



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**FACULTAD DE QUIMICA**

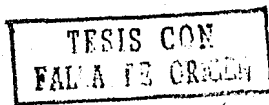
**MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA SEPARACIÓN Y VALORACIÓN  
DE TINIDAZOL, NICLOSAMIDA Y MEBENDAZOL  
EN UN POLIFARMACO**

**T E S I S**

Que para obtener el Título de  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

presenta

**MARIA ROSALIA ROBLES ROSALES**



México, D. F.

1989



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.

I N D I C E

OBJETIVO

C A P I T U L O I

ASPECTOS SOCIOECONOMICOS

C A P I T U L O I I

MONOGRAFIAS

C A P I T U L O I I I

METODOS ANALITICOS PARA LA VALORACION DE TINIDAZOL EN UN POLIFARMACO

C A P I T U L O I V

METODOS ANALITICOS PARA LA VALORACION DE NICLOSAMIDA EN UN POLIFARMACO

C A P I T U L O V

METODOS ANALITICOS PARA LA VALORACION DE MEBENDAZOL EN UN POLIFARMACO

C A P I T U L O V I

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE CADA UNO DE LOS METODOS DE ACUERDO A LOS  
RESULTADOS OBTENIDOS

C A P I T U L O V I I

CONCLUSIONES

C A P I T U L O V I I I

BIBLIOGRAFIA



		págs.
	C A P I T U L O I I .....	47
	M O N O G R A F I A S .....	48
2.1	TINIDAZOL .....	49
2.1.a	Descripción .....	49
2.1.b	Identificación .....	49
2.1.c	Solubilidad .....	50
2.1.d	Punto de Fusión .....	50
2.1.e	Contenido de Agua .....	51
2.1.f	p H .....	51
2.1.g	Pérdida por Secado .....	51
2.1.h	Residuo de Ignición .....	51
2.1.i	Metales Pesados .....	51
2.1.j	Valoración .....	51
2.2	NICLOSAMIDA .....	52
2.2.a	Descripción .....	52
2.2.b	Identificación .....	52
2.2.c	Solubilidad .....	54
2.2.d	Punto de Fusión .....	54
2.2.e	2-Cloro-4-Nitroanilina .....	54
2.2.f	Acido 5-Clorosalicílico .....	54
2.2.g	Pérdida por Secado .....	54
2.2.h	Cenizas Sulfatadas .....	54
2.2.i	Valoración .....	55

	págs.
2.3	MEBENDAZOL ..... 56
2.3.a	Descripción ..... 56
2.3.b	Identificación ..... 56
2.3.c	Solubilidad ..... 57
2.3.d	Pureza Cromatográfica ..... 57
2.3.e	Pérdida por Secado ..... 58
2.3.f	Residuo de Ignición ..... 58
2.3.g	Metales Pesados ..... 58
2.3.h	Valoración ..... 59
2.3.i	Absorción al Espectro de Infrarrojo ..... 60
	ANTECEDENTES ..... 61
	CAPITULO III ..... 62
	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA VALORACIÓN DE TINIADAZOL EN UN POLIFARMACO ..... 63
3.1	METODO ESPECTROFOTOMÉTRICO ..... 64
3.1.1	Fundamento del Método ..... 65
3.1.2	Metodología ..... 70
3.1.3	Resultados ..... 72
3.2	METODO I DE CROMATOGRAFIA EN PLACA FINA PARA DETERMINACIÓN DE TINIADAZOL ..... 79
3.2.1	Fundamento del Método ..... 80
3.2.2	Metodología ..... 81
3.2.3	Resultados ..... 83

	págs.	
3.3	METODO II DE CROMATOGRAFIA EN PLACA FINA PARA CUANTIFICAR TINDAZOL .....	91
3.3.1	Fundamento del Método .....	92
3.3.2	Metodología .....	93
3.3.3	Resultados .....	95
CAPITULO IV .....		102
METODOS ANALITICOS PARA LA VALORACION DE NICLOSAMIDA EN UN POLIFARMACO .....		103
4.1	METODO ESPECTROFOTOMETRICO .....	104
4.1.1	Fundamento del Método .....	105
4.1.2	Metodología .....	106
4.1.3	Resultados .....	108
4.2	METODO POTENCIOMETRICO .....	115
4.2.1	Fundamento del Método .....	116
4.2.2	Metodología .....	117
4.2.3	Resultados .....	118
CAPITULO V .....		125
METODOS ANALITICOS PARA LA VALORACION DE NEBENDAZOL EN UN POLIFARMACO .....		126
5.1	METODO DE CROMATOGRAFIA EN PLACA FINA .....	127
5.1.1	Fundamento del Método .....	128
5.1.2	Metodología .....	129
5.1.3	Resultados .....	131

	Págs
RESUMEN DE RESULTADOS .....	138
C A P I T U L O V I .....	139
VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE CADA UNO DE LOS METODOS DE ACUERDO A LOS RESULTADOS OBTENIDOS .....	140
6.1    TINIDAZOL .....	141
6.1.a    METODO ESPECTROFOTOMETRICO .....	142
6.1.b    METODO I DE CROMATOGRAFIA EN PLACA FINA .....	142
6.1.c    METODO II DE CROMATOGRAFIA EN PLACA FINA .....	143
6.2    NICLOSAMIDA .....	144
6.2.a    Método Espectrofotométrico .....	145
6.2.b    Método Potenciométrico .....	145
6.3    MEBENDAZOL .....	146
6.3.a    Método de Cromatografía en Placa Fina .....	147
C A P I T U L O V I I .....	148
7.1    CONCLUSIONES .....	149
C A P I T U L O V I I I .....	151
8.1    BIBLIOGRAFIA .....	152



## O B J E T I V O

Esta tesis tiene como objeto investigar en un polifármaco que tiene forma farmacéutica de tableta, métodos confiables para separar tres principios activos: Tinidazol, Niclosamida y Mebendazol, así como valorarlos para poder certificar que el método es reproducible y exacto en los resultados.

## INTRODUCCION

El estudio de este polifármaco que se presenta en la forma farmacéutica de comprimidos, se utiliza en el tratamiento de las parasitosis intestinales.

Las parasitosis intestinales, por los efectos nocivos que ocasionan en el desarrollo físico y mental, especialmente del niño, como asimismo, por la forma negativa con que inciden sobre la economía de la población, constituyen un importantísimo e ineludible problema de orden sanitario y social. (1)

La frecuencia con que se manifiestan estos cuadros patológicos es sumamente variable, aún dentro del mismo país o región; pues depende en particular, de la zona en que se toma en consideración. Dos razones son las determinantes: por un lado, las diferentes condiciones climáticas requeridas para cumplir el ciclo evolutivo de cada especie; y por otro, las distintas circunstancias económicas, sociales, sanitarias y culturales, que específicamente, gravitan en cada área geográfica. (1)

Además, es tan elevada la frecuencia con que se presentan las helmintiasis intestinales en el hombre, que pueden inferirse sin caer en exageraciones, que es muy raro encontrar una persona adulta, que actualmente no albergue parásitos o que no los haya albergado, por lo menos, una vez en la vida, y preferentemente en su niñez. (1)

Muy elocuentes son las estadísticas al respecto. Justamente, a efectos de dar una imagen aproximada del vasto campo de su influencia, se transcriben a continuación, las cifras de infestación estimadas para las parasitosis más comunes; referencias cuantitativas que han sido tomadas de la edición de 1984, de la obra de Biagi, F. (1)(2), quien reproduce en ella, los datos de frecuencia, citados en 1979 por Eisenberg, J.

PRINCIPALES INFESTACIONES POR PARASITOS EN EL MUNDO:

NEMATODOS	No. DE HABITANTES
A. lumbricoides	650.000,000
Uncinarias	450.000,000
T. trichiuria	350.000,000
E. vermicularis	200.000,000
S. stercoralis	35.000,000
T. spiralis	38.000,000
Total	1,723.000,000
PROTOZOARIOS	
E. histolytica	30.000,000
G. intestinalis	150.000,000
B. coli	100,000
Total	180.100,000

---

T. saginata	39.000,000
H. nana	20.000,000
D. latum	10.000,000
T. solium	2.000,000
Total	71.000,000

Agréguese a los datos consignados precedentemente, el caso muy reiterativo de haberse verificado con frecuencia en un mismo paciente, la presencia simultánea de dos o más especies diferentes de parásitos; concurrencia que, como es obvio, repercute seriamente sobre la salud, y aún con más gravedad, si el hecho acontece en la edad infantil. ( 3 )

En la República de Argentina, según Garaguso, P., la mitad, aproximadamente, de la población infantil del interior del país, tiene poliparasitismo; y en general, afirma que, en comparación, se encuentran mucho más parasitados los niños que habitan en regiones rurales y periurbanas, que los que viven en zonas bien urbanizadas. ( 4 )

Las parasitosis son más frecuentes en el niño que ha cumplido cuatro o más años de edad, que en el adulto.

Pero en el período que va desde que nace hasta los tres o cuatro años, sus índices de infestación parasitaria, habitualmente, son menores que en el adulto. Se estima, que las causas serían, por una parte, el menor tiempo que está expuesto al contagio, y por otra, las mínimas posibilidades o riesgos de contraer la infestación, parasitaria, debido a la celosa observación, por parte de las madres, de to -

das las prescripciones atinentes a la higiene individual y alimentaria de sus hijos. (5)

No obstante, como bien lo han señalado numerosos autores, en los lactantes también puede registrarse un significativo índice de infestación parasitaria. Refrendan este aserto, Waisman, B. y col., (3), quienes en un amplio estudio efectuado en el año 1961 en la provincia de San Juan (Rep. Argentina), sostienen haber computado en una muestra, seleccionada al azar, de 337 lactantes de 0 a 2 años de edad, un índice de parasitismo del 59.4 %, lo que obviamente, confirma la vulnerabilidad de este grupo, cuando concurren factores sociales y sanitarios adversos, que favorecen el desarrollo de las distintas parasitosis.

Un cálculo porcentual al respecto, revela que las parasitosis globalmente consideradas, afectan a los niños residentes en las grandes ciudades, entre un 60 % y un 70 %, mientras que en los barrios de emergencia, en los periurbanos y en las zonas ocupadas por familias de menores recursos económicos, el índice puede llegar al 90 % y hasta al 100 % de la población infantil. (6)

Actualmente se cuenta con numerosos medicamentos antiparasitarios de elevada eficacia farmacológica. No obstante, sólo se podrá lograr con éxito la erradicación total y definitiva de este mal endémico, cuando se complementen dichos tratamientos con medidas higiénicas y sanitarias básicas, que son indispensables para poder interferir y anular los distintos ciclos biológicos de cada uno de los parásitos. (1)

El peso de esta importante tarea, como asimismo la enorme responsabilidad que su efectivización imparta, recaen fundamentalmente

sobre las autoridades gubernamentales y sanitarias. Su comprometida participación deberá traducirse, indudablemente, en la adopción de sustanciosas y relevantes mejoras materiales, pero confiar exclusivamente en éstas, sería alentar falsas expectativas; porque si bien, indispensables, nunca serán suficientes en su cometido, si no van acompañadas por intensas y bien programadas campañas de educación colectiva y de divulgación popular, que pongan en conocimiento de la totalidad de la población, los serios y reales perjuicios que ocasionan las parasitosis en humanos, y cuales han de ser las medidas higiénicas y sanitarias que deben adoptarse, para evitar su propagación. (7)

## CAPITULO I

## 1.1 ASPECTOS SOCIOECONOMICOS



## ASPECTOS SOCIOECONOMICOS

1.1.a El Tinidazol es una materia prima que surgió en 1970, su uso en México ha ido aumentando de manera progresiva. Actualmente el Tinidazol forma parte de diferentes medicamentos; en México varios laboratorios lo emplean ya sea como único principio activo o combinado con otro más, formando parte de un polifármaco.

Las formas farmacéuticas más empleadas en la industria farmacéutica conteniendo Tinidazol son tabletas y grageas. págs. 44, 45. (8)

Datos proporcionados por Laboratorios Columbia S.A. en México: (9)

Consumo anual promedio en 1980 fué de:	1365 Kg
" " " " 1981 " "	1575 Kg
" " " " 1982 " "	1745 Kg
" " " " 1983 " "	1895 Kg
" " " " 1984 " "	1985 Kg
" " " " 1985 " "	2370 Kg
" " " " 1986 " "	3375 Kg

1.1.b La Niclosamida es una materia prima empleada desde hace años en la industria farmacéutica en México, es un principio activo de gran consumo, ya que además forma parte del Cuadro Básico de Medicamentos del IMSS e ISSSTE.

La forma farmacéutica más empleada es la de tabletas; pudiendo estar la Niclosanida sola o combinada con otros principios activos para aumentar su efectividad. pág. 45. (8)

Datos proporcionados por los Laboratorios Columbia S.A. en México: (9)

Consumo anual promedio en 1980	fué de:	910 Kg
" " " " 1981	" "	1050 Kg
" " " " 1982	" "	1155 Kg
" " " " 1983	" "	1265 Kg
" " " " 1984	" "	1325 Kg
" " " " 1985	" "	1579 Kg
" " " " 1986	" "	2250 Kg

1.1.c El Mebendazol es el principio activo que tiene mayor demanda de los otros 2 mencionados (Tinidazol y Niclosamida), es muy empleado en la industria farmacéutica y también forma parte del Cuadro Básico de Medicamentos del IMSS e ISSSTE.

Las formas farmacéuticas más comunes en que se encuentra el Mebendazol son: suspensiones y tabletas. pág. 47, 48. (8)

Datos proporcionados por los Laboratorios Columbia S.A. en México: (9)

Consumo anual promedio en 1980 fué de:	275 Kg
" " " " 1981 " "	315 Kg
" " " " 1982 " "	350 Kg
" " " " 1983 " "	330 Kg
" " " " 1984 " "	415 Kg
" " " " 1985 " "	500 Kg
" " " " 1986 " "	590 Kg

DATOS PROPORCIONADOS POR LOS DIFERENTES PROVEEDORES SOBRE EL COSTO  
DEL TINIDAZOL, NICLOSAMIDA Y MEBENDAZOL ( 9 )

PROVEEDORES PRINCIPALES

TINIDAZOL: SICA S.A., RETECMA S.A., DELTACHEM S.A., GLOBE CHEMICAL S.A.  
MEGAFARMA S.A.

NICLOSAMIDA: SICA S.A., NOVACHEM S.A., DELTACHEM S.A., SIGMA S.A.

MEBENDAZOL: SICA S.A., DELTACHEM S.A., SIGMA S.A., MEGAFARMA S.A.,  
IMPORTACIONES S.A.

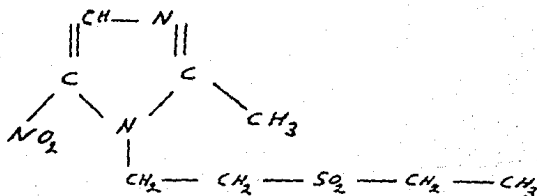
	1980		1981		1982	
	Kg	\$	Kg	\$	Kg	\$
TINIDAZOL	1	30.25	1	32.34	1	39.50
NICLOSAMIDA	1	30.70	1	29.35	1	28.46
MEBENDAZOL	1	91.80	1	83.70	1	95.00
	1983		1984		1985	
TINIDAZOL	1	35.70	1	35.65	1	15,900.00
NICLOSAMIDA	1	25.95	1	23.25	1	12,600.00
MEBENDAZOL	1	75.15	1	76.50	1	56,600.00
	1986					
TINIDAZOL	1	24,275.00				
NICLOSAMIDA	1	21,675.00				
MEBENDAZOL	1	56,600.00				

## 1.2 GENERALIDADES

Entre los numerosos fármacos que se han sucedido con el correr del tiempo para el tratamiento de las parasitosis producidas por protozoarios, los derivados del nitroimidazol constituyen un grupo de compuestos ampliamente reconocidos por su efectividad. (10)

A partir del descubrimiento inicial del metronidazol, la farmacología antiparasitaria, ha proseguido en el desarrollo de nuevas investigaciones, que permitieran sintetizar fármacos cada vez más eficaces y mejor tolerados por el hombre. (11)

En el transcurso de dichos estudios, fue investigado un nuevo derivado al que genéricamente se denominó Tinidazol y que químicamente corresponde al etil (2-(2- metil-5-nitro-1-imidazolil)) etil sulfona. (12) (13)



FORMULA ESTRUCTURAL DEL TINIDAZOL

En experiencias previas, el Tinidazol demostró poseer una actividad parasiticida hasta 16 veces más potente que el metronidazol, frente a especies del género Trichomonas, así como una gran eficacia para el tratamiento de otras protozoosis humanas.

Se trata de un compuesto que administrado por vía oral es fácilmente absorbido, alcanzando rápidamente niveles plasmáticos significativos. (11) (12)

A la inversa de lo que sucede con el metronidazol, el Tinidazol no sufre transformaciones en el organismo y es excretado como tal por vía renal, con una vida media cercana a 14 horas; es decir, mucho más larga que la del metronidazol. (11)

En nuestro país, Sava, A.S. y col., estudiaron la actividad de este medicamento para el tratamiento de la giardiasis, comprobando que el Tinidazol permitió erradicar el parásito en el 90 % de 35 pacientes estudiados; con una tolerancia excelente en el 70 % de los casos, registrándose en el resto algunos leves efectos secundarios que no requirieron terapéutica específica. (9)

Por su parte, Alonso, R.E. en un estudio clínico terapéutico realizado en una comunidad infantil cerrada de 144 niños de sexo masculino, evaluó la actividad del fármaco en pacientes portadores de G. lamblia y E. histolytica, encontrando porcentajes de cura parasitológica del 90.6 y 100 % respectivamente. El autor destaca en este caso la excelente tolerancia del producto, tanto a nivel clínico como biológico, a pesar de la corta edad de muchos de los pacientes tratados, lo cual se comprobó mediante exámenes de laboratorio, incluyendo hepatogramas. (4)

Por su parte, Conzonieri, C.J. y col. hallaron un porcentaje de eficacia parasitológica del 92.1 % sobre un total de 33 casos parasitados con *Giardia lamblia*, concluyendo, que los resultados obtenidos en su estudio, tanto a nivel del análisis de la eficacia terapéutica del producto como desde el punto de vista de su tolerancia, han permitido comprobar prácticamente las ventajas de este nuevo derivado.

(14)

En lo que hace específicamente al tratamiento de la amibiasis, Niño de Rivera, J. y col. (4) evaluaron la actividad del fármaco frente a la amibiasis intestinal sintomática en un total de 77 niños, a los que el producto se administró en dosis de 50 mg/Kg/día, durante 2 días.

En estas condiciones, se pudo observar una remisión de los síntomas al cabo de 3 a 5 días en los casos de disentería, y entre los 4 y 7 días en los casos de diarrea.

A su vez, los controles parasitológicos, consistentes en 2 series de 3 exámenes coproparasitológicos, iniciados a los 10 y 20 días después de iniciado el tratamiento, permitieron comprobar un índice de curación parasitológica en 70 (90.9 %) de los 77 pacientes controlados.

(4)



## MECANISMO DE ACCION

Los estudios desarrollados con Tinidazol han permitido verificar que al cabo de 6 horas de estar el fármaco en contacto con el protozoario, el protoplasma del mismo se encuentra disuelto y la célula aparece desprovista de ribosomas, lo cual indicaría, que el mecanismo a través del que ejerce su acción el Tinidazol, se debería a una acción específica del fármaco sobre los ribosomas celulares. (15)

## INDICACIONES Y ESQUEMA TERAPEUTICO

El Tinidazol, además de su acción en las tricomoniasis urogenitales, a las que no hacemos referencia aquí por tratarse de una indicación que escapa a los fines de esta tesis, posee también una definida actividad terapéutica para el tratamiento de la giardiasis y amebiasis intestinales. (15)

Para el tratamiento de la giardiasis en pacientes adultos, se aconseja utilizar el producto en dosis única de 2 g por día ingeridos en una sola toma, por lo común después del almuerzo. (16)

Cuando el Tinidazol se emplea para el tratamiento de adultos portadores de amebiasis intestinal, se aconseja utilizarlo a razón de 2 g por día, durante 2 días consecutivos. En este caso los 2 gramos diarios también deben ser administrados en una sola toma después del almuerzo. (9)

Por otra parte, Baba, A.O. Alonso, R.E., Lanzonieri, C.J., Miño de Rivera, en los estudios realizados en los niños, han utilizado el

producto según el siguiente esquema terapéutico: hasta 20 Kg de peso corporal 0.5 g de Tinidazol; de 20 a 30 Kg de peso corporal 1 g; de 30 a 40 Kg de peso corporal 1.5 g; y con más de 40 Kg de peso corporal 2 g de Tinidazol.

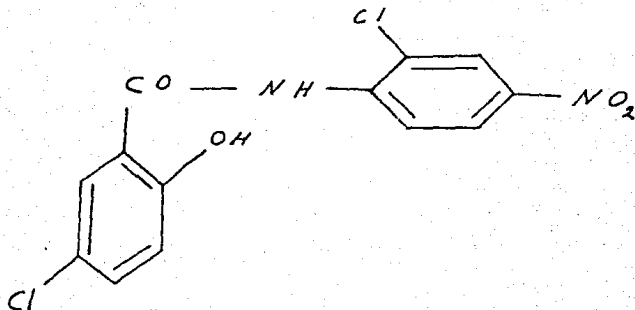
En estos casos el producto se administra también después del almuerzo en una dosis única para el tratamiento de la giardiasis, y durante 2 días consecutivos en los pacientes con amebiasis intestinal.

(9) (16)

Derivados de la Clorosalicilamida.

Dentro de los derivados de la Clorosalicilamida, la Niclosamida se ha demostrado eficaz para el tratamiento de la teniasis. (17)

Desde el punto de vista químico, la Niclosamida es el 4-(2-cloro-4-nitrofenil)-5-clorosalicilamida.



Fórmula estructural de la Niclosamida. (18)

Sonnert R. y col. (19) en 1960, observaron en ratas infestadas experimentalmente con *Hymenolepis diminuta*, que la administración de Niclosamida por vía oral conducía a la curación de la parasitosis, con desaparición total de los huevos y parásitos.

Estos autores, también comprobaron la acción del fármaco en perros parasitados con *Taenia hydatigena* y con *Dipylidium caninum*.

En el hombre, la Niclosamida, también produce la curación de las teniasis, ya sean producidas por *Taenia solium*, por *Hymenolepis nana*, o por *Taenia saginata*. (17)

Administrada al hombre por vía oral, la Niclosamida no se absorbe, por lo que posee una buena tolerancia general a excepción de algunos efectos irritantes locales o manifestaciones alérgicas.

Se incluye en la elección de medicamentos esenciales elaborada en el año de 1977 por el Comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

#### MECANISMO DE ACCION

La Niclosamida, actúa como un inhibidor de la fosforilación oxidativa a nivel de las mitocondrias del parásito, provocando su muerte y desprendimiento.

Como el helminto no es refractario a las enzimas proteolíticas del huésped, se digiere, siendo por lo común inútil su búsqueda en las heces. (19)

#### INDICACIONES Y ESQUEMA TERAPEUTICO

La Niclosamida es eficaz para el tratamiento de las teniasis en general, administrándose en esquemas de dosis única a excepción de las infestaciones provocadas por *Hymenolepis nana*, en cuyo caso el fármaco debe administrarse durante una semana y el tratamiento debe repetirse al cabo de unos días.

En las infestaciones producidas por *T. solium*, se recomienda administrar previamente un antiemético.

Se debe tener en cuenta que como todo el cuerpo del parásito se regenera a partir de la cabeza o escólex, la cual está adherida a la mucosa duodenal, es necesario actuar, sobre todo, en esta parte vital del parásito. Por ello es que conviene que el intestino esté libre de alimentos que puedan interferir en el contacto de la droga con esta pequeña porción del verme.

Por todo ello, en estos casos, es muy importante la preparación previa del paciente, en todo lo relacionado con la cantidad y calidad de los alimentos que éste debe ingerir.

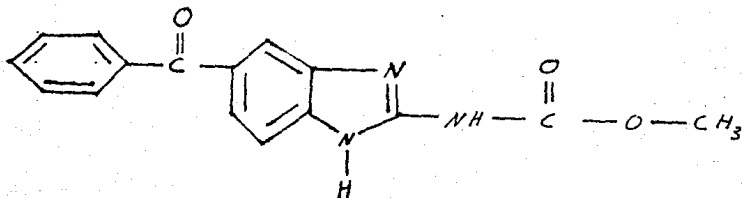
El producto se administra en los adultos en una dosis de 2 g, que se deben repartir en 2 tomas de 1 g cada una, ingeridas con un intervalo de entre 30 minutos y 1 hora.

Dos horas después de haberse administrado la Niclosamida se debe indicar un purgante salino, con el fin de eliminar el parásito y el fármaco remanente.

En los niños, se administra la mitad de la dosis. (17) (19)

El Mebendazol se incluye dentro del grupo químico de los benzimidazoles, juntamente con el Tiabendazol. (20)

Desde el punto de vista químico el Mebendazol es Acido carbámico, 5-benzimidazol-1H-benzimidazol-2-yl, metil éster.



Fórmula estructural del Mebendazol (21)

En 1971, Bruggans, J.P. y col., estudiaron su farmacocinética, utilizando para ello, Mebendazol  $^{14}\text{C}$ . Así se pudo comprobar que a diferencia del Tiabendazol, la absorción por vía digestiva del Mebendazol es muy reducida. En efecto; luego de la administración de Mebendazol  $^{14}\text{C}$ , la radioactividad total hallada en sangre fué de muy escasa magnitud y los niveles plasmáticos, tanto del fármaco como de sus metabolitos, representaron un muy pequeño porcentaje de la dosis total administrada (entre el 0.1 y 0.4 % de la misma). (3)

Por otra parte, entre el 5 y el 10 % de la dosis administrada, fue excretada, por la orina 24 - 48 horas después de la administración, principalmente como derivado decarboxilado.

La mayor parte del medicamento se excreta sin modificar, por vía digestiva. (3)

La casi total ausencia de absorción del Mebendazol explica su inocuidad siendo hasta el momento, el único fármaco antiparasitario cuyo régimen de administración es independiente de la edad o peso corporal del paciente. (3)

Desde el punto de vista de su efecto antihelmíntico, resulta verdaderamente llamativo el amplio espectro que posee; pues tiene actividad sobre todos los parásitos nemátodos y además sobre los cestodos. (22)

Esta acción del compuesto ha sido estudiada por numerosos investigadores; quienes han podido confirmar la eficacia del producto en las infestaciones mixtas, así como también asegurar, que el Mebendazol, resulta el fármaco de elección para el tratamiento de la trichiuriasis. La importancia del Mebendazol como fármaco antiparasitario, hace que el mismo se halle incluido en la lista de medicamentos esenciales, con fecciónada en 1977, por el Comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS). (22)

#### MEDANISMO DE ACCION

El Mebendazol inhibe la captación de glucosa por los helmintos. (7)  
Al incubar el parásito con el Mebendazol "in vitro" se observa una acentuada disminución del contenido del fármaco en el glucógeno, efecto éstr que también se ha comprobado "in vivo".

Al no poder utilizar la glucosa exógena, disminuye la formación de ATP, indispensable para la actividad y reproducción del parásito. (23)

No se sabe aún si el Mebendazol dificulta el transporte activo de glucosa, o se modifica el gradiente, normalmente favorable al paso de azúcar desde la luz intestinal al líquido pseudocelómico del helminto. (7)

#### INDICACIONES Y ESQUEMA TERAPEUTICO

El Mebendazol posee un amplio espectro antiparasitario que comprende el tratamiento de la oxiuriasis, ascariasis, anelostomiasis, necatoriasis, trichiuriasis, teniasis y de las infestaciones mixtas. (5)

Se administra en dosis de 100 mg, 2 veces por día, durante 3 días consecutivos, independientemente de la edad o peso corporal del paciente.

En teniasis, es aconsejable sin embargo, administrar 200 mg, 2 veces por día, durante 3 días consecutivos.

Si bien es conocida la imposibilidad de extrapolar al hombre resultados hallados en estudios experimentales realizados en animales, se recomienda no administrar el producto durante el embarazo, puesto que algunos estudios han evidenciado la presentación de efectos teratogénicos atribuidos al fármaco. (3)



### 1.3 IMPORTACION

## I M P O R T A C I O N

1.3.a El Tinidazol 1-(2-(Etilsulfonyl) etil)-2-metil-5-nitroimidazol;  
es una materia prima de importación.

Los principales países que exportan tinidazol a México son:

Italia, Suiza, Alemania, Holanda, Estados Unidos, Dinamarca, y  
Escocia. (24)

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

1.3.t. La Niclosamida, es una materia prima que actualmente se sintetiza en México, ya que se cuenta con tecnología adecuada para su obtención.

Los principales países exportadores de Niclosamida son:  
Italia y Alemania. (22)

1.3.c El Mebendazol es una materia prima que hasta hace poco tiempo era solamente de importación, actualmente se sintetiza en México.

Los principales países que exportan Mebendazol a México son:

Alemania, Italia, y Suiza. (24)

1.4 PRODUCTOS QUE CONTIENEN  
TINIDAZOL, NICLOSAMIDA  
Y MEBENDAZOL

PRODUCTOS QUE CONTIENEN TINIDAZOL

1.4.a En la tabla I se presentan los productos farmacéuticos que actualmente existen en el mercado, en los que como único principio activo tienen Tinidazol. ( 8 )

T A B L A I

Productos farmacéuticos que aparecen en el Diccionario de Especialidades Farmacéuticas 1987 que contienen Tinidazol como único principio activo. ( 8 )

<u>Nombre del Producto</u>	<u>Forma Farmacéutica</u>	<u>Contenido de Tinidazol</u>	<u>Laboratorio</u>
DAZOL	TABLETAS	500 mg/Tab.	IND. QUIMICO FARM. AMERICANAS S.A.
ESTOVYNT	TABLETAS	500 mg/Tab.	GROSSMAN
TINIDEX	TABLETAS	500 mg/Tab.	ROPER DE MEX.
TRINIGYN	TABLETAS	500 mg/Tab.	LAKESIDE

En la tabla II, se presentan los productos farmacéuticos que actualmente existen en el mercado en los que el Tinidazol se encuentra combinado con otros principios activos de acción semejante, ampliando el espectro de actividad del medicamento. (8)

T A B L A   I I

Productos farmacéuticos que aparecen en el Diccionario de Especialidades Farmacéuticas 1987 que contienen Tinidazol combinado con otros principios activos. (8)

<u>Nombre del Producto</u>	<u>Forma Farmacéutica</u>	<u>Contenido de Tinidazol</u>	<u>Laboratorio</u>
MEBECICLOL	TABLETAS	300 mg/Tab.	COLUMBIA
FASIGYNI	TABLETAS	150 mg/Tab.	PFIZER

1.4.b Productos que contienen Niclosamida como principio activo y que aparece en el Diccionario de Especialidades Farmaceuticas 1987. (8)

Nombre del Producto	Forma Farmacutica	Niclosamida	Laboratorio
MEBECICLOL (polifarmaco)	TABLETAS	200 mg/Teb.	COLUMBIA



1.4.c Productos que contienen Mebendazol como principio activo y que aparecen en el Diccionario de Especialidades Farmacéuticas 1.67. ( 8 )

<u>Nombre del Producto</u>	<u>Forma Farmacéutica</u>	<u>Contenido de Mebendazol</u>	<u>Laboratorio</u>
AMYCIL	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab. 2 g/100 ml	RIMSA
BENDAZOL	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab. 2 g/100 ml	LIDONIT
BENSOLMIN	SUSPENSION	2 g/100 ml	FARMACOS CONTINENTALES
BENZOLIL	SUSPENSION	2 g/100 ml	PROD. MAVI
EXBENSOL	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab 2 g/100 ml	QUIMICA SONS
EXTEN EXTENY	TABLETAS	100 mg/Tab	QUIMICO FARM. AMERICANAS.
FEDAL SOLTRIC	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab 2 g/100 ml	I C H
HELMIBEN	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab 2 g/100 ml	INFAN
HELMINSOLE	TABLETAS	100 mg/Tab	FARMAQUILA
MEBECICLOL (polifármaco)	TABLETAS	60 mg/Tab	COLOMBIA
MEBENDAZOL VALDECASAS	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab 2 g/100 ml	VALDECASAS
MEBENDEX	TABLETAS	100 mg/Tab	INDEX DE MEX.
MEBENSOLE	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab 2 g/100 ml	COLOMBIA
MEBENZIL	TABLETAS	100 mg/Tab	FARM. EHLINGER
NOBELMIN	TABLETAS	100 mg/Tab	SERRAL

Nombre del Producto =====	Forma Farmacutica =====	Contenido de Mebendazol =====	Laboratorio =====
PRODAZOL	TABLETAS	100 mg/Tab	PROTEIN LAT.
QUIBENDAZOL	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab 2 g/100 ml	QUIMED DE MEX.
REVAPOL	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab 2 g/100 ml	APLIC. FARM.
VERM	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab 2 g/100 ml	PHARM. EXACTA
VERMOX JANSSEN	TABLETAS SUSPENSION	100 mg/Tab 2 g/100 ml	JANSSEN FARM.
VERTEX	TABLETAS	100 mg/Tab	CARNOT
VERTEX PEDIATRICO	SUSPENSION	2 g/100 ml	CARNOT

## CAPITULO II

MONOGRAFIAS

## 2.1.a DESCRIPCIÓN

El Tinidazol es un polvo blanco amarillento, microcristalino, inodoro, muy sensible a la luz produciéndole cambios en su coloración hasta llegar a un color naranja. (25)

## 2.1.b IDENTIFICACIÓN

## A) Espectrofotometría de Luz Ultravioleta.

Pesar aproximadamente 250 mg de Tinidazol con exactitud en un matríz volumétrico de 100 ml, se disuelve y se afora con cloroformo. Se mide 1 ml de alícuota transfiriéndose a un segundo matríz volumétrico de 100 ml, se diluye y afora con cloroformo; en celdas de 1 cm a las longitudes de onda de máxima absorbancia en aproximadamente 253 nm y 320 nm en el espectro fotómetro. (26)

## B) Cromatografía en Placa Fina

Solución Muestra:

Disolver 50 mg de Tinidazol exactamente pesados y transferirlos a un matríz volumétrico de 10 ml, diluir y aforar con el mismo solvente, mezclar. Se obtiene una concentración de 5 mg/ml.

Solución Estándar:

Disolver 50 mg de Tinidazol USP Estándar de Referencia, exactamente pesados, en un matríz volumétrico de 10 ml con cloroformo. Se obtiene una concentración de 5 mg/ml.

Procedimiento:

En una placa cromatográfica de sílica gel de 0.25 mm de espesor,

aplicar porciones de 10 ml de la Solución Muestra y de la Solución Estándar, dejar secar las manchas, y desarrollar el cromatograma con un sistema de solventes consistente en Acetato de Etilo - Alcohol Butílico Normal (90:10), y cuando el corrimiento lleve las 3/4 partes de la placa, sacarla de la cámara cromatográfica.

Dejar evaporar el solvente y revelar el cromatograma con luz ultravioleta: el Rf de la mancha obtenida en la Solución Muestra corresponde al de la mancha obtenida en la Solución Estándar.

La sustancia es detectada con luz ultravioleta aproximadamente a 254 nm. (26)

#### 2.1.c SOLUBILIDAD

Partes de disolvente requerido por 1 parte de soluto.

Soluble: de 10 a 30 partes

Poco Soluble: de 100 a 1000 partes

Insoluble: más de 10,000 partes (27)

SOLUBLE	POCO SOLUBLE	INSOLUBLE
Agua Caliente	_____	Agua Fría
_____	Alcohol 95°	Alcohol 96°
Clorofoma	_____	_____
Acetona	_____	_____
Metanol Caliente	_____	Metanol
Ácidos Diluidos	_____	_____
Benceno Caliente	Benceno	_____
_____	_____	Ciclohexano

#### 2.1.d PUNTO DE FUSIÓN

El punto de fusión es entre 124°C y 128°C. (25)

2.1.e CONTENIDO DE AGUA

El agua se determina por el método de Karl Fischer.

Debe ser menor de 0.50 %. (24)

2.1.f pH

El pH de una suspensión al 1.0 % en agua se encuentra entre 5.5 y 8.0.

(28)

2.1.g PERDIDA POR SECADO

Expuesto durante 2 horas a 105°C su límite es de 0.50 % como máximo.

(28)

2.1.h RESIDUO DE IGNICION

El límite no debe ser mayor de 0.20 %. (28)

2.1.i METALES PESADOS. METODO II.

Debe tener como límite máximo 30 ppm. (28)

2.1.j VALORACION

Disolver aproximadamente 350 mg de Tinidazol, exactamente pesados, en 75 ml de ácido acético glacial, hasta completa disolución, añadir una gota de S.R. de cristal violeta como indicador y titular con ácido perclórico 0.1 N hasta coloración verde esmeralda como punto final. Hacer una determinación en blanco para hacer la corrección necesaria. Cada ml de ácido perclórico 0.1 N equivale a 24.73 mg de  $C_8H_{13}N_3O_4S$ .

(28)

## 2.2.a DESCRIPCION

La Niclosamida es un polvo microcristalino, color crema, inodoro y sin sabor. (18)

## 2.2.b IDENTIFICACION

## A) Identificación al Espectro de Absorción Infrarrojo. (29)

El espectro de absorción infrarrojo exhibe un máximo únicamente a las mismas longitudes de onda y tiene una intensidad relativa similar a las del espectro de absorción infrarrojo de Niclosamida B.P. de Estándar de Referencia. Con disco de KBr, los máximos de absorción son 1292, 1333, 1351, 1562 y 1613  $\text{cm}^{-1}$ .

## B) Identificación Cromatográfica. (30)

Se lleva a cabo en placa fina utilizando el sistema de bases nitrogenadas método general de placas. Se utilizan placas de 20 X 20 cm cubierta con 30 g de sílica gel en 60 ml de agua para obtener una cubierta de 0.25 mm de espesor, y secado a 110°C durante una hora. La Niclosamida se localiza con luz ultravioleta o con solución de yodoplatinato acidificado en aerosol dando positiva la reacción, con Rf 0.91.

Muestra.- La muestra es de 1.0 microlitros de una solución al 1.0% en ácido acético 2N utilizando micropipetas.

Disolventes.- Solución de hidróxido de amonio:metanol (1.5:100) al cual se cambia después de 2 corrimientos.

Equilibrio.- Para obtener un buen corrimiento se satura la cámara durante una hora.

Desarrollo.- El corrimiento se lleva a cabo en 30 minutos, la placa se pueda revelar por cualquiera de estos medios:



- 1.- Luz ultravioleta 254 nm. Rf 0.91.
- 2.- Solución de yodoplatinato acidificado en aerosol.
- 3.- Reactivo de N-1-Naftiletildiamina en aerosol.
- 4.- Solución de hidróxido de sodio p-nitroanilina en aerosol.
- 5.- Reactivo de dragendorff en aerosol.
- 6.- Reactivo de p-dimetilaminocenzaldehido en aerosol.
- 7.- Reactivo de yodo-tetracloruro de carbono en aerosol.
- 8.- Reactivo de Marquis en aerosol.
- 9.- Vapores de Dióxido de Nitrógeno.
- 10.- Reactivo de Permanganato de Potasio en aerosol.

C) Punto de Fusión. (1E)

Aproximadamente de 225°C con descomposición.

- D) Calentar 50 mg de Niclosamida con 5 ml de ácido clorhídrico 1N y 0.1g de zinc en polvo en baño de agua por 10 minutos, enfriar y filtrar. Al filtrado añadir 0.5 ml de una solución al 1 % p/v de nitrito de sodio y dejar reposar 10 minutos, añadir 2 ml de una solución al 2 % p/v de sulfamato de amonio, agitar, dejar reposar 10 minutos y añadir 2 ml de una solución al 0.5 % p/v de diclorhidrato de N-1-Naftiletildiamina: se produce un color rojo.

(1G)

### 2.2.c SOLUBILIDAD

Prácticamente insoluble en agua, soluble 1 g en 150 partes de alcohol 95°, 1 g en 400 partes de cloroformo, y 1 g en 350 partes de éter; fácilmente soluble en acetona y dimetilformamida. (18)

### 2.2.d PUNTO DE FUSION

El punto de fusión es aproximadamente de 228°C. (18)

### 2.2.e 2-CLORO-4-NITROANILINA

Hervir 0.10 g de Niclosamida con 20 ml de Metanol durante 2 minutos, enfriar, añadir suficiente ácido clorhídrico 1N para producir 50 ml y filtrar. A 10 ml del filtrado añadir 0.5 ml de una solución al 0.5 % p/v de nitrito de sodio y dejar reposar 10 minutos, añadir 1 ml de solución al 2 % p/v de sulfamato de amonio, agitar, dejar reposar 10 minutos y añadir 1 ml de solución al 0.5 % p/v de diclorhidrato de N-1-Naftilendiamina. El color producido no es tan intenso como el producido por 10 mcg de 2-Cloro-4-nitroanilina tratado de la misma manera. (18)

### 2.2.f ACIDO 5 CLOROSALICILICO

Hervir 0.5 g con 10 ml de agua 2 minutos, enfriar, filtrar, y añadir al filtrado unas gotas de S.R. de cloruro férrico: no se produce color violeta ni rojo. (18)

### 2.2.g PERDIDA POR SECADO

Pesar aproximadamente de 1 a 2 g de Niclosamida, con exactitud, en un pesafiltro previamente tarado, secar en una estufa a 105°C hasta peso constante: pierde no más de 0.5 % de su peso. (18)

### 2.2.h CENIZAS SULFATADAS

El límite no debe ser mayor de 0.1 %. (18)

### 2.2.1 VALORACION

NOTA: Emplear material artificial.

Pesar 20 mg de Niclosamida, exactamente pesada, pasarlos a un matríz volumétrico de 50 ml, disolver y aforar con N-N Dimetilformamida grado espectro, medir 1 ml como alícuota y llevarlo a un segundo matríz volumétrico de 50 ml, disolver y aforar con N-N Dimetilformamida. Preparar un estándar de igual manera. Se obtiene una concentración de 8 mcg/ml. Usar como blanco N-N Dimetilformamida, y leer a 410 nm. (24)

Cálculos:

$$\frac{D.O. \text{ Problema}}{D.O. \text{ Estándar}} \times 100$$

## 2.3.a DESCRIPCIÓN

El Mebendazol es un polvo ligero, de blanco a amarillento. Estable en contacto con el aire, no higroscópico. Funde aproximadamente a 250°C. (21)

## 2.3.b IDENTIFICACIÓN

Espectrofotometría de luz ultravioleta.

A) El Mebendazol se identifica espectrofotométricamente efectuando una curva de absorción en solución al 0.05 % de ácido fórmico en Isopropanol, a las longitudes de onda de máxima absorción en aproximadamente 248 nm y 313 nm. En 0.01N de hidróxido de sodio en isopropanol a las longitudes de onda de máxima absorción en aproximadamente 270 nm y 355 nm. En ácido perclórico 1N en isopropanol a las longitudes de onda de máxima absorción en aproximadamente 234 nm y 283 nm. (30)

B) Pesar aproximadamente 50 mg de Mebendazol, con exactitud, transferirlos a un matraz volumétrico de 100 ml, disolver y aforar con solución alcohólica de ácido sulfúrico 0.5N. Medir una alícuota de 2 ml y transferirla a un segundo matraz volumétrico de 100 ml, diluir y aforar con solución alcohólica de ácido sulfúrico 0.5N. Efectuar una curva de absorción en celdas de 1 cm a las longitudes de onda entre 320 nm y 200 nm. Las lecturas máximas se obtienen en 250 nm, 233 nm, y mínima en 262 nm. Usar solución alcohólica de ácido sulfúrico 0.5N como blanco. (24)

Cromatografía en Placa Fina.

Preparación de la Solución Muestra.

Se disuelven 50 mg de Mebendazol en 1 ml de ácido fórmico al 99 % en un matraz volumétrico de 10 ml, se añade cloroformo a volumen y se mezcla.

#### Preparación de la Solución Estándar.

Similarmante se prepara una solución estándar de Metendazol USP Estándar de Referencia: se disuelven 50 mg en 1 ml de ácido fórmico al 96 % en un matríz volumétrico de 10 ml, se añade cloroformo a volumen y se mezcla. Se tiene en las soluciones muestra y estándar una concentración de 5 mg/ml.

En una placa cromatográfica de sílica gel, aplicar 10 microlitros de la preparación de la solución muestra y preparación de la solución estándar. Se dejan secar las manchas.

El disolvente que se utiliza para desarrollar el cromatograma consiste en un sistema de cloroformo, metanol, y ácido fórmico (90:5:5). El corrimiento se deja hasta que haya avanzado tres cuartos de placa, se retira la placa hasta que el disolvente se evapore y se revela la placa con luz ultravioleta. El Rf obtenido de la solución muestra corresponde al obtenido de la solución estándar. Rf 0.53. (3C)

#### 2.3.c SOLUBILIDAD

Prácticamente insoluble en agua, en soluciones diluidas de ácidos minerales, en alcohol, en éter, y en cloroformo. Fácilmente soluble en ácido fórmico, benzaldehído y etanol acidificado con ácidos minerales. (21)

#### 2.3.d PUREZA CROMATOGRÁFICA

Disolver 50 mg de Metendazol en 1 ml de ácido fórmico en un matríz volumétrico de 10 ml, adicionar cloroformo a volumen, mezclar. Preparar una solución de Metendazol USP de Estándar de Referencia en forma similar, obteniendo una concentración de 5 mg/ml. Transferir 1 ml de esta Solución Estándar a un matríz volumétrico de 200 ml, adicionar a volumen una mezcla de cloroformo y ácido

fórmico (9:1), y mezclar (Solución Estándar Diluida). En una placa adecuada para cromatografía en placa fina con una mezcla de sílica gel como soporte, colocar 10 ml de la Solución Problema, Solución Estándar y Solución Estándar Diluida. Dejar secar las manchas, y desarrollar el cromatograma en un sistema de disolventes el cual consiste de cloroformo:metanol:ácido fórmico (9:5:5) hasta que el disolvente llegue a las tres cuartas partes del frente de la placa. Sacar la placa y marcar el frente, dejar evaporar el disolvente y revelar el cromatograma con una lámpara de luz ultravioleta: el valor del Rf obtenido en la mancha principal de la Solución Problema corresponderá a la obtenida de la Solución Estándar. En el cromatograma ninguna mancha de la Solución Problema es más grande o más intensa que la obtenida en la Solución Estándar Diluida. (21)

2.3.e PERDIDA POR SECADO

Pesar de 1 a 2 gramos de Metendazol, exactamente pesados, en un papel sáfiltro tarado, secar en una estufa a 105°C durante 4 horas: pierda no más de 0.5 % de su peso. (21)

2.3.f RESIDUO DE IGNICION

El residuo no debe ser mayor de 0.1 %. (21)

2.3.g METALES PESADOS

El límite no debe ser mayor de 20 p.p.m. (21)

### 2.3.h VALORACION

#### A) Potenciométricamente.

Disolver aproximadamente 225 mg de Mebendazol, exactamente pesados, en 30 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0.1N. Determinar el punto final potenciométricamente, usando un sistema de electrodos vidrio calomel. Hacer una determinación con un blanco para hacer la corrección necesaria. Cada ml de ácido perclórico 0.1N equivale a 29.53 mg de  $C_{10}H_{13}N_2O_3$ . (21)

#### B) Espectrofotometría de Luz Ultravioleta

Reactivos:

- 1) Etanol Grado Espectro.
- 2) Solución Alcohólica de Acido Sulfúrico 0.5N.

Preparación del Estándar:

Pesar aproximadamente con exactitud 50 mg de Mebendazol USP Estándar de Referencia, se transfieren a un matríz volumétrico de 100 ml, se disuelve y se completa el volumen con solución alcohólica de ácido sulfúrico 0.5N. Se mide una alícuota de 2 ml de esta solución transfiriéndose a un segundo matríz volumétrico de 100 ml, se diluye y completa el volumen con solución alcohólica de ácido sulfúrico 0.5N.

Preparación de la Muestra:

Pesar aproximadamente 50 mg pesados con exactitud de la substancia por analizar, se transfiere a un matríz volumétrico de 100 ml y se trata de igual manera que el Estándar.

Posteriormente se procede a leer las D.O. de las soluciones Muestra y Estándar a una longitud de onda de 290 nm, usando celdillas de 1 cm. Usar como blanco solución alcohólica de ácido sulfúrico 0.5N.

Cálculos:

$$\frac{\text{Abs. muestra}}{\text{Abs. Estándar}} \frac{(\text{Peso Estándar})(\text{Pureza Estándar})}{\text{Peso Muestra}} = \% \text{ Mebendazol}$$

### 2.3.1 ABSORCIÓN AL ESPECTRO DE INFRARROJO (30)

El Mebendazol tiene absorción infrarroja en disco de KBr, previamente secado, exhibe máximos solamente a la misma longitud de onda que una preparación igual de Mebendazol USP de Estándar de Referencia. Los máximos principales son 705, 1260, 1590, 1635 y 1730  $\text{cm}^{-1}$ .

#### Curva Similar al Estándar

Frecuencia  $\text{cm}^{-1}$   
3340, 2700  
3090, 3070  
3050, 3010  
2940  
1695  
1650  
1630, 1590, 1570, 1450  
1270  
1095

#### Bandas de Absorción Características

Grupos Funcionales  
Grupo NH  
Anillo monosustituido CH  
CH Benzimidazol  
Grupo Metilo  
Banda de éster carbonilo  
Banda de éster  
Benzimidazol  
Banda de COO  
Banda de CO



## A N T E C E D E N T E S

El producto por analizar es un polifármaco que contiene 3 principios activos: Tinidazol, Niclosamida y Mebendazol, su forma farmacéutica es la de tableta y su fórmula es:

### FORMULACION

Cada tableta contiene:

Tinidazol	300 mg
Niclosamida	200 mg
Mebendazol	60 mg
Excipiente c.b.p.	1 tableta

En el proceso de investigación de esta tableta, primeramente se tuvieron que estudiar las propiedades físicas y químicas de cada uno de los 3 compuestos que lo integran (Tinidazol, Niclosamida y Mebendazol), para encontrar métodos analíticos que nos permitan separarlos de la tableta.

Además estas propiedades, nos permiten establecer diferencias importantes referente al comportamiento de éstos 3 fármacos en estudio, con el objeto único de poder separar primeramente el Tinidazol para cuantificarlo.

CAPITULO III

METODOS ANALITICOS PARA LA VALORACION  
DE TINIDAZOL  
EN UN POLIFARMACO

### 3 . 1   M E T O D O   E S P E C T R O F O T O M E T R I C O

## METODO ESPECTROFOTOMETRICO

### 3.1.1 FUNDAMENTO DEL METODO

#### A) Solubilidad\* (26)

Haciendo un estudio exhaustivo con respecto a las solubilidades de los fármacos (término USP) en estudio se obtuvo la siguiente tabla:

I.-	TINIDAZOL	Insoluble en Agua
	MEBENDAZOL	Insoluble en Agua
	NICLOSAMIDA	Insoluble en Agua
II.-	TINIDAZOL	Poco Soluble en Alcohol 95°
	MEBENDAZOL	Insoluble en Alcohol 95°
	NICLOSAMIDA	Poco Soluble en Alcohol 95°
III.-	TINIDAZOL	Insoluble en Eter
	MEBENDAZOL	Insoluble en Eter
	NICLOSAMIDA	Poco Soluble en Eter
IV.-	TINIDAZOL	Muy Soluble en Cloroformo
	MEBENDAZOL	Insoluble en Cloroformo
	NICLOSAMIDA	Poco Soluble en Cloroformo
V.-	TINIDAZOL	Muy Soluble en Acetona
	MEBENDAZOL	Poco Soluble en Acetona
	NICLOSAMIDA	Soluble en Acetona

VI.-	TINIDAZOL	Soluble en Acido Clorhídrico 0.1N
	MEBENDAZOL	Insoluble en Acido Clorhídrico 0.1N
	NICLOSAMIDA	Insoluble en Acido Clorhídrico 0.1N
VII.-	TINIDAZOL	Muy Soluble en Sol. Alcohólica de Acido Sulfúrico 0.5N
	MEBENDAZOL	Muy Soluble en Sol. Alcohólica de Acido Sulfúrico 0.5N
	NICLOSAMIDA	Soluble en Sol. Alcohólica de Acido Sulfúrico 0.5N
VIII.-	TINIDAZOL	Muy poco Soluble en Metanol
	MEBENDAZOL	Insoluble en Metanol
	NICLOSAMIDA	Poco Soluble en Metanol
IX.-	TINIDAZOL	Insoluble en Ciclohexano
	MEBENDAZOL	Insoluble en Ciclohexano
	NICLOSAMIDA	Insoluble en Ciclohexano
X.-	TINIDAZOL	Soluble en Metilcelosolve
	MEBENDAZOL	Insoluble en Metilcelosolve
	NICLOSAMIDA	Soluble en Metilcelosolve
XI.-	TINIDAZOL	Soluble en Acido Sulfúrico 1N
	MEBENDAZOL	Insoluble en Acido Sulfúrico 1N
	NICLOSAMIDA	Insoluble en Acido Sulfúrico 1N
XII.-	TINIDAZOL	Soluble en Dioxano
	MEBENDAZOL	Insoluble en Dioxano
	NICLOSAMIDA	Soluble en Dioxano

XIII.-	TINIDAZOL	Soluble en Benceno
	MEBENDAZOL	Insoluble en Benceno
	NICLOSAMIDA	Insoluble en Benceno
XIV.-	TINIDAZOL	Soluble en Benzaldehido
	MEBENDAZOL	Poco Soluble en Benzaldehido
	NICLOSAMIDA	Insoluble en Benzaldehido
XV.-	TINIDAZOL	Muy Soluble en Metanol Acidificado
	MEBENDAZOL	Muy Soluble en Metanol Acidificado
	NICLOSAMIDA	Insoluble en Metanol Acidificado
XVI.-	TINIDAZOL	Insoluble en N-N Dimetilformamida
	MEBENDAZOL	Insoluble en N-N Dimetilformamida
	NICLOSAMIDA	Soluble en N-N Dimetilformamida

* Término Descriptivo	Partes de Disolvente Requerido por una parte de Sólido
Muy Soluble	Menos de 1
Facilmente Soluble	De 1 a 10
Soluble	De 10 a 30
Poco Soluble	De 30 a 100
Ligeramente Soluble	De 100 a 1,000
Muy poco Soluble	De 1,000 a 10,000
Prácticamente Insoluble	De 10,000 a más
o Insoluble	

Por medio de esta tabla podemos observar que los 3 principios activos, tienen solubilidades muy semejantes entre sí. Haciendo pruebas, durante la investigación efectuada y con los datos aportados sobre la solubilidad de los 3 principios activos, se encuentran 3 datos importantes para obtener una buena separación del Tinidazol.

Tal es la relación de la solubilidad VI que nos indica:

TINIDAZOL	Soluble en HCl 0.1N
MEBENDAZOL	Insoluble en HCl 0.1N
NICLOSAAMIDA	Insoluble en HCl 0.1N

Lográndose una separación del Tinidazol sin interferencia de los otros 2 principios activos.

El Tinidazol separado por este método, se puede cuantificar; se puede leer en el Espectrofotómetro en luz ultravioleta a una longitud de onda de 250 nm.

Como el Tinidazol es el único principio activo que es soluble en solución de HCl 0.1N, los demás no interfieren en el momento de ser cuantificado en el Espectrofotómetro, por lo que se asegura que en esta determinación práctica se obtienen buenos resultados.

De la misma manera lo podemos separar en los puntos:

XI.- TINIDAZOL	Soluble en Acido Sulfúrico 1N
MEBENDAZOL	Insoluble en Acido Sulfúrico 1N
NICLOSAAMIDA	Insoluble en Acido Sulfúrico 1N

XIII.- TINIDAZOL	Soluble en Benceno
MEBENDAZOL	Insoluble en Benceno
NICLOSAAMIDA	Insoluble en Benceno



Se ejemplificó con el punto VI por los costos de los disolventes, pero de igual manera se obtienen buenos resultados en los puntos XI y XIII.

### 3.1.2 METODOLOGIA

#### Preparación de la Solución Problema:

Se tritura y se reduce a polvo fino no menos de 20 tabletas. De la muestra obtenida se pesan aproximadamente exactamente pasados, el equivalente a 75 mg de Tinidazol, y se transfiere a un matríz volumétrico de 250 ml, se añaden 50 ml de HCl 0.1N, se afara con el mismo disolvente, se mezcla y se filtra. Se miden 5 ml y se transfieren a un matríz volumétrico de 100 ml y se afara con HCl 0.1N. Se obtiene una concentración teórica aproximada de 15 mcg por ml.

#### Preparación de la Solución Estándar:

Pesar aproximadamente pasados con exactitud 75 mg de Tinidazol USP Estándar de Referencia, se transfiere a un matríz volumétrico de 250 ml, se disuelven con HCl 0.1N, se afara con el mismo disolvente. Se miden 5 ml y se transfieren a un matríz volumétrico de 100 ml y se afara con HCl 0.1N. Se obtiene una concentración teórica aproximada de 15 mcg/ml.

La lectura es al espectrofotómetro con luz ultravioleta. Leer las absorbancias de las Soluciones Muestra y Estándar a 250 nm. En celdas de 1 cm. Usando como blanco HCl 0.1N.

#### Cálculos

$$\frac{\text{Abs Pb}}{\text{Abs Est}} \frac{(\text{Peso Estándar})(\text{Pureza Est \%})}{\text{Peso Problema}} \times \text{Peso Promedio} = \text{mg/Tab}$$

Abs Pb = Absorbancia de la solución problema.

Abs Est = Absorbancia de la solución estándar.

Peso Estándar = Peso Estándar de Referencia en mg.

Peso Problema = Peso de la muestra en mg.

Pureza Est % = Grado de Pureza del Estándar de Referencia en porcentaje.

Peso Promedio = Peso Promedio de 20 tabletas en mg.

Para calcular el porcentaje respecto al metbeto:

300 mg/Tab \_\_\_\_\_ 100 %

mg/Tab \_\_\_\_\_ X X = %

### 3.1.3 RESULTADOS

Este método se aplicó a 3 lotes diferentes de producto, haciéndose en cada uno de ellos 5 determinaciones, los lotes fueron numerados en orden progresivo, conforme se fueron analizando cuantitativamente cada uno.

Datos Obtenidos

Concentración teórica de 15 u/ml

Determinaciones	mg/Tab.	% P act.
I	297.4	99.14
II	296.6	98.86
III	301.7	100.53
IV	296.5	98.83
V	302.7	100.90

#### Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	99.14	-0.518	0.268324
2	98.85	-0.768	0.620944
3	100.53	0.922	0.850084
4	98.83	-0.828	0.685584
5	100.90	1.242	1.542564

$$N = 5$$

$$\sum X = 498.29$$

Media

$$\bar{X} = 99.65$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{3.967}{4}} = 0.995$$

Varianza

$$S^2 = 0.991$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{S \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.995 \times 100}{99.658} = 0.999 \%$$

Error Estándar

$$\frac{S}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N(N - 1)}}$$

$$\frac{S}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{3.967}{5(5-1)}} = 0.445$$

Valor Real

$$Vr = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 99.65 \pm 0.445 \times 2.86$$

$$Vr = 99.65 \pm 1.273$$

T teórica = 2.86

Concentración teórica 15 ug/ml

Determinaciones	mg/Tab	% P act.
I	301.6	100.56
II	298.5	99.52
III	300.5	100.17
IV	298.0	99.33
V	295.2	98.40

Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	100.56	0.964	0.929296
2	99.52	-0.076	0.005776
3	100.17	0.574	0.329476
4	99.33	-0.266	0.070756
5	98.40	-1.196	1.430416

$$N = 5$$

$$\sum X = 497.98$$

Media

$$\bar{X} = 99.59$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{2.765}{4}} = 0.831$$

Varianza

$$s^2 = 0.691$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{x}}$$

$$Cv = \frac{0.831 \times 100}{59.596} = 0.834 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{2.765}{5(5-1)}} = 0.371$$

Valor Real

$$Vr = \bar{x} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 99.59 \pm 0.371 \times 2.86$$

$$Vr = 99.59 \pm 1.063$$

$$T \text{ Teórica} = 2.86$$

Concentración teórica de 15 ug/ml

Determinaciones	mg/Tab	% P act
I	295.5	98.50
II	295.4	98.46
III	298.7	99.59
IV	296.7	98.91
V	298.6	99.55

Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	98.50	-0.502	0.252004
2	98.46	0.542	0.293764
3	99.59	0.588	0.345744
4	98.91	-0.092	0.008464
5	99.55	0.548	0.300304

$$N = 5$$

$$\sum X = 495.01$$

Media

$$\bar{X} = 99.00$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$



$$s = \sqrt{\frac{1.200}{4}} = 0.547$$

Varianza

$$s^2 = 0.300$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{x}}$$

$$Cv = \frac{0.547 \times 100}{99.02} = 0.553 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{1.200}{5(5-1)}} = 0.244$$

Valor Real

$$V_r = \bar{x} \pm E_{\text{Est}}$$

$$V_r = 99.00 \pm 0.244 \times 2.85$$

$$V_r = 99.00 \pm 0.700$$

T teórica = 2.85

Porcentaje de

...

... DEL METODO E-DE CALMATONARITA

EN PLACA FINA OPTIMIZADA

100

100

99

1

2

3

4

5

1

2

3

4

5

No. de Determinaciones/Lote

1

2

3

4

5

Lote 1

Lote 2

Lote 3

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

3.2 METODO I DE CROMATOGRAFIA  
EN PLACA FINA  
PARA DETERMINACION DE TINIDAZOL

### 3.2.1 FUNDAMENTO DEL METODO

Por sus características fisicoquímicas, el Tinidazol se puede separar por cromatografía, de una manera rápida y sencilla de los otros 2 principios activos: Niclosamida y Mebendazol

Haciendo el estudio cromatográfico adecuado para la separación del Tinidazol en el producto terminado, se emplearon diferentes tipos de eluyentes.

Los eluyentes empleados en los cuales se obtiene una separación definida son:

- A) Cloroformo - Acetato de Etilo - Metanol - Acido Fórmico (4S:4S:5:5).
- B) Metanol.
- C) Acetato de Etilo - Alcohol Butílico Normal (90:10).
- D) Metanol - Cloroformo (80:10).

### 3.2.2 METODOLOGIA

#### Preparación de la Solución Problema:

Reducir a polvo fino no menos de 20 tabletas y pesar aproximadamente el equivalente a 100 mg de Tinidazol, exactamente pesado, transferirlos a un matríz volumétrico de 100 ml, adicionar 70 ml de cloroformo y agitar mecánicamente 25 minutos, aforar y filtrar a través de papel filtro.

Concentración teórica 1 mg/ml.

Medir 50 ml del filtrado con pipeta volumétrica, transferirlo a un vaso de precipitado de 100 ml. Evaporar casi a sequedad y pasar la solución a un matríz volumétrico de 25 ml, lavar perfectamente el vaso con pequeñas porciones de cloroformo y pasar los lavados al mismo matríz, aforar y mezclar.

Concentración teórica 2 mg/ml.

#### Preparación de la Solución Estándar:

Pasar aproximadamente exactamente pesados 50 mg de Tinidazol USP Estándar de Referencia, transferirlos a un matríz volumétrico de 25 ml, disolver y aforar con cloroformo y mezclar.

Concentración teórica aproximada de 2 mg/ml

#### Desarrollo del Cromatograma:

Dividir las placas en 2 carrilas y aplicar 50 microlitros de la Solución Problema, y 50 microlitros de la Solución Estándar a una distancia de 2 cm del origen de la placa. Desarrollar el cromatograma en una cámara cromatográfica, usando como fase móvil una mezcla de cloroformo - acetato de etilo - metanol - ácido fórmico (45:45:5:5), y correr aproximadamente 15 cm. Posteriormente sacar la placa de la cámara cromatográfica, secarlas con aire y luego 3 minutos en la estufa a 100°C.

Después localizar e identificar las manchas con lámpara de luz ultravioleta. Raspar cuidadosamente las manchas respectivas, transferirlas a tubos de centrifuga, añadir 10 ml de metanol, mezclar y centrifugar. Leer las absorbancias del Problema y Estándar a 320 nm, en celdas de 1 cm, usando como blanco metanol.

#### Cálculos

$$\frac{\text{Abs Pb}}{\text{Abs Est}} \times \frac{(\text{Peso Estándar}) (\text{Pureza Est \%})}{\text{Peso Problema}} \times \text{Peso Promedio} = \text{mg/Tab}$$

Abs Pb = Absorbancia de la solución problema.

Abs Est = Absorbancia de la solución estándar.

Peso Estándar = Peso Estándar de Referencia en mg.

Peso Problema = Peso de la muestra en mg.

Pureza Est % = Grado de Pureza del Estándar de Referencia en por ciento.

Peso Promedio = Peso Promedio de 20 tabletas en mg.

Para calcular el porciento respecto al metate:

$$\begin{array}{l} 300 \text{ mg/Tab} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 100 \% \\ \text{mg/Tab} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad \times \quad \quad \quad \times = \% \end{array}$$

### 3.2.3 RESULTADOS

Este método se aplicó a 3 lotes diferentes de producto, haciéndose en cada uno de ellos 5 determinaciones, los lotes fueron numerados en orden progresivo, conforme se fueron analizando cuantitativamente cada uno y es el mismo orden que en el método anterior.

#### Datos Obtenidos

Determinaciones	Concentración teórica de 10 ug/ml	
	ng/Tab	% P act.
I	299.55	99.85
II	296.73	98.91
III	296.75	98.91
IV	302.99	100.99
V	297.63	99.21

#### Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

n	x	$(x - \bar{x})$	$(x - \bar{x})^2$
1	99.853	0.276	0.076176
2	98.910	-0.657	0.444689
3	98.917	-0.660	0.435600
4	100.999	1.422	2.022064
5	99.210	-0.367	0.134689

$$N = 5$$

$$\bar{X} = 99.869$$

Media

$$\bar{X} = 99.57$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{3.113}{4}} = 0.882$$

Varianza

$$s^2 = 0.778$$

Coficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.882 \times 100}{99.57} = 0.885 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n(n - 1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{3.113}{5(5-1)}} = 0.394$$



Water Anal

$$V.P. = \bar{R} \pm E \text{ Est}$$

$$V.P. = 99.07 \pm 0.304 \quad n = 2.00$$

$$V.P. = 99.07 \pm 1.120$$

$$T \text{ Test} = 2.00$$

Valor Real

$$V_r = \bar{X} \pm E_{Est}$$

$$V_r = 99.57 \pm 0.394 \times 2.86$$

$$V_r = 99.57 \pm 1.128$$

$$T_{Tabl.} = 2.86$$

Valor Real

$$V r = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

$$V r = 99.57 \pm 0.394 \times 2.86$$

$$V r = 99.57 \pm 1.124$$

$$T \text{ Teór.} = 2.86$$

Concentración teórica de 10 ug/ml

Determinaciones	mg/Tab	% P. act.
I	292.9	97.64
II	292.4	97.47
III	293.5	97.84
IV	292.1	97.33
V	294.0	98.01

Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	97.64	-0.026	0.00070
2	97.47	-0.193	0.037249
3	97.64	0.171	0.029241
4	97.33	-0.239	0.057121
5	98.01	0.341	0.116281

$$N = 5$$

$$\sum X = 489.326$$

Media

$$\bar{X} = 97.87$$

Desviación Estándar

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

$$s = \sqrt{\frac{0.266}{5-1}} = 0.258$$

Varianza

$$s^2 = 0.066$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{x}}$$

$$Cv = \frac{0.258 \times 100}{99.67} = 0.254 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{0.266}{5(5-1)}} = 0.115$$

Valor Real

$$Vr = \bar{x} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 97.67 \pm 0.115 \times 2.86$$

$$Vr = 97.67 \pm 0.330$$

T teórica = 2.86

Concentración teórica de 10 ug/ml

Determinaciones	mg/Tab	% P act.
I	295.0	98.35
II	297.1	99.04
III	297.1	99.03
IV	297.6	99.21
V	299.1	99.70

Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	x	( x - $\bar{x}$ )	( x - $\bar{x}$ ) <sup>2</sup>
1	98.35	-0.720	0.518400
2	99.04	-0.022	0.000484
3	99.03	-0.034	0.001156
4	99.21	0.139	0.019321
5	99.70	0.637	0.405769

$$N = 5$$

$$\sum x = 495.355$$

Media

$$\bar{x} = 99.07$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{0.945}{4}} = 0.059$$

Varianza

$$s^2 = 0.236$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{x}}$$

$$Cv = \frac{0.059 \times 100}{99.07} = 0.245 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{0.945}{5(5-1)}} = 0.217$$

Valor Real

$$Vr = \bar{x} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 99.07 \pm 0.217 \times 2.86$$

$$Vr = 99.07 \pm 0.621$$

T teórico = 2.05





3.3 METODO II DE CROMATOGRAFIA

EN PLACA FINA

PARA CUANTIFICAR TINIDAZOL

### 3.3.1 FUNDAMENTO DEL METODO

Basado en las características fisicoquímicas del Tinidazol, se realizó un segundo estudio de separación por cromatografía en placa fina de los otros 2 principios activos (Niclosamida y Mebendazol) empleando solamente alcohol metílico como eluyente.

El Tinidazol absorbe con luz ultravioleta con 2 máximos de absorción, en 253 nm y 320 nm en cloroformo, leído en el espectrofotómetro. El espectro de absorción ultravioleta de la solución muestra exhibe 2 máximos a la misma longitud de onda que una solución estándar.

### 3.3.2 METODOLOGIA

#### Preparación del Problema:

Se pulverizan y reducen a polvo fino no menos de 20 tabletas, se pesan aproximadamente, con exactitud, el equivalente a 100 mg de Tinidazol, y se lleva a un matraz volumétrico de 100 ml, añadiendo 50 ml de alcohol etílico, se agita durante 20 minutos, se afora y se filtra con el mismo disolvente, Se obtiene una concentración teórica de 1 mg/ml. Después se mide con micropipeta 100  $\mu$ l y se aplica en la placa.

#### Preparación del Estándar:

Se pesan 100 mg de Tinidazol USP Estándar de Referencia y se llevan a un matraz volumétrico de 100 ml, se añaden 50 ml de alcohol etílico a disolución total y se afora con el mismo disolvente. Se obtiene una concentración teórica de 1 mg/ml. Posteriormente se mide con micropipeta volumétrica 100  $\mu$ l de la solución estándar y se aplica en la placa.

Posteriormente se introduce en la cámara la placa empleando metanol como eluyente. Una vez obtenido el corrimiento se localizan las manchas por medio de luz ultravioleta, en el cual el Rf del Problema debe tener el mismo Rf del estándar. Se raspan las manchas correspondientes al Tinidazol, y cada raspado se lleva a un matraz volumétrico de 10 ml, se añaden 5 ml de cloroformo, se agitan aproximadamente 10 minutos y luego se afora con el mismo disolvente.

Se obtiene tanto en Problema como en Estándar una concentración de 10 mcg por mililitro. Las absorbancias son leídas en el espectrofotómetro con luz ultravioleta a 253 y a 320 nm, usando cloroformo como blanco.

## Cálculos

$$\frac{\text{Abs Pb}}{\text{Abs Est}} \frac{(\text{Peso Estándar}) (\text{Pureza Est } \%)}{\text{Peso Problema}} \times \text{Peso Promedio} = \text{mg/Tab}$$

Abs Pb = Absorbancia de la solución problema.

Abs Est = Absorbancia de la solución estándar.

Peso Estándar = Peso del Estándar de Referencia en mg.

Pureza Est % = Grado de Pureza del Estándar de Referencia en por ciento.

Peso Problema = Peso de la muestra en mg.

Peso Promedio = Peso Promedio de 20 tabletas en mg.

Para calcular el por ciento respecto al marbete:

$$\begin{array}{l} 300 \text{ mg/Tab} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 100 \% \\ \text{mg/Tab} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad X \quad \quad \quad X = \% \end{array}$$

### 3.3.3 RESULTADOS

Este método se aplicó a 3 lotes diferentes de producto, haciéndose en cada uno de ellos 5 determinaciones, los lotes fueron numerados en orden progresivo conforme se fueron analizando cuantitativamente cada uno y es el mismo orden que en los métodos anteriores.

#### Datos Obtenidos

Determinaciones	Concentración teórica de 10 ug/ml	
	mg/Tab	% P act.
I	297.3	99.12
II	296.9	98.97
III	298.6	99.55
IV	301.7	100.56
V	294.6	98.21

#### Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	$(X - \bar{X})$	$(X - \bar{X})^2$
1	99.12	-0.160	0.025600
2	98.97	-0.315	0.099225
3	99.55	0.270	0.072900
4	100.56	1.279	1.635841
5	98.21	-1.072	1.149184

$$N = 5$$

$$\sum X = 496.437$$

Media

$$\bar{X} = 99.28$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{2.982}{4}} = 0.863$$

Varianza

$$s^2 = 0.745$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.863 \times 100}{99.28} = 0.869 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N(N - 1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{2.982}{5(5-1)}} = 0.386$$

Valor Real

$$Vr = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 99.28 \pm 0.386 \times 2.86$$

$$Vr = 99.28 \pm 1.104$$

$$T \text{ teórica} = 2.86$$

Concentración teórica de 10 ug/ml

Determinaciones	mg/Tab	% P act.
I	302.8	100.93
II	303.5	101.16
III	300.9	100.30
IV	302.6	100.86
V	300.3	100.12

Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	100.93	0.256	0.065536
2	101.16	0.489	0.239121
3	100.30	-0.377	0.142129
4	100.86	0.189	0.035721
5	100.12	-0.557	0.310249

$$N = 5$$

$$\sum X = 503.35$$

Media:

$$\bar{X} = 100.67$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{0.792}{4}} = 0.445$$

Varianza

$$s^2 = 0.198$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{x}}$$

$$Cv = \frac{0.445 \times 100}{100.67} = 0.442 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{0.792}{5(5-1)}} = 0.159$$

Valor Real

$$Vr = \bar{x} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 100.67 \pm 0.199 \times 2.86$$

$$Vr = 100.67 \pm 0.569$$

$$T \text{ teórica} = 2.86$$



Determinaciones	Concentración teórica de 10 ug/ml	
	mg/Tab	% P act.
I	296.2	98.74
II	301.7	100.55
III	198.6	99.55
IV	300.9	100.30
V	297.4	99.14

### Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	98.74	-0.919	0.844551
2	100.55	0.905	0.819025
3	99.55	-0.112	0.012544
4	100.30	0.644	0.414736
5	99.14	-0.516	0.266256

$$N = 5$$

$$\sum X = 498.31$$

Media

$$\bar{X} = 99.66$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$\varepsilon = \sqrt{\frac{2.357}{4}} = 0.767$$

Varianza

$$s^2 = 0.589$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{\varepsilon \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.767 \times 100}{99.66} = 0.770 \%$$

Error Estándar

$$\frac{\varepsilon}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{2.357}{5(5-1)}} = 0.343$$

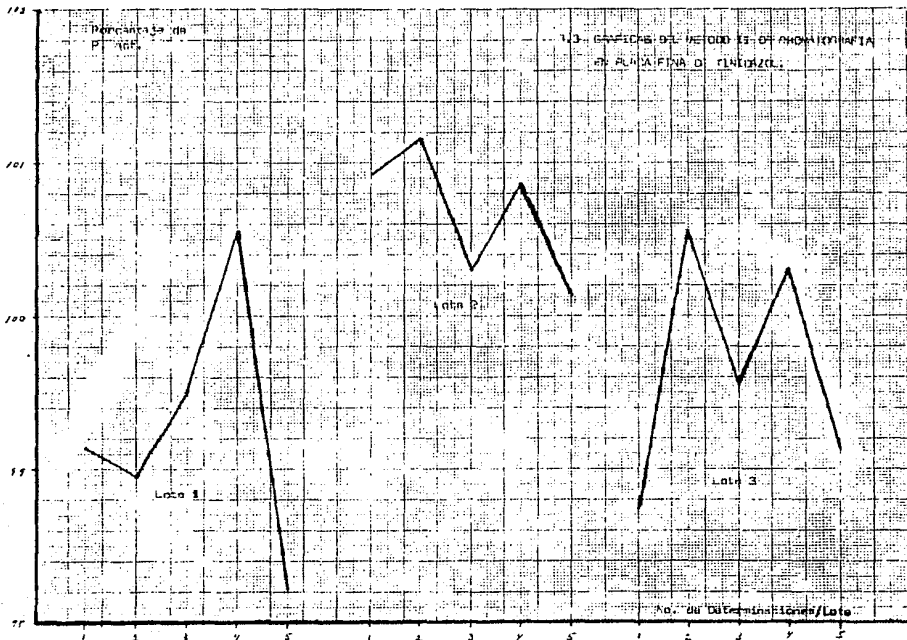
Valor Real

$$Vr = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 99.66 \pm 0.343 \times 2.06$$

$$Vr = 99.66 \pm 0.981$$

T teórica = 2.86



CAPITULO IV

METODOS ANALITICOS PARA LA VALORACION  
DE NICLOSAMIDA  
EN UN POLIFARMACO

#### 4.1 METODO ESPECTROFOTOMETRICO

#### 4.1.1 FUNDAMENTO DEL METODO

De la Tabla de Solubilidad de los diferentes principios activos (pág. 67), se observó el punto XVI que dice:

TINIDAZOL	Insoluble en N-N Dimetilformamida
NICLOSAMIDA	Soluble en N-N Dimetilformamida
MEBENDAZOL	Insoluble en N-N Dimetilformamida

En el cual se obtiene una separación de la Niclosamida de los otros 2 principios activos que son Tinidazol y Mebendazol, dando la oportunidad de poder cuantificarlo por el método espectrofotométrico sin la interferencia de los otros principios activos, ya que la Niclosamida es fácilmente soluble en N-N Dimetilformamida.

De la misma manera la podemos separar usando la prueba de solubilidad XV:

TINIDAZOL	Muy Soluble en Metanol Acidificado
MEBENDAZOL	Muy Soluble en Metanol Acidificado
NICLOSAMIDA	Insoluble en Metanol Acidificado

#### 4.1.2 METODOLOGIA

Preparación de la Solución Problema:

Se tritura y reduce a polvo fino no menos de 20 tabletas. De la muestra obtenida se pesa, exactamente el equivalente a 40 mg de Niclosamida, se transfiere a un matríz volumétrico de 100 ml, se añaden 50 ml de N-N Dimetilformamida grado espectro, se agita durante 20 minutos y se lleva al aforo con N-N Dimetilformamida. Posteriormente se filtra, se miden 2 ml del filtrado con pipeta volumétrica, se transfiere a un segundo matríz volumétrico de 100 ml, y se lleva a volumen con N-N Dimetilformamida, obteniéndose una concentración teórica de 8 mcg/ml.

Cálculos:

$$40 \text{ mg } \frac{\text{N-N Dimetilformamida}}{100 \text{ ml}} = 0.400 \text{ mg/ml.}$$

Medir 2 ml:

$$800 \text{ mcg } \frac{\text{N-N Dimetilformamida}}{100 \text{ ml}} = 8 \text{ mcg/ml}$$

Preparación de la Solución Estándar:

Pesar exactamente 40 mg de Niclosamida BP Estándar de Referencia, transferirlos a un matríz volumétrico de 100 ml, disolver y afajar con N-N Dimetilformamida. Medir 2 ml con pipeta volumétrica, transferirlos a un segundo matríz volumétrico de 100 ml, disolverlos y afajar con N-N Dimetilformamida. Se obtiene una concentración de 8 mcg/ml.

Emplear como blanco N-N Dimetilformamida.

Las lecturas tanto de la Solución Problema como de la Solución Es-



tándar, se llevan a cabo en el Espectrofotómetro con luz visible  
 Las densidades ópticas son leídas a una longitud de onda de 410 mμ,  
 en celdas de 1 cm.

Cálculos:

$$\frac{\text{Abs Pb}}{\text{Abs Est}} \times \frac{(\text{Peso Estándar}) (\text{Pureza Est \%})}{\text{Peso Problema}} \times \text{Peso Promedio} = \text{mg/Tab}$$

Abs Pb = Absorbancia de la solución problema.

Abs Est = Absorbancia de la solución estándar.

Peso Estándar = Peso Estándar de Referencia en mg.

Pureza Est % = Grado de Pureza del Estándar de Referencia en porciento.

Peso Problema = Peso de la muestra en mg.

Peso Promedio = Peso Promedio de 20 tabletas en mg.

Para calcular el porciento respecto al marbeto:

$$\begin{array}{l} 200 \text{ mg/Tab} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 100 \% \\ \text{mg/Tab} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad X \quad \quad X = \% \end{array}$$

#### 4.1.3 RESULTADOS

Este método se aplicó a 3 lotes diferentes de producto, haciéndose en cada uno de ellos 5 determinaciones, los lotes fueron numerados en orden progresivo, conforme se fueron analizando cuantitativamente cada uno.

##### Datos Obtenidos

Determinaciones	Concentración teórica de 3 ug/ml	
	mg/Tab	% P act.
I	201.9	100.99
II	201.2	100.63
III	202.3	101.19
IV	198.6	99.30
V	199.3	99.44

##### Datos Estadísticos

Con los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	$(X - \bar{X})$	$(X - \bar{X})^2$
1	100.99	0.676	0.456964
2	100.63	0.319	0.101761
3	101.19	0.881	0.776161
4	99.30	-1.006	1.016064
5	99.44	-0.866	0.750064

$$N = 5$$

$$X = 501.577$$

Media

$$\bar{X} = 100.31$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{3.107}{4}} = 0.881$$

Varianza

$$S^2 = 0.776$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{S \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.881 \times 100}{100.31} = 0.878 \%$$

Error Estándar

$$\frac{S}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N(N - 1)}}$$

$$\frac{S}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{3.107}{5(5-1)}} = 0.394$$

Valor Real

$$Vr = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 100.31 \pm 0.394 \times 2.86$$

$$Vr = 100.31 \pm 1.127$$

T teórica = 2.86

Concentración teórica de 8 ug/ml

Determinaciones	ug/Tab	% P act.
I	200.0	100.00
II	203.7	101.50
III	201.9	100.99
IV	202.9	101.45
V	201.6	100.82

**Datos Estadísticos**

Con los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	100.00	-1.032	1.065024
2	101.63	0.648	0.421904
3	100.99	-0.039	0.001521
4	101.45	0.434	0.188356
5	100.82	-0.210	0.044100

$$N = 5$$

$$\sum X = 505.151$$

Media

$$\bar{X} = 101.03$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{2.018}{4}} = 0.710$$

Varianza

$$s^2 = 0.504$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.710 \times 100}{101.103} = 0.703 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{2.018}{5(5-1)}} = 0.317$$

Valor Real

$$Vr = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 101.103 \pm 0.317 \times 2.86$$

$$Vr = 101.103 \pm 0.908$$

$$T \text{ teórica} = 2.86$$

Concentración teórica de 8 ug/ml

Determinaciones	mg/Tab	% P act.
I	199.5	99.75
II	199.8	99.93
III	199.8	99.40
IV	197.2	98.61
V	195.5	98.27

Datos Estadísticos

Con los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	99.75	0.557	0.310249
2	99.93	0.733	0.544644
3	99.40	0.212	0.044944
4	99.61	-0.531	0.337561
5	98.27	-0.925	0.855625

$$N = 5$$

$$\sum X = 495.966$$

Media

$$\bar{X} = 99.19$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{2.093}{4}} = 0.723$$

Varianza

$$s^2 = 0.523$$

Coeficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.723 \times 100}{99.19} = 0.729 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{2.093}{5(5-1)}} = 0.323$$

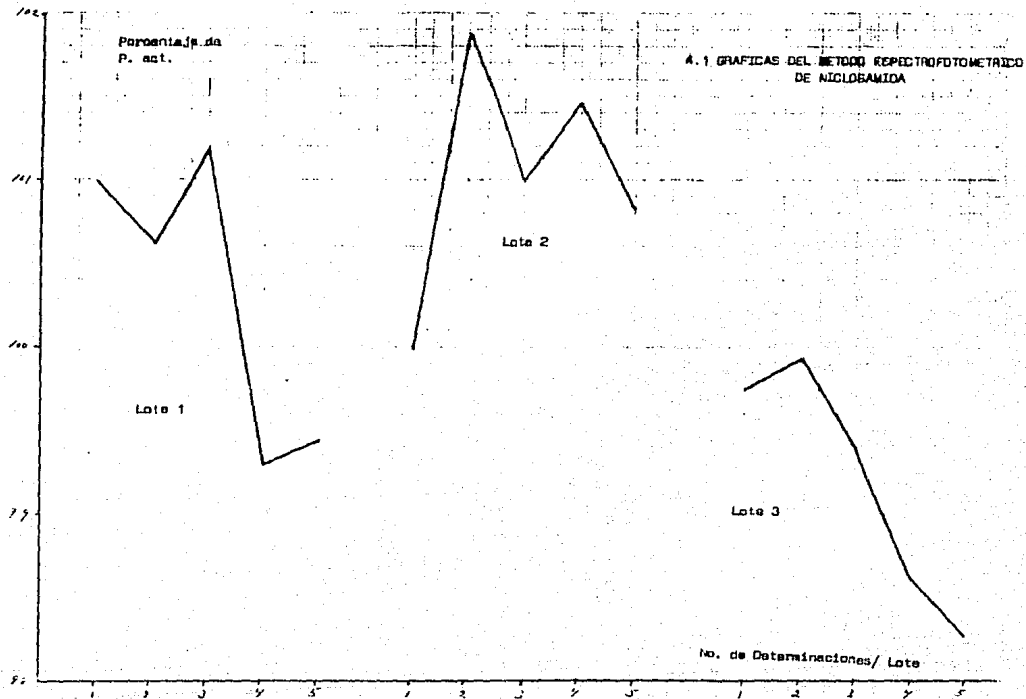
Valor Real

$$Vr = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 99.19 \pm 0.323 \times 2.86$$

$$Vr = 99.19 \pm 0.925$$

$$T \text{ teórica} = 2.06$$





#### 4.2 METODO POTENCIOMETRICO

#### 4.2.1 FUNDAMENTO DEL METODO

Aprovechando la característica que tiene la Niclosamida de ser muy soluble en N-N Dimetilformamida, se desarrolló un segundo método para su valoración en las tabletas.

Para valorar la Niclosamida potenciométricamente se efectuó una investigación acerca de los posibles titulantes para la Niclosamida, así como un método fácil y sencillo de realizar. Se determinó que el reactivo titulante que mejor resultados proporcionó fué el Hidróxido de Tetrabutilamonio 0.1N.

El volumen gastado de Hidróxido de Tetrabutilamonio 0.1N es pequeño, por lo que se sugiere utilizar una microbureta de 10 ml para una mejor lectura, pues el titulante se va adicionando lentamente con gasto de 0.1 ml aproximadamente tomando la lectura en el potenciómetro en milivoltios.

La lentitud en la adición del Hidróxido de Tetrabutilamonio 0.1N es con el fin de observar el momento exacto en que la aguja del potenciómetro sufre el desplazamiento, anotando la lectura que indica el volumen de reactivo titulante gastado, para determinar la cantidad de Niclosamida en las tabletas.

#### 4.2.2 METODOLOGIA

##### Preparación de la Solución Problema:

Pulverizar y reducir a polvo fino no menos de 20 tabletas, pesar por duplicado una porción de polvo, equivalente a 100 mg de Niclosamida, aproximadamente 350 mg de muestra, se transfiere a un vaso de precipitado de 100 ml y se adicionan 30 ml de acetona caliente, agitando durante 15 minutos. Filtrar a través de papel filtro, recibiendo el filtrado en un vaso de precipitado de 250 ml.

Lavar perfectamente el vaso de precipitado y el papel filtro con acetona caliente. Evaporar a sequedad. Disolver el residuo en 50 ml de (N-N) Dimetilformamida, y titular potenciométricamente con Hidróxido de Tetrabutilamonio 0.1N usando electrodo de vidrio calomel como indicador.

Adicionar el titulante en volúmenes de 0.1 ml, agitando después de cada adición y anotar las lecturas correspondientes en milivoltios. La determinación del punto de equivalencia se obtiene graficando en papel milimétrico los milivoltios contra los mililitros gastados. Cada mililitro de Hidróxido de Tetrabutilamonio 0.1N equivale a 32.713 mg de Niclosamida.

#### 4.2.3 RESULTADOS

Este método se aplicó a 3 lotes diferentes de producto, haciéndose en cada uno de ellos 5 determinaciones, los lotes fueron numerados en orden progresivo, conforme se fueron analizando cuantitativamente cada uno.

Datos obtenidos

Determinaciones	mg./Tab	% P act.
I	195.5	98.27
II	195.0	98.01
III	197.0	98.52
IV	195.5	98.28
V	196.4	98.20

#### Datos Estadísticos

Con los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	x	( x - $\bar{x}$ )	( x - $\bar{x}$ ) <sup>2</sup>
1	98.27	0.013	0.000169
2	98.01	-0.243	0.059049
3	98.52	0.263	0.069169
4	98.28	0.026	0.000676
5	98.20	-0.056	0.003136

$$N = 5$$

$$\sum x = 491.266$$

Media

$$\bar{x} = 98.25$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{0.132}{4}} = 0.161$$

Varianza

$$s^2 = 0.033$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{x}}$$

$$Cv = \frac{0.161 \times 100}{98.25} = 0.135 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N(N - 1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{0.132}{5(5-1)}} = 0.081$$

Valor Real

$$Vr = \bar{x} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 98.25 \pm 0.081 \times 2.66$$

$$Vr = 98.25 \pm 0.232$$

T teórica = 2.86

Determinaciones	mg/Tab	% P act.
I	205.0	102.52
II	204.0	102.04
III	202.9	101.49
IV	205.0	102.51
V	204.6	102.31

#### Datos Estadísticos

- Con los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	102.52	0.350	0.123201
2	102.04	-0.135	0.018496
3	101.49	-0.684	0.467856
4	102.51	0.332	0.110224
5	102.31	0.137	0.018769

$$N = 5$$

$$\sum X = 510.89$$

Media

$$\bar{X} = 102.17$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{0.736}{4}} = 0.429$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{S \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.429 \times 100}{102.17} = 0.420 \%$$

Error Estándar

$$\frac{S}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{S}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{0.736}{N(N-1)}} = 0.192$$

Valor Real

$$Vr = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 102.17 \pm 0.192 \times 2.66$$

$$Vr = 102.17 \pm 0.529$$

T teórica = 2.66

Determinaciones	mg/Tab	% P. act.
I	203.1	101.56
II	204.5	102.44
III	204.6	102.42
IV	204.2	102.11
V	204.5	102.26

#### Datos Estadísticos

Con los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	101.56	-0.696	0.355216
2	102.44	0.283	0.080089
3	102.42	0.260	0.066564
4	102.11	-0.050	0.002500
5	102.26	0.105	0.011025

$$N = 5$$

$$\sum X = 510.82$$

Media

$$\bar{X} = 102.16$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$



$$s = \sqrt{\frac{0.515}{4}} = 0.358$$

Varianza

$$s^2 = 0.128$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.358 \times 100}{102.16} = 0.351 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{0.515}{N(N-1)}} = 0.160$$

Valor Real

$$Vr = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

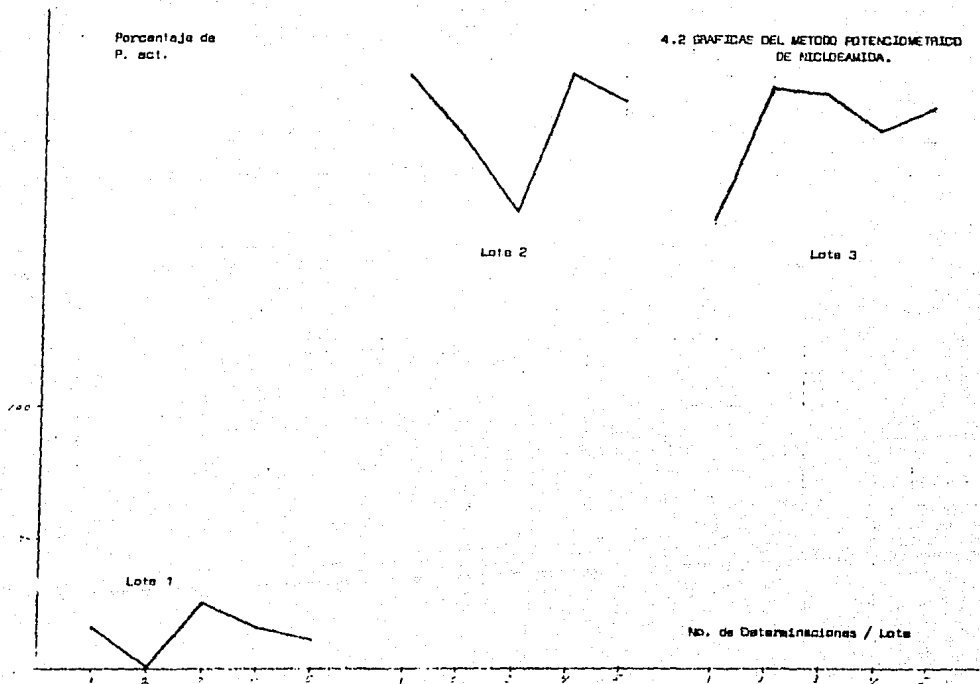
$$Vr = 102.16 \pm 0.160 \times 2.66$$

$$Vr = 102.16 \pm 0.459$$

$$T \text{ teórica} = 2.66$$

Porcentaje de  
P. act.

4.2 GRAFICAS DEL METODO POTENCIOMETRICO  
DE NICLOAMIDA.



No. de Determinaciones / Lote

## CAPITULO V

MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA VALORACION  
DE MEBENDAZOL  
EN UN POLIFARMACO

## 5.1 METODO DE CROMATOGRAFIA

### EN PLACA FINA

### 5.1.1 FUNDAMENTO DEL METODO

El Mebendazol se puede separar fácilmente de sus otros 2 componentes: Tinidazol y Niclosamida por cromatografía en placa fina.

Al hacer el estudio cromatográfico para separar al Mebendazol en el producto, se investigó su comportamiento, empleando diferentes elu - yentes encontrándose que la mezcla formada por cloroformo - éter fórmico - isopropanol (95:5:8) proporciona una disolución efectiva del Mebendazol.

Como fase móvil se investigaron varios eluyentes, concluyéndose que con el que mejor resultados se obtiene es con la mezcla de cloroformo - acetato de etilo - metanol - éter fórmico (45:45:5:5).

### 5.1.2 METODOLOGIA

#### Preparación de la Solución Problema

Pulverizar no menos de 20 tabletas hasta obtener un polvo fino, pesar por duplicado el equivalente a 50 mg de Mebendazol y transferirlo a un vaso de precipitado de 100 ml.

Adicionar 30 ml de la mezcla cloroformo - ácido fórmico - isopropanol (95:5:8), lentamente, agitar por 20 minutos, filtrar a través de papel filtro impregnado con la mezcla, y recibir el filtrado en un vaso de precipitado de 100 ml.

Lavar cuidadosamente el vaso de precipitado y el papel filtro con la mezcla, evaporar la mezcla con la ayuda de corriente de nitrógeno casi a sequedad, transferirlo a un matríz volumétrico de 25 ml, lavar varias veces el vaso de precipitado con la mezcla, pasar los lavados al mismo matríz, aforar con la mezcla y mezclar. Se obtiene una concentración teórica de 2 mg por mililitro.

#### Preparación de la Solución Estándar

Pesar exactamente 50 mg de Mebendazol USP Estándar de Referencia, pasarlo a un matríz volumétrico de 25 ml, disolver con la mezcla de cloroformo - ácido fórmico - isopropanol (95:5:8), y aforar con la misma mezcla. Se obtiene una concentración de 2 mg por mililitro.

#### Procedimiento

Dividir las placas en 4 carrilas y marcar al frente del disolvente a 15 cm. Aplicar por duplicado 100 microlitros de la Solución Estándar y Problema a 2 cm del origen de la placa.

Desarrollar el cromatograma usando como fase móvil una mezcla de cloroformo - acetato de etilo - metanol - ácido fórmico (45:45:5:5).

Posteriormente sacar las placas de la cámara cronofotográfica, se-  
 carlas al aire y luego 3 minutos en la estufa a 100°C. Después  
 localizar e identificar las manchas con lámpara de luz ultravio-  
 leta.

Raspar las manchas respectivas y transferirlas a matraces volumé-  
 tricos de 10 ml, adicionar a cada matríz solución alcohólica de  
 ácido sulfúrico 0.5N, hasta el aforo, mezclar, filtrar, y leer  
 las absorbancias del Problema y del Estándar a 290 nm, en celdas  
 de 1 cm, usando como blanco solución alcohólica de ácido sulfúri-  
 co 0.5N. Se obtiene una concentración teórica de 20 mcg/ml apro-  
 ximadamente.

#### Cálculos

$$\frac{\text{Abs Pb}}{\text{Abs Est}} \times \frac{(\text{Peso Estándar}) (\text{Pureza Est } \%) }{\text{Peso Problema}} \times \text{Peso Promedio} = \text{mg/Tab}$$

Abs Pb = Absorbancia de la solución problema.

Abs Est = Absorbancia de la solución estándar.

Peso Estándar = Peso del Estándar de Referencia en mg.

Pureza Est % = Grado de pureza del Estándar de Referencia en por ciento.

Peso Problema = Peso de la muestra en mg.

Peso Promedio = Peso Promedio de 20 tabletas en mg.

Para calcular el porcentaje respecto al marbete:

$$\frac{\text{EO mg/Tab}}{\text{mg/Tab}} \times \frac{100 \%}{x} = x \%$$



### 5.1.3 RESULTADOS

Este método se aplicó a 3 lotes diferentes de producto, haciéndose en cada uno de ellos 5 determinaciones, los lotes fueron numerados en orden progresivo, conforme se fueron analizando cuantitativamente cada uno.

#### Datos Obtenidos

Determinaciones	Concentración teórica de 20 ug/ml	
	mg/Tab	% P. act.
I	60.0	100.10
II	59.3	99.75
III	60.2	100.46
IV	60.0	100.11
V	59.5	99.29

#### Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor  $t$  de la Técnica de Valoración.

N	X	$(X - \bar{X})$	$(X - \bar{X})^2$
1	100.10	0.150	0.024954
2	99.75	-0.150	0.032400
3	100.46	0.515	0.265225
4	100.11	0.163	0.026569
5	99.29	-0.065	0.427716

$$N = 5$$

$$\bar{X} = 499.74$$

Media

$$\bar{X} = 99.94$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{0.776}{4}} = 0.440$$

Varianza

$$s^2 = 0.194$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{X}}$$

$$Cv = \frac{0.440 \times 100}{99.94} = 0.440 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N(N - 1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{0.776}{5(5-1)}} = 0.197$$

Valor Real

$$V_r = \bar{X} \pm E \text{ Est}$$

$$V_r = 99.94 \pm 0.197 \times 2.86$$

$$V_r = 99.94 \pm 0.563$$

T teórica = 2.86

Determinaciones	Concentración teórica de 20 ug/ml	
	mg/Tab	% P act
I	60.9	100.54
II	60.7	101.25
III	61.0	101.73
IV	60.8	101.44
V	61.5	102.62

### Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	( X - $\bar{X}$ )	( X - $\bar{X}$ ) <sup>2</sup>
1	101.54	-0.178	0.031684
2	101.25	-0.467	0.216089
3	101.73	0.012	0.000144
4	101.44	-0.273	0.074529
5	102.62	0.909	0.826281

$$N = 5$$

$$\sum X = 508.603$$

Media

$$\bar{X} = 101.72$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{1.150}{4}} = 0.536$$

Varianza

$$s^2 = 0.287$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{x}}$$

$$Cv = \frac{0.536 \times 100}{101.72} = 0.527 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{1.150}{5(5-1)}} = 0.239$$

Valor Real

$$Vr = \bar{x} \pm E_{Est}$$

$$Vr = 101.72 \pm 0.239 \times 2.86$$

$$Vr = 101.72 \pm 0.686$$

T teórica = 2.86

Determinaciones	Concentración teórica de 20 ug/ml	
	mg/Tab	% P act
I	59.92	99.71
II	59.62	99.37
III	59.64	99.73
IV	59.64	99.41
V	59.92	99.87

#### Datos Estadísticos

Usando los datos obtenidos se efectuaron las siguientes pruebas estadísticas: Media, Desviación Estándar, Varianza, Coeficiente de Variación, Error Estándar y Valor Real de la Técnica de Valoración.

N	X	$(X - \bar{X})$	$(X - \bar{X})^2$
1	99.71	0.093	0.008649
2	99.37	-0.244	0.059536
3	99.73	0.116	0.013456
4	99.41	-0.212	0.044944
5	99.67	0.251	0.063001

$$N = 5$$

$$\sum X = 499.119$$

Media

$$\bar{X} = 99.62$$

Desviación Estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$$s = \sqrt{\frac{0.169}{4}} = 0.217$$

Varianza

$$s^2 = 0.047$$

Coefficiente de Variación

$$Cv = \frac{s \times 100}{\bar{x}}$$

$$Cv = \frac{0.217 \times 100}{99.62} = 0.218 \%$$

Error Estándar

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N(N-1)}}$$

$$\frac{s}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{0.169}{5(5-1)}} = 0.097$$

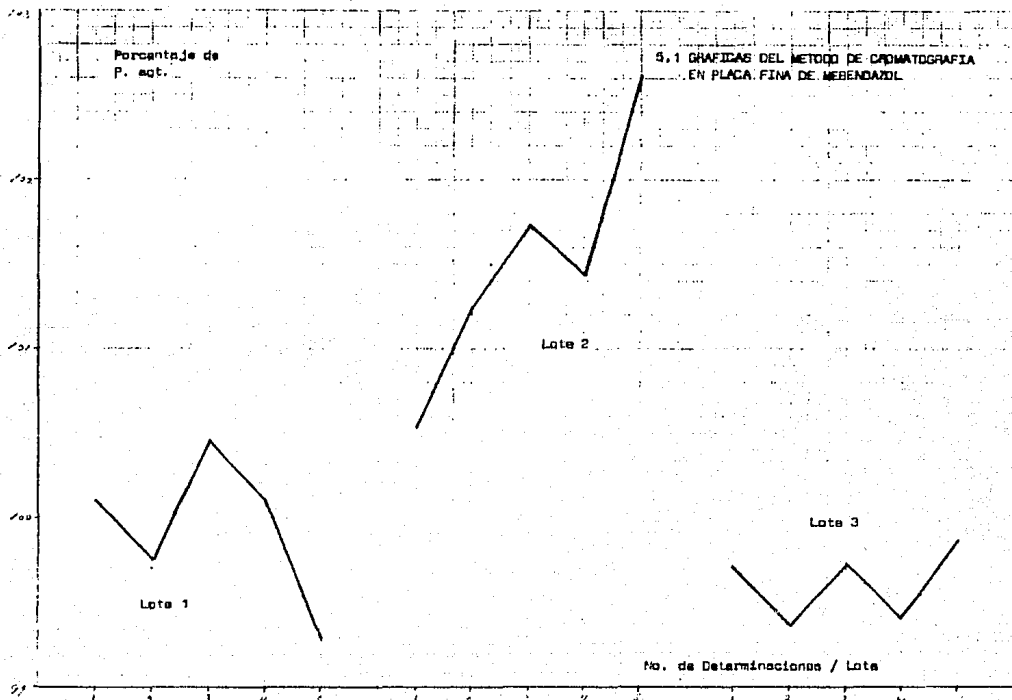
Valor Real

$$Vr = \bar{x} \pm E \text{ Est}$$

$$Vr = 99.62 \pm 0.097 \times 2.86$$

$$Vr = 99.62 \pm 0.278$$

T teórica = 2.86



## RESUMEN DE RESULTADOS

## TINIDAZOL

METODO	$\sigma$	C V	E EST
Espectrofotométrico	0.791	0.795	0.353
I Cromatografía en Placa Fina	0.399	0.464	0.242
II Cromatografía en Placa Fina	0.691	0.693	0.309

## NICLOSAMIDA

METODO	$\sigma$	C V	E EST
Espectrofotométrico	0.771	0.770	0.344
Potenciométrico	0.322	0.318	0.144

## MEBENDAZOL

METODO	$\sigma$	C V	E EST
Cromatografía en Placa Fina	0.397	0.395	0.177



CAPITULO VI

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE CADA UNO  
DE LOS METODOS DE  
ACUERDO A LOS RESULTADOS  
OBTENIDOS

6.1 TINIDAZOL

#### 6.1.A METODO ESPECTROFOTOMETRICO

##### Ventajas

Este es un método que proporciona reproducibilidad en los resultados obtenidos, en la valoración del Tinidazol en el polifármaco en estudio por su completa separación de los otros 2 principios activos, y esto se puede verificar con los resultados obtenidos en el capítulo 3.1. Además de ser rápido y sencillo.

##### Desventajas

Prácticamente ninguna ya que los reactivos y el material son de fácil adquisición y se lleva poco tiempo en el análisis.

#### 6.1.B METODO I DE CROMATOGRAFIA EN PLACA FINA PARA DETERMINACION DE TINIDAZOL

##### Ventajas

Este es un método que proporciona reproducibilidad en la cuantificación del Tinidazol, y esto se puede verificar con los resultados obtenidos en el capítulo 3.2. La separación del Tinidazol es completa proporcionando datos más seguros. Su metodología es sencilla.

##### Desventajas

El método tarda un poco más de tiempo que el anterior (6.1.A) y es más costoso.

#### 6.1.C METODO II DE CROMATOGRAFIA EN PLACA FINA PARA CUANTIFICAR TINIDAZOL

##### Ventajas

Este también es un método reproducible y esto se puede constatar con los resultados que se obtienen. Es un poco más rápido y sencillo que el anterior capítulo 3.2. Método I de Cromatografía en Placa Fina para Determinación de Tinidazol.

##### Desventajas

Ninguna. Se localizan fácilmente las manchas tanto del Estándar de Referencia como del Problema, descartándose las otras 2 manchas que aparecen, pertenecientes a Niclosamida y Mebendazol.

## 6.2 NICLOSAMIDA

## 6.2.A METODO ESPECTROFOTOMETRICO

### Ventajas

Es un método fácil, rápido, sencillo, con reproducibilidad en los resultados obtenidos, ya que este principio activo se separa completamente de sus otros 2 componentes Mecendazol y Tinidazol.

### Desventajas

Prácticamente ninguna ya que el reactivo, equipo y material empleado son de fácil adquisición y se lleva poco tiempo en el análisis.

## 6.2.B METODO POTENCIOMETRICO

### Ventajas

Este es un método fácil, rápido y sencillo, con el que se obtienen resultados confiables, es un método que no ofrece complicaciones, es reproducible.

### Desventajas

Este método es un poco más tardado que el anterior (6.2.A).

### 6.3 MEBENDAZOL



### 6.3.A METODO DE CHROMATOGRAFIA EN PLACA FINA

#### Ventajas

La metodología es fácil y sencilla. Se separa completamente de los otros 2 componentes, Tinidazol y Niclosamida.

#### Desventajas

Prácticamente ninguna ya que los reactivos, equipo y material empleado son de fácil adquisición.

CAPITULO VII

## 7.1 CONCLUSIONES

El polifármaco compuesto de 3 principios activos Tinidazol, Niclosamida, y Metendazol, se analizó como tableta, y se efectuaron determinaciones de dureza, tiempo de desintegración, peso promedio, friabilidad, humedad y variación de peso.

El estudio de este polifármaco se realizó en los Laboratorios Columbia S.A.

Cada uno de los métodos mencionados fué estudiado en base a cada principio activo de acuerdo a su monografía, tomando los datos proporcionados por las farmacopeas y sus fabricantes.

Se investigó el comportamiento de solubilidad de cada principio activo, surgiendo la tabla de solubilidades, que fué de gran utilidad en las metodologías desarrolladas.

Con respecto a las técnicas mencionadas se hicieron pruebas con diferentes reactivos para obtener una mejor separación de los principios activos que integran a la tableta. Así se buscaron los reactivos más adecuados, de fácil adquisición y menor costo.

La reproducibilidad en las metodologías se puede comprobar llevando a cabo el proceso mencionado en cada uno de ellos, en óptimas condiciones y con los reactivos mencionados.

El objetivo de esta tesis se cumplió al haberse realizado de manera óptima todos los aspectos relacionados con la separación de los 3 principios activos: Tinidazol, Niclosamida y Metendazol que integran el polifármaco.

CAPITULO VIII

## 8.1 BIBLIOGRAFIA

- 1.- Biagi, F.; Smyth, J.; González, C. "Tratamiento Simplificado de las Parasitosis por Protozoarios, Césodos y Nematelmin -  
tos". Prensa Médica Mexicana. Núm 1, 75-78, 1976.
- 2.- Biagi, F.; Martuscelli, A.; González, C.; Tratamiento de la  
himenolepisis nana con una nueva sustancia ténicida. Medici  
na Rev. Méx.; 869, 241-243, 1961.
- 3.- Carrera, P. A.; Atilio Barbeito, J.; Tessi, Carlos G. Avan -  
ces en el Tratamiento de las Parasitosis Intestinales. Ed.  
Laboratorios Columbia S.A. México D.F. 1979.
- 4.- Nava, Carlos.; Metlich, M. C.; Martí, M. Amibiasis Hepática.  
Su tratamiento con Tinidazol. Investigación Médica Interna -  
cional. 2, 92-97. 1974.
- 5.- Fernandes Leite, J., Estudio Clínico e Terapéutico de Meben -  
dazole em Crianças Poliparasitadas. Prensa Médica Mexicana.  
Núm. 8, 54-57, 1977.
- 6.- Repetto, Mario Osvaldo.; Flaski, Flora. Metendazol. Su evalua  
ción como Antihelmíntico de Amplio Espectro en Pediatría. La  
Semana Médica Argentina. 147 (23), 673. 1975.
- 7.- Schenone, H. y cols. Eol. Tratamiento de las Helminthiasis In -  
testinales Humanas con Mebendazole. Chileno de Parasitología;  
29, 1974.
- 8.- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Ediciones PLM  
S.A. México 1987.
- 9.- Garrido Lecona, M. Desparasitación Intestinal Colectiva con  
una nueva fórmula atóxica Panantihelmínica y Antiprotozoaria.  
Prensa Médica Mexicana. Núm. 3, 48-51, 1979.

- 10.- Pfizer, Chas., and Co., Inc. Brit. 1, 209, 394 (Cl. C07d),  
21 Oct. 1970. US. Antitrichomonal 5-nitroimidazoles. Chem Abs  
74 141801c. 1971.
- 11.- Caplar, Vesna; Sunjic, Vitimir; Kajfez, Franjo; Kufcinec,  
Physicochemical Properties and Identification Methods of Ti-  
nidazole. Chem Abs 82 47678r 1975.
- 12.- Taylor, James A., Jr.; Migliardi, Joseph R.; Schach von Wi-  
ttenau, M. Tinidazole and Metronidazole Pharmacokinetics.  
Chem Abs 75 47067r. 1971.
- 13.- Milier, M. W. Alkylation of 2-methyl-5-nitroimidazole. Some  
Potent Antiprotozoal Agent. J. Med Chem 13 (5), 849-852. 1970.
- 14.- Milier, M. W. Tinidazole a Potent New Antiprotozoal Agent.  
Antimicrobial Ag. Chemother. 257, 260. 1979.
- 15.- Howes, H. L.; Lynch, J. E.; Kivlin, J. L. Tinidazol, a New  
Antiprotozoal Agent; effect on trichomonas and other protozoa.  
Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 261-266. 1989.
- 16.- Andersson, T.; Forssell y Sterner, G. British Medical Journal;  
2, 449-451, 1972.
- 17.- Scheider, J. Traitement du Taeniasis A. T. Saginata par le Ni-  
closamide. Soc. Pathologie exotique; 56, 451-461, 1963.
- 18.- British Pharmacopoeia. H.M.S.O. London. Vol I, pag. 302-303. 1960.
- 19.- Ahkami, E. H. y Hajian, A. Radical Treatment of hymenolepis nana  
with Niclosamide. Journal of Trop. Med. and Hygiene; 10, 256-259,  
1970.



- 20.- Sittig, M. Pharmaceutical Manufacturing Encyclopedia. Noyes Data Corporation New Jersey. pág. 607. 1979.
- 21.- U.S.P. XXI, 1985, pág. 622, 1462.
- 22.- Kalman, Alajos.; Van Mevis, Frank.; Fath, Jozsef. Anthelmintische Wirkung des Metendazols gegen Nematoden und Zestoden bei Hunden. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift; 80, 320 - 322, 1973.
- 23.- Biagi, F.; Smyth, J. y González, C. Metendazol en Helminthiasis Intestinales. Prensa Med. Mex; Núm 1-II, 51-53. 1974.
- 24.- Medicamentos de Actualidad. U.S.A. 10:79, vol. IX, No. 7, 298, 1973.
- 25.- The Merck Index. 9a. ed., Merck & Co. Inc., U.S.A. 9172. pág. 1218. 1976.
- 26.- K. Butler (to Chas Pfizer Co. Inc.) US pat 3,373,3.
- 27.- Reynold, J.E. Martindale The Extra Pharmacopoeia. 27th ed. The Pharmaceutical Press, London, 1974-5. 1977.
- 28.- U.S.P. XVII. pág. 6. 1965.
- 29.- Remington's Pharmaceutical Science. Thirteenth Edition. Mack, Publishing Company. Easton, Pennsylvania. 1968.
- 30.- Clarke, E.G.C., Isolation and Identification of Drugs, Pharmaceutical Press, vol. 2. London. pág. 1056, 1067, 1068. 1978.
- 31.- Vasilov, B. V.; Pavlova, Z. A.; Iuda, L. M.; Zhukova, L. A. Preparation of phanasol crystals, their physicochemical and biological properties. Chem Abs 76 144764a 1972.

- 32.- Clarke, E. G., Isolation and Identification of Drugs. The Pharmaceutical Press, London, pág. 801, 1056. 1969.
- 33.- Whati, Abdel Aziz M.; Onsy, Salwa. Determinación de Metenidazol. Chem Abs 91 27362k. 1979.
- 34.- Tijdschr, Diergenees K. Benzimidazole derivatives. Chem Abs 79 73365v. 1973.
- 35.- Tatch Feguerra, Isaac. 5-nitroimidazole derivatives. Chem Abs 91 5225r. 1979.
- 36.- Noguchi, Y.; Tanaka, T. Aspects of the pharmacology and pharmacokinetics of nitroimidazoles with special reference to tinidazole. Chem Abs 89 140012t. 1978.
- 37.- Clarke, E. G. Isolation and Identification of Drugs. The Pharmaceutical Press, London. pág. 1965.
- 38.- Kuhnert - Brandsaetter, Maria.; Boesch, L.; Eckstein, G. Contribution to the microscopic characterization and identification of drugs. Chem Abs 83 30621y. 1978.
- 39.- Sanghavi, N. M.; Joshi, N. G.; Seoji, D. G. Colorimetric Method for Analysis of Tinidazole. Chem Abs 92 135519w. 1980.
- 40.- Laufen, H.; Sharpf, F.; Bartsch, G. Sensitive gas chromatographic assay of tinidazole in tissue and plasma. Chem Abs 91 133653r. 1979.
- 41.- Sanghavi, N. M.; Joshi, N. G. Analysis of Tinidazole. Chem Abs 92 28668y. 1980.

- 42.- Kholoshchanov, V. A. Determination of Tinidazole in Tablets by Depolarography. Chem Abs 85 2545r. 1976.
- 43.- Taylor, A. Tinidazole and Metronidazole Pharmacokinetics in man and mouse. Et Antimicrob Agent Chemoter. 267-270. 1969.
- 44.- British Pharmacopoeia. London. pág. 317-318. 1973.
- 45.- Himmlreich, M.; Rawson B. J. y Watson, T. R., Journal of Pharmaceutical Sciences 6,4. 1977.
- 46.- British Pharmacopoeia. London, pág. 661. 1968.
- 47.- Martindale. The Extra Pharmacopoeia, 28th ed., The Pharmaceutical Press. London. pág. 98,99, 100, 984. 1982.
- 48.- Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack P. Co. Easton Pennsylvania, U.S.A. pág. 1169, 1182. 1980.
- 49.- U.S.P. XX. Third Supplement. Co. Inc., U.S.A. pág. 179, 574. 1982.
- 50.- U.S.P. XX. U.S.A. Págs. 466. 1980.
- 51.- Vogel, A. Química Analítica Cuantitativa. Ed. Kapelus. Vol. I. pág. 441, 442. 1980.
- 52.- Connors Kenneth, A. A textbook of Pharmaceutical Analysis. John Wiley and Sons. Inc. 1966.
- 53.- Clinical Experience with Mebendazole. A New Broad Spectrum Anthelmintic. Congress on Tropical Pathology, Prague. August 26 1971.

- 54.- Oliveira G6mes, Mario C6ndido. Therapeutic Action of Metendazole. (R-17, 635) Against Human Helminthiasis. Doen<sup>ca</sup>s In<sup>fe</sup>ctuosas e Parasi<sup>ta</sup>rias. A Folha Medica - Dezembro. Vol. 63, p6g. 6. 1971.
- 55.- Oliveira G6mes. Mario C6ndido., Tratamento Da Teniase Pelo Metendazole. Doen<sup>ca</sup>s In<sup>fe</sup>ctuosas e Parasit6rias. A Folha Medica - Maio. Vol. 66. No. 5. 1973.
- 56.- Drugs of Today. Vol. VII, No. 2, 1972.
- 57.- Katz, N. e Zicker, F. Ensaio Clinico com Metendazole nas teniases. Rev. Soc. Bra. Medicina Tropical; Vol. VII, 225-228. 1973.
- 58.- Ram6rez Mart6nez, J. y Maya Ugalde, R. Tricocefalosis: Valora<sup>ci</sup>6n de un nuevo An<sup>ti</sup>helm6ntico. Vol. I. p6g. 234-239. 1980.
- 59.- Abot<sup>t</sup> y Andrews., In<sup>tr</sup>oducc6n a la Cromatografia. Ed. Alhambra, Madrid 1970.
- 60.- Dixon. Introducci6n al An6lisis Estad6stico. Mc Graw-Hill. M6xico. 1970.
- 61.- Downie, N. M. M6todos Estad6sticos Aplicados. Purdue University. Ed Harla. 1970.
- 62.- The Pharmaceutical Codex. Incorporating The British Pharmaceutical Codex. Eleventh Edition, p6g. S92. 1981.