug-excipient Interactions,
Canadian Journal of Pharmaceutical Sciences,
1979,
Vol. 7, No. 2, págs. 20-46.
26. Snyder, L. R.; Kirkland, J. L.,
Introduction to Modern Liquid Chromatography,
2a. edición,
John Wiley & Sons, Inc.,
USA, 1979,
863 págs.
27. Yost, R. W.; Ettore, L. S.; Conlon, R. D.,
Introducción a la Cromatografía Líquida Práctica,
Ed. Perkin-Elmer,
México, 1980,
263 págs.
28. Munson James W.,
Pharmaceutical Analysis. Modern Methods,
Drugs and the Pharmaceutical Sciences,
Marcel Dekker, Inc.,
Nueva York, USA, 1985,
Vol. II, Parte B, págs. 15-85.
29. Millipore Div. Waters Associates Inc.,
Escuela de Cromatografía Líquida,
Impresores Aries al Instante,
México, 1986,
119 págs.
30. Aguilar Gil Samaniego, Graciela,
(comunicación personal), 1986,
Laboratorios Grossman.
31. Guerra, Johnny,
Validation of Analytical Methods by FDA Laboratories,
Pharmaceutical Technology,
Marzo, 1986,
págs. 74-84.

32. Wayne, W. Daniel,
Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de
la Salud,
Editorial Limusa,
México, 1984,
págs. 243-260.

VII. ANEXOS

ANEXO No. 1 (32)

REGRESION LINEAL

El análisis de regresión es útil para establecer la forma probable de relación entre las variables y su objetivo final es predecir o estimar el valor de una variable, correspondiente a un valor dado de otra variable.

En el modelo de regresión simple interesan dos variables, "X" y "Y". Por lo general, a la variable "X" se le conoce como variable independiente y se encuentra bajo el control del investigador. A la otra variable, "Y", se le da el nombre de variable dependiente y se habla de la regresión de "Y" sobre "X". El modelo matemático de la regresión es:

$$y = a + bx + e$$

donde a es la ordenada al origen, b es la pendiente y e es el término de error, que indica la cantidad en la que "y" se desvía de la media, \bar{y} , de las subpoblaciones de valores de

"y" de la cual se extrae.

La distancia vertical desde el punto correspondiente a cualquier valor observado, y_i , hasta la recta \bar{y} , se le conoce como desviación total y se le designa con $[y_i - \bar{y}]$. Si se mide la distancia vertical desde la recta de regresión (y_c) hasta la recta \bar{y} , se obtiene $[y_c - \bar{y}]$, a la cual se le llama desviación explicada, ya que muestra en cuánto se reduce la desviación total, cuando la recta de regresión se ajusta a los puntos. Finalmente, se mide la distancia vertical del punto observado hasta la recta de regresión, se obtiene $[y_i - y_c]$, que es la desviación inexplicada, que representa la porción de la desviación total no "explicada" o tomada en consideración por la introducción de la recta de regresión. Por lo tanto, la desviación total para un y_i particular es igual a la suma de las desviaciones explicada e inexplicada; ésto se describe simbólicamente como:

$$[y_i - \bar{y}] = [y_c - \bar{y}] + [y_i - y_c]$$

desviación total	desviación explicada	desviación inexplicada
---------------------	-------------------------	---------------------------

Si se miden estas desviaciones para cada valor de y_i e y_c , se eleva al cuadrado cada desviación y se suman las desviaciones elevadas al cuadrado, se tendrá:

$$\sum [y_i - \bar{y}]^2 = \sum [y_c - \bar{y}]^2 + \sum [y_i - y_c]^2$$

suma total de cuadrados	suma explicada de cuadrados	suma inexplicada de cuadrados
----------------------------	--------------------------------	----------------------------------

o bien

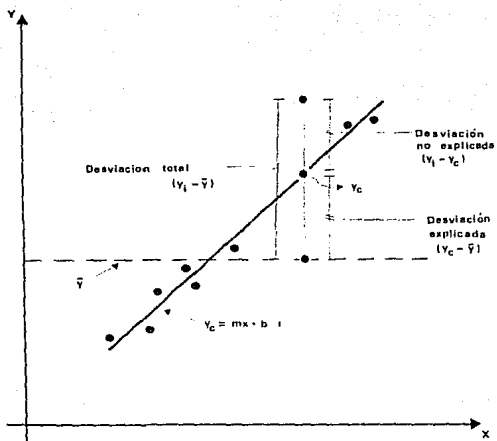
$$SC_{\text{total}} = SC_{\text{explicada}} + SC_{\text{inexplicada}}$$

Estas cantidades pueden considerarse medidas de dispersión o variabilidad.

La suma total de cuadrados es una medida de la dispersión de los valores observados de "Y" respecto de su media \bar{y} , es decir, este término es una medida de la variación total en los valores observados de "Y".

La suma explicada de cuadrados mide la magnitud de la variabilidad total en los valores observados de "Y" que se toma en consideración mediante la relación lineal entre los valores observados de "X" y "Y". Esta cantidad también se conoce como la suma de cuadrados debida a la regresión lineal.

La suma inexplicada de cuadrados es una medida de la dispersión de los valores "Y" observados respecto a la recta de regresión y se le da, también, el nombre de suma residual de cuadrados. Esta es la cantidad que se minimiza cuando se obtiene la recta de mínimos cuadrados.



ESTUDIO DE PARALELISMO POR DISTRIBUCION t-STUDENT

$$t = \frac{m_A - m_B}{\frac{S_A}{y/x} + \frac{S_B}{y/x}} \sqrt{\frac{1}{SSx_A} + \frac{1}{SSx_B}}$$

donde:

t = "t" de Student con τ grados de libertad.

m_A , m_B = pendientes de las líneas rectas "A" y "B", respectivamente.

S_A , S_B = error de regresión de las líneas rectas "A" y "B", respectivamente.
 y/x y/x

SSx_A , SSx_B = Sumas de las diferencias de cuadrados.
 x x

$$SSx = \sum [x - \bar{x}]^2 = \sum x^2 - \bar{x} [\sum x]$$

donde:

SSx = Suma de las diferencias al cuadrado de "x".

$\sum x^2$ = Sumatoria del cuadrado de los valores de "x".

\bar{x} = Valor medio de "x".

Σx = Sumatoria de los valores de "x".

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\Sigma [y - \hat{y}]^2}{n - 2}}$$

donde:

$S_{y/x}$ = Error estándar de regresión.

y = Valor experimental de "y".

\hat{y} = Valor corregido de "y".

n = Número de parejas ordenadas de la línea recta.

$$\tau = (n_A - 2) + (n_B - 2)$$

donde:

τ = grados de libertad.

n_A, n_B = número de parejas ordenadas de las líneas rectas "A" y "B", respectivamente.

Regla de decisión

Si $|t| < t^*$ No hay diferencia significativa; por lo tanto las líneas rectas "A" y "B" son paralelas.

* Valor de la t-Student de tablas.