



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

TECNICAS ESPECTROSCOPICAS PARA ANALISIS
DE SOLUCIONES OFTALMICAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Q U I M I C O

P R E S E N T A :

AYALA OTEO GUADALUPE MARIA ISABEL



MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1991



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.



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

JURADO ASIGNADO PRESIDENTE PROF. : MARIA LUISA GARCIA PADILLA
VOCAL " : ROCIO POZAS HORCASITAS
SECRETARIO " : ERNESTINA CERVERA FLORES
1^{er} SUPLENTE " : MARICELA GUTIERREZ FRANCO
2do. SUPLENTE " : CONSUELO ARELLANO BORJAS

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA : DEPTO. DE QUIMICA ANALITICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO
FACULTAD DE QUIMICA

Nombre completo y firma del asesor del tema :

PROF. ERNESTINA CERVERA FLORES

Nombre completo y firma del supervisor técnico :

PROF. MARICELA GUTIERREZ FRANCO

Nombre completo y firma del sustentante :

GUADALUPE MARIA ISABEL AYALA OTEO

INTRODUCCION

La Espectroscopia como parte del análisis instrumental ha tenido un auge enorme en los últimos años pues da la posibilidad de obtener resultados cualitativos y cuantitativos de una manera fácil, rápida y exacta.

Para tratar de implementar un método de análisis por espectroscopia es necesario primero conocer perfectamente el comportamiento de los productos a analizar en cada una de las técnicas espectroscópicas a emplear.

En este trabajo se presenta el estudio por Ultravioleta, Infrarrojo y Resonancia Magnética Protónica de los siguientes compuestos :

Metilcelulosa , Clorhidrato de Fenilefrina , Clorhidrato de Nafazolina, Idoxuridina, Nitrofurazona, Sulfato de Atropina, Acetato de Cortisona, 21-Fosfato de Dexametasona disódica y Medrisona.

Todos los compuestos estudiados son fármacos de uso oftálmico, generalmente en solución acuosa con metilcelulosa. Las técnicas U.S.P. establecidas para su determinación (Cromatografía de Gases, de permeación en gel, de líquidos, etc.) requieren de la extracción de los principios activos del medio en que se encuentren, lo que, sin quitar exactitud aumenta el tiempo del análisis.

La respuesta de los análisis espectroscópicos es rápida y característica de cada compuesto por lo que los define perfectamente de un modo cualitativo y permite su uso como criterio de pureza, estando este caso restringido por la capacidad de resolución del equipo empleado.

Cuando se conocen las características espectroscópicas de los compuestos, es factible establecer las posibilidades de una aplicación cuantitativa, presentando en algunos casos la ventaja de analizar 2 ó más fármacos simultáneamente.

El objetivo principal es el estudio espectroscópico de los principios activos de las soluciones oftálmicas y determinar la posibilidad de implementar la técnica de análisis cuantitativo por Espectroscopia UV.

ESPECTROSCOPIA

La espectroscopia es la interacción de la radiación electromagnética con la materia.

Los átomos, iones y moléculas de un compuesto poseen un número limitado de niveles de energía discretos y cuantizados de los cuales al menor se le denomina estado fundamental. Al suministrar energía al estado fundamental se induce una transición a un estado excitado en el cual los electrones que se encontraban en él se trasladan uno o varios niveles superiores. El tiempo de vida de estas partículas excitadas es muy corto, así que siguen un proceso de relajación en el cual los electrones se trasladan de nuevo hasta el nivel de energía inferior o al de energía del estado fundamental, produciendo la pérdida de energía de excitación, ya sea en forma de calor, radiación fluorescente, fosforescente, o una combinación de ellas.

La absorción de energía es el proceso por el cual una especie capta selectivamente ciertas frecuencias de la radiación electromagnética.

Tomando en cuenta que la concentración de la especie excitada en cualquier instante es inapreciable, debido a su corta vida, y a que la energía térmica emitida durante su relajación es tan pequeña que no se detecta, los métodos de absorción poseen la considerable ventaja de producir poca o ninguna alteración en el sistema estudiado. La energía de absorción se mide determinando la disminución de la intensidad (I) de un haz de radiación como resultado de las interacciones con las especies absorbentes situadas en la trayectoria de dicho haz, esto se plantea mediante la siguiente relación matemática :

$$A = \epsilon l C$$

a la cual se llama Ley de Beer-Lambert .

Donde: A = absorbancia = $\log I_0/I$
 c = constante de proporcionalidad a la que se le denomina formalmente Coeficiente de Extinción molar y comunmente se le conoce por Absortividad molar o coeficiente de absorción.
 l = longitud del paso óptico y se expresa en cm.
 C = concentración de las especies absorbentes (muestra) y se expresa en mol/l

c es numericamente diferente y se denomina con un símbolo diferente cuando l y C tienen otras unidades. Cuando se desconoce el P.M. de la sustancia, el Coeficiente de Extinción molar se expresa así :

$$E_{1\%}^{1 \text{ cm}} = \frac{c \times 10}{\text{Masa molec.}} = \frac{A}{C \cdot l}$$

Donde : $|C| = \text{g}/100\text{ml}$ y $|l| = \text{cm}$

$E_{1\%}^{1 \text{ cm}}$ = Coeficiente de extinción específica.

Para que exista absorción es necesario que la energía del fotón coincida exactamente con la diferencia de energía existente entre el estado fundamental de la especie absorbente y uno de sus niveles energéticos excitados. Estas diferencias de energía son únicas para cada especie y originan espectros característicos que se utilizan frecuentemente para la identificación cualitativa y cuantitativa tanto de sustancias orgánicas como inorgánicas.

La Absorción de energía por moléculas poliatómicas es un proceso mucho más complejo que la absorción atómica ya que el número de los posibles estados excitados de energía es sustancialmente mayor. La energía total de una molécula viene dada por :

$$E_T = E_{\text{electrónica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}}$$

$\xrightarrow{\lambda}$
 $\xleftarrow{\nu}$

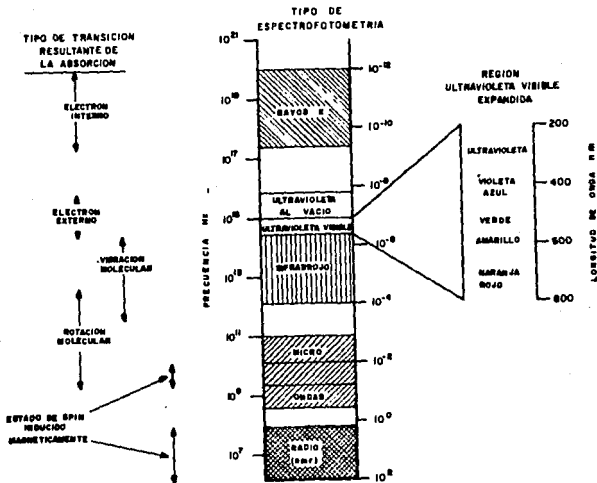
Donde : $E_{\text{electrónica}}$ = Es la energía asociada a los electrones de la molécula, en cuanto a su energía potencial y cinética.

$E_{\text{vibracional}}$ = Es la energía de la molécula debido a las vibraciones interatómicas.

$E_{\text{rotacional}}$ = Es la energía asociada a la rotación de la molécula alrededor de su centro de gravedad

La siguiente gráfica presenta las regiones del espectro electromagnético empleadas en el análisis químico así como las transiciones moleculares y atómicas responsables de la absorción o emisión en cada región:

REGIONES DEL ESPECTRO ANALÍTICAMENTE ÚTILES



ULTRAVIOLETA

La radiación Ultravioleta se encuentra ubicada en el espectro electromagnético entre 100 y 380 nm. La energía correspondiente a esta región es la suficiente para producir transiciones electrónicas desde un orbital molecular, como los π y σ de enlace o de un orbital con electrones libres del nivel energético fundamental denominados "n" hasta un orbital de antienlace (marcados con un asterisco *) con mayor energía, como un σ^* , o un π^* . Estas transiciones se describen así: $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $\sigma \rightarrow \sigma^*$ y corresponden a los siguientes valores de energía:

- $n \rightarrow \sigma^*$ corresponden al UV. lejano, a veces al cercano en el intervalo de 190-213 nm
- $n \rightarrow \pi^*$ corresponden al UV. cercano y al Visible en el intervalo de 277-665 nm
- $\pi \rightarrow \pi^*$ corresponden al UV. cercano en el intervalo de 180-203 nm
- $\sigma \rightarrow \sigma^*$ corresponden al UV. vacío en el intervalo de aprox. 125 nm

La aplicación principal de la Espectroscopia UV. es el análisis cuantitativo de muestras puras y de mezclas utilizando la Ley de Beer-Lambert que relaciona, como ya se dijo antes, la Concentración y la Absorbancia.

Para una mezcla donde los diferentes componentes sean especies absorbentes la absorbancia de cada uno se denota como A_i o su equivalente $\epsilon_i l_i C_i$ donde $i = 1, 2, 3, \dots, n$. La absorbancia total A_T de la mezcla se calcula con la Ley de Aditividad:

$$A_T = A_1 + A_2 + \dots + A_n = \epsilon_1 l_1 C_1 + \epsilon_2 l_2 C_2 + \dots + \epsilon_n l_n C_n$$

Donde desde luego "l" tiene el mismo valor para todos los componentes y es aplicable a cualquier longitud de onda.

Esta regla es aplicable incluso si existe sobreposición de las bandas, aunque no exista una longitud de onda a la cual la Absorbancia se deba a un solo componente.

Para el análisis de mezclas primero se deben determinar los ϵ_i de las sustancias puras.

Se corre el espectro de cada sustancia y se escogen 1 o más λ en las cuales los espectros difieran significativamente y se determinan los ϵ_i para esas longitudes de onda.

Se establecen tantos sistemas de ecuaciones como componentes tenga la mezcla.

INFRARROJO

La región del Infrarrojo está comprendida en el espectro de radiación electromagnética en la zona de $4\ 000$ a $200\ \text{cm}^{-1}$ (2.50 - 50 micras)

La radiación Infrarrojo (IR.) posee suficiente energía para producir transiciones vibracionales y de rotación.

Una molécula a temperatura ordinaria está experimentando las oscilaciones o vibraciones de los átomos que la forman, de manera constante alrededor de sus posiciones de equilibrio, la amplitud de estas oscilaciones es muy pequeña (0.1 a $1.0\ \text{Å}$) y su frecuencia de vibración es elevada de 10^{12} - 10^{14} Hz.

Esta frecuencia es de la misma magnitud que la de la radiación IR., por lo que hay interacción de dicha radiación con las vibraciones atómicas de las moléculas. Así que al irradiar un conjunto de moléculas con radiación IR. de frecuencia apropiada, ocurre una absorción de energía por las moléculas, el registro gráfico de la radiación absorbida o el porcentaje de la radiación transmitida por una muestra, en función de la longitud de onda o del número de onda de la radiación incidente, es lo que se llama un espectro de radiación IR., íntimamente relacionado con las vibraciones moleculares.

La región del espectro en que aparece una absorción de radiación se le llama banda de absorción.

Debido a la diferencia de electronegatividad entre los átomos que forman la molécula, los electrones no están distribuidos simétricamente respecto al centro del enlace, sino que están desplazados hacia el átomo más electronegativo, lo que da lugar a un momento dipolar representado por " μ ", al vibrar la molécula los átomos se separan y se acercan periódicamente. Al variar la distancia del enlace variará la distribución electrónica, y por tanto el momento dipolar de la molécula, entonces la vibración de una molécula va acompañada de un momento dipolar oscilante, que según la teoría electromagnética emitirá radiación electromagnética de la misma frecuencia que la de vibración.

Análogamente una molécula puede absorber energía cuando se

expone a radiación electromagnética cuya frecuencia coincida con la propia vibración, entonces el campo eléctrico oscilante de la radiación hace vibrar el momento eléctrico dipolar de la molécula.

Todas las moléculas diatómicas heteronucleares, tienen un momento dipolar permanente diferente de cero, que oscila periódicamente al vibrar la molécula por lo que pueden absorber radiación electromagnética y dar así lugar a una banda de absorción en el espectro IR., en realidad además de esta banda muy intensa llamada banda fundamental aparecen otras mucho más débiles llamadas armónicas o sobretonos.

La absorción de radiación IR. es tanto mayor cuanto mayor es la variación del momento dipolar de la molécula durante la vibración. Cuando en una molécula existen átomos cuya diferencia de electronegatividad sea mínima o cero (o si el momento dipolar de toda la molécula es cero) como en moléculas homonucleares no se producirá absorción de la radiación electromagnética en la región del IR., aunque si hay vibración, a esto se le llama banda inactiva en IR.

Los modos de vibración, se clasifican tomando en cuenta un plano de simetría (centro de simetría) Las que vibran en el mismo plano (el del enlace) se les llama vibraciones de tensión, que pueden ser de dos tipos : simétricas o asimétricas, de $4\ 000-2\ 000\text{cm}^{-1}$.

Las que vibran cambiando el ángulo de enlace, y por lo tanto cambiando el plano, se les llama vibraciones de flexión, que pueden ser de 4 tipos : tijera; balanceo ; abanico ; y torsión. De $2\ 000-400\ \text{cm}^{-1}$.

Las asignaciones para frecuencias de tensión pueden ser calculadas por la aplicación de la Ley de Hook, de tal manera que se considera a dos átomos enlazados como a un oscilador armónico de 2 masas sujetas por un resorte, estableciendo relaciones entre la frecuencia de oscilación, las masas atómicas, y la constante de fuerza, de las cuales se deriva una ecuación :

$$\nu = \frac{1}{2\pi C} \left[\frac{f}{\frac{M_x M_y}{M_x + M_y}} \right]^{1/2} \dots (1)$$

Donde ν = es la frecuencia vibracional en (cm^{-1})

C = es la constante de la luz (cm/s).

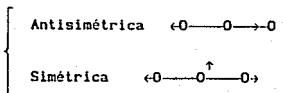
f = es la constante de fuerza del enlace (dinas/cm).

M_x y M_y = son las masas de los átomos x y y respectivamente.

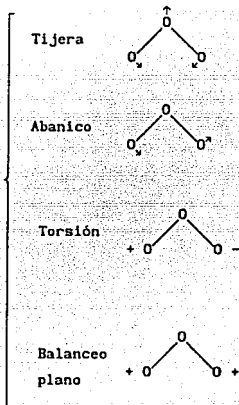
El valor de f es aprox. 5×10^5 dinas/cm para enlaces simples y aprox. 2 o 3 veces este valor par enlaces dobles y triples, respectivamente. La frecuencia de IR. de absorción es usada comunmente para calcular la constante de fuerza de los enlaces. Para aproximar las frecuencias vibracionales de enlace (o tensión) mediante la Ley de Hook, deben ser consideradas las contribuciones relativas de enlaces fuertes y masas atómicas.

A continuación se ilustran los diferentes tipos de vibraciones :

De Tensión



De Flexión o
Deformación



RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

La resonancia magnetica nuclear (R.M.N.) es un método espectrométrico de análisis no destructivo que se basa en la absorción de energía en la zona de la radiofrecuencia por los núcleos de algunos átomos cuando se colocan estos en un campo magnético intenso y de alta homogeneidad.

Para utilizar esta técnica es importante tener en cuenta el espín nuclear (I) y el momento magnético nuclear (μ). Los núcleos de los átomos tienen carga, el espín de los mismos origina un campo magnético característico de cada núcleo, de esta manera, se puede considerar al núcleo como una diminuta barra magnética cuyo eje es el eje del espín.

Los núcleos de todos los isótopos cuyo número de masa y de carga sean pares no tienen espín nuclear, por lo cual no presentan el fenómeno de la R.M.N. Si alguno de estos números es impar, el núcleo tendrá espín nuclear (I) y momento magnético (μ) y en consecuencia presentarán el fenómeno de R.M.N.

El isótopo normal de hidrógeno ^1H tiene un valor de $I = 1/2$, y es el más accesible con estas características por su abundancia, lo que ha permitido el desarrollo de esta técnica.

Cuando un núcleo es puesto en un campo magnético constante la energía del momento magnético nuclear depende de la orientación del núcleo con respecto al campo, por el número de estados de energías cuantizadas (orientaciones) permitidas para un núcleo con espín es: $2I + 1$, están definidos por el número cuántico "m" de acuerdo con el desarrollo de la serie $m = I, (I-1), (I-2), \dots, -I$.

Cada una de las orientaciones que un núcleo puede tomar respecto a la dirección del campo magnético aplicado (H_0), corresponde a una cierta energía potencial, que está definida por

$$E_p = \mu H_0 \cos \theta$$

Esta energía es el producto del momento magnético nuclear (μ), por la intensidad del campo magnético (H_0) y por el coseno del ángulo (θ) que el espín del núcleo forma con la dirección del campo H_0 de donde vemos que I y μ definen los estados del espín y las energías que un núcleo dado tiene en un campo magnético.

H_0 , resultando una pequeña variación del campo magnético experimentado por el núcleo observado, la cual produce un desplazamiento químico en la gráfica del espectro, que a su vez nos permite identificar la cercanía o lejanía de los átomos o grupos atómicos que son capaces de causar estos efectos.

Estos fenómenos o efectos son llamados de protección y desprotección. En presencia de un campo magnético (H_0) se producen corrientes inducidas, que son movimientos electrónicos alrededor de sus núcleos. Son de dos tipos: diamagnético y paramagnético, el primero se opone al campo aplicado H_0 , y el segundo se suma a él, por lo que el primero produce que el campo experimentado sea ligeramente menor que el aplicado, a lo cual se llama protección diamagnética y produce un desplazamiento químico a campos altos, el segundo produce que el campo experimentado sea ligeramente mayor que el aplicado, a lo cual se llama desprotección paramagnética y produce un desplazamiento químico a campos bajos.

Dependiendo de la orientación de la molécula con respecto al campo aplicado se presentan estos fenómenos en forma simultánea en la molécula pero en diferentes átomos, por ejemplo, cuando están presentes en la molécula grupos atrayentes de electrones, debido a átomos más electronegativos que el Carbono y el Hidrógeno, inducen en los átomos de Carbono corrientes diamagnéticas y en los átomos de Hidrógeno (unidos a estos carbonos) corrientes paramagnéticas, el cual es un fenómeno de desprotección para los hidrógenos, por lo que estos resuenan a campos más bajos, entre mayor sea la fuerza de los grupos atrayentes, mayor será el desplazamiento de las señales de los hidrógenos a campos más bajos. En una doble ligadura los electrones π están circulando más libremente en un plano perpendicular a los hidrógenos induciendo en ellos una corriente paramagnética con el mismo efecto antes mencionado pero con menor fuerza que cuando hay cerca grupos más electronegativos.

En el caso de una triple ligadura, en cualquiera de sus dos orientaciones, se encuentran los electrones π girando alrededor de toda la molécula ya que la densidad electrónica es mayor en este tipo de enlace, de tal manera que los hidrógenos quedan incluidos

punto de ebullición bajo (27° C a 1 atm.), y es químicamente inerte.

La separación entre los picos de una señal dada se llama "Constante de Acoplamiento", que se representa por "J" y es independiente del campo H_0 .

La multiplicidad de las señales se dedujo a partir de espectros de moléculas simples, como el etanol, donde las señales se deben a las interacciones espín-espín de los protones no equivalentes; al interactuar unos con otros provocan que la señal de los protones vecinos sea múltiple, o sea que presente varios picos para una misma señal, la proporción entre los picos de una misma señal depende del número de posibles orientaciones que puedan tener los protones, los ejemplos más sencillos están dados por el triángulo de Pascal. Por ejemplo los tres protones de un metilo provocan que la señal de los dos protones de un etilo vecino, se divida en cuatro picos, que a su vez provocan que la señal de los protones del metilo se divida en tres picos, al desarrollar la técnica, estas observaciones les llevaron a concluir una regla para el cálculo de la multiplicidad de las señales :

El acoplamiento de "n" protones equivalentes conduce a una multiplicidad con "n + 1" líneas o picos.

Ejemplo : La multiplicidad de una señal de dos protones vecinos a tres protones es $= 3 + 1 = 4$ picos.

La multiplicidad de una señal de tres protones vecinos a dos protones es $= 2 + 1 = 3$ picos.

La intensidad de las señales siguen el triángulo de Pascal y el área bajo la señal es proporcional al número de hidrógenos que la representarán. Esta cualidad, a la que se llama Integración del Espectro hace que la R.M.N. sea útil también en aspectos cuantitativos en el Análisis de mezclas.

CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LAS SOLUCIONES OFTÁLMICAS

Por definición oficial las soluciones oftálmicas son soluciones estériles que están formuladas y envasadas para instilación dentro del ojo.

En su acepción más generalizada, se da el nombre de colirio a aquellas soluciones que en un medio acuoso contienen uno o más principios activos y cuya finalidad es la aplicación tópica en los ojos en forma de gotas.

El colirio se instila en el ojo con el fin de producir un efecto anestésico, antiinfeccioso, antiinflamatorio, miótico, midriático, ciclopléjico, etc.

Los primeros registros del uso de colirios en la historia datan de alrededor de 3 100 A.C. Al principio se le llamaba colirio a todo material solubilizado en agua, leche o clara de huevo, para usarse como gotas oculares.

Las soluciones oftálmicas son por mucho, el método más común para administrar un fármaco en el ojo, aún siendo el menos preciso es uno de los más aceptados.

Las formulaciones de las soluciones oftálmicas son simples, además del principio activo contienen sales para amortiguar el pH y los derivados celulósicos para aumentar la viscosidad, pero no siempre contienen a estos últimos. Debido a las características físicas del agua, las soluciones acuosas son las más empleadas, el agua debe ser estéril, destilada y libre de partículas extrañas.

Los agentes viscosos se usan para prolongar el tiempo de contacto en el ojo y acrecentar así la absorción y actividad de los fármacos, ejemplos de estos agentes son metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, alcohol polivinílico, etc. La solución estéril suele contener un conservador antimicrobiano, para evitar la contaminación.

Se considera que una solución oftálmica es isotónica cuando su tonicidad es igual a la de una solución de NaCl al 0.9 % .

Muchos fármacos de uso oftálmico son bases débiles que se aplican en el ojo como soluciones acuosas de sus sales. La base

libre y la sal están en un equilibrio que depende del pH y de las características del compuesto. Para contribuir a mantener la estabilidad y la solubilidad durante el almacenamiento, la medicación puede ser ácida en el momento de la instilación, pero por la acción neutralizante del líquido lagrimal se alcanza el intervalo de pH fisiológico aproximadamente 7.4 .

Los principios activos o fármacos actúan principalmente sobre el iris, el cuerpo ciliar y el humor acuoso, aunque primero deben penetrar la córnea.

El principio activo instilado está sujeto a fijación proteica en el líquido lagrimal y a su degradación metabólica por la lisozima.

Los investigadores han concluido que lo ideal es obtener una alta concentración de fármaco con una gota de volumen mínimo, para que la biodisponibilidad del principio activo sea mayor y por tanto su acción curativa.

PARTE EXPERIMENTAL

I.-DATOS GENERALES DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS.

II.-DETERMINACION POR ESPECTROSCOPIA UV. DE λ MAXIMA DE ABSORCION Y DEL COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD MOLAR ϵ .

III.-DETERMINACION DE LOS ESPECTROS DE IR. DE CADA MUESTRA Y SU INTERPRETACION.

IV.-DETERMINACION DE LOS ESPECTROS DE R.M.N. DE CADA MUESTRA Y SU INTERPRETACION.

Las muestras fueron donadas por el Laboratorio Central de la Secretaría de Hacienda y Crédito Público.

Para la obtención de estos espectros se utilizaron muestras químicamente puras, comparando su pureza por su punto de fusión, la cual se confirmó al obtener sus espectros, iguales a los publicados. Los puntos de fusión fueron determinados en un equipo Fisher, con un termómetro previamente calibrado con sustancias de referencia utilizadas para este fin.

La instrumentación y condiciones empleadas para la realización de los espectros son las siguientes :

ULTRAVIOLETA

Un espectrofotómetro UV.-Vis. Varian-Techtron Mod. 635

Un graficador Varian-Techtron.

Celdas de cuarzo de 1 cm de longitud.

Disolvente : Agua.

Blanco : Agua.

INFRARROJO

Un espectrofotómetro I.R. Perkin Elmer Mod. 599-B.

Condiciones :

Barrido de $4\ 000\ \text{cm}^{-1}$ a $200\ \text{cm}^{-1}$.

Lectura en absorción.

Incorporando la muestra en pastilla de KBr para realizar el espectro en forma sólida.

RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

Espectrómetro de R.M.N. protónica de 90 MHz. Varian EM-390.

Condiciones :

Barrido de 0-10 ppm.

Referencia : DSS. o TMS. en 0 ppm.

Radiofrecuencia de 0.1 mG.

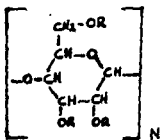
Se utilizó D_2O para eliminar el protón del hidroxilo.

Disolvente : CDCl_3 , D_2O ó CCl_4 .

I.-DATOS GENERALES DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

Clave Fórmula Nombre y propiedades químicas

01



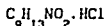
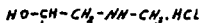
Metilcelulosa

P.M. indeterminado debido a que es un polímero.

Soluble en agua.

R = H, CH₃

02



Clorhidrato de Fenilefrina

P.M. = 203.67

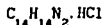
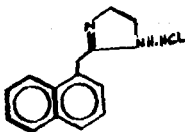
P.f. Teo. = 140-145°

P.f. Exp. = 139.5-141.5°

λ_{máx.} = 217.5, 273 nm

Soluble en agua y etanol.

03



Clorhidrato de Nafazolina

P.M. = 246.74

P.f. Teo. = 255-260°

P.f. Exp. = 253-255° con dec a 257°

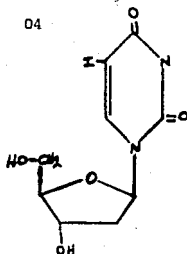
λ_{máx.} = 280 nm

Soluble en agua, etanol, poco soluble en Cloroformo, Metanol, Benceno.

Clave Formula

Nombre

04



Idoxuridina

P.M. = 354.12

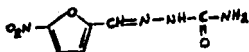
P.f. Teo. = 190-195°

P.f. Exp. = 192-194°

$\lambda_{m\acute{a}x.}$ = 213.2, 288 nm

Soluble en agua, etanol, metanol, acetona; sols. ácidas o alcalinas; poco soluble en éter.

05



Nitrofurazona

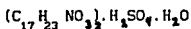
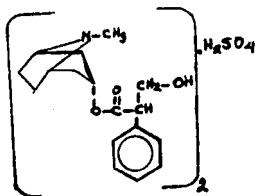
P.M. = 198.14

P.f. Exp. = 232-236°

$\lambda_{m\acute{a}x.}$ = 260, 375 nm

Soluble en etanol, propilenglicol, DMS; poco soluble en agua.

06



Sulfato de Atropina

P.M. = 694.82

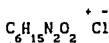
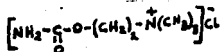
P.f. Teo. = 190-194°

P.f. Exp. = 192-196°

$\lambda_{m\acute{a}x.}$ = 210 nm

Soluble en agua, etanol calientes; cloroformo, benceno, DMS; sols. ácidas diluidas; poco soluble en éter. MUY TOXICO.

07

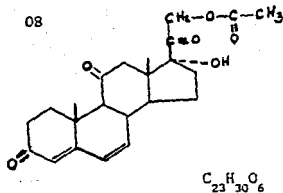


Carbacol

P.f. muy diferente al esperado se concluye que está impuro, aún después de recrystalizar, su espectro de IR. determinó que no era carbacol.

Clave Formula

Nombre



Acetato de Cortisona

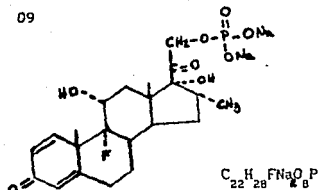
P.M. = 402.46

P.f. Teo. = 235-238°

P.f. Exp. = 239.9-241.5° f c/dec.

$\lambda_{\text{máx.}}$ = 238 nm

Soluble en cloroformo, poco soluble en benceno, casi insol. en agua.



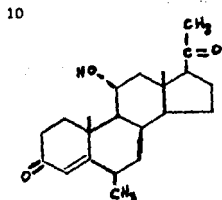
21-Fosfato de Dexametasona disódica.

P.M. = 516.45

P.f. Teo. = 233-235°

P.f. Exp. = 231-233° f c/dec.

$\lambda_{\text{máx.}}$ = 241 nm



Medrisona

P.M. = 344.48

P.f. Teo. = 155-158°

P.f. Exp. = 152-154°

$\lambda_{\text{máx.}}$ = 242 nm

**II.-DETERMINACION DE LOS COEFICIENTES DE EXTINCION ϵ
Y $\lambda_{\text{máx.}}$ EN SOLUCION ACUOSA DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS**

Se prepararon soluciones a diferentes concentraciones, de los principios activos puros usando agua como disolvente, se midió su absorbancia en el espectrofotómetro UV.-Vis., fijando el cero de absorbancia experimentalmente. Se graficaron los datos y a continuación se presentan las gráficas correspondientes.

En el caso de la Nitrofurazona se utilizó como disolvente etanol ya que es poco soluble en agua. Los siguientes datos tienen un nivel de significancia del 95%

**DATOS PARA LAS GRAFICAS Y CALCULOS DE REGRESION LINEAL
DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS Puros**

Clave 02	02		03		
C_M (mol/l)	$A_{217.5\text{nm}}$	C_M	$A_{273\text{nm}}$	C_M	$A_{280\text{nm}}$
1.30×10^{-4}	0.67	5.9×10^{-4}	0.88	13.0×10^{-5}	1.36
1.10×10^{-4}	0.57	5.3×10^{-4}	0.77	11.0×10^{-5}	1.06
0.90×10^{-4}	0.47	4.7×10^{-4}	0.66	7.9×10^{-5}	0.77
0.0	0.0	4.1×10^{-4}	0.60	6.6×10^{-5}	0.65
		3.5×10^{-4}	0.53	5.3×10^{-5}	0.53
		2.9×10^{-4}	0.44	4.2×10^{-5}	0.42
		0.0	0.0	2.6×10^{-5}	0.28
				0.0	0.0
 n=5		 n=7		 n=8	
b=0.0097 \pm 0.088		b=0.005 \pm 0.031		b=-0.004 \pm 0.066	
log m=3.7 \pm 2.62		log m=3.16 \pm 1.87		log m=4.0 \pm 2.73	
r=0.998		r=0.998		r=0.998	

Clave 04

C_N	$A_{213.5nm}$
1.0×10^{-4}	0.97
0.9×10^{-4}	0.83
0.7×10^{-4}	0.68
0.6×10^{-4}	0.61
0.4×10^{-4}	0.56
0.0	0.0

n=6

b=0.07 ± 0.14

log m=3.95 ± 3.3

r=0.978

04

C_N	A_{288nm}
1.6×10^{-4}	1.11
1.4×10^{-4}	0.93
1.2×10^{-4}	0.78
0.9×10^{-4}	0.67
0.7×10^{-4}	0.60
0.0	0.0

n=6

b=0.048 ± 0.117

log m=3.82 ± 3.0

r=0.989

05

C_N	A_{375nm}
4.8×10^{-5}	0.77
4.2×10^{-5}	0.68
3.6×10^{-5}	0.60
2.4×10^{-5}	0.38
0.0	0.0

n=5

b=0.0003 ± 0.025

log m=4.21 ± 2.86

r=0.999

Clave 05

C_N	A_{375nm}
4.8×10^{-5}	1.03
4.2×10^{-5}	0.92
3.6×10^{-5}	0.76
2.4×10^{-5}	0.50
0.0	0.0

n=5

b=0.007 ± 0.032

log m=4.34 ± 2.97

r=0.999

06

C_N	A_{210nm}
6.2×10^5	0.80
4.4×10^{-5}	0.63
3.7×10^5	0.57
3.1×10^{-5}	0.50
2.5×10^5	0.42
1.9×10^{-5}	0.33
0.0	0.0

n=7

b=0.066 ± 0.073

log m=4.11 ± 3.3

r=0.985

08

C_N	A_{238nm}
4.0×10^{-5}	0.75
3.6×10^{-5}	0.70
3.2×10^{-5}	0.63
2.8×10^{-5}	0.56
0.0	0.0

n=5

b=0.007 ± 0.041

log m=4.28 ± 3.13

r=0.999

Clave 09

C_N	A_{241nm}
6.5×10^{-5}	0.89
5.6×10^{-5}	0.77

10

C_N	A_{242nm}
8.5×10^5	1.50
7.3×10^{-5}	1.33

4.6×10^{-5}	0.63	6.1×10^5	1.13
3.7×10^{-5}	0.55	4.9×10^{-5}	0.86
2.8×10^{-5}	0.41	3.7×10^5	0.65
0.0	0.0	0.0	0.0

n=6	n=6
$b=0.017 \pm 0.037$	$b=-0.002 \pm 0.049$
$\log m=4.13 \pm 2.9$	$\log m=4.26 \pm 2.9$
r=0.998	r=0.999

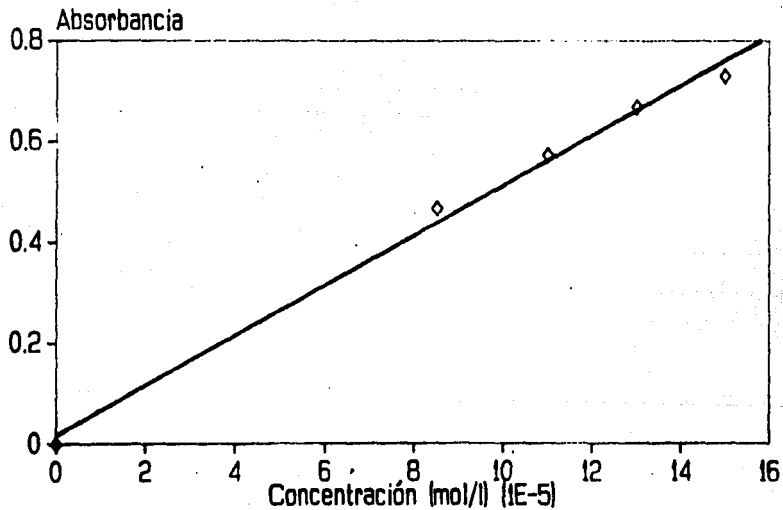
Las gráficas que se obtienen son una recta, se calculó la regresión lineal de cada una, se obtiene la pendiente que nos da el valor del coeficiente de absortividad c , la ordenada al origen, que como ya se dijo vale cero a concentración cero y el valor del coeficiente de correlación R (*) que nos indica qué tan cerca está nuestra gráfica de ser una recta. En la siguiente tabla se presentan los valores de c y el valor del coeficiente de correlación R de la regresión lineal.

Tabla 1. Valores de c y de R .

Clave	Nombre	λ_{nm}	$\log c$	r
02	Clorhidrato de Feniefrina	217.5	3.697	0.998
02	" " "	273	3.163	0.998
03	Clorhidrato de Nafazolina	280	4.0	0.998
04	Idoxuridina	213.5	3.95	0.978
04	"	288	3.815	0.985
05	Nitrofurazona	260	4.21	0.999
05	"	375	4.335	0.999
06	Sulfato de Atropina	210	4.11	0.985
08	Acetato de Cortisona	238	4.28	0.999
09	21-Fosfato de Dexametasona			
	disódica	241	4.133	0.998
10	Medrisona	242	4.255	0.999
01	Metilcelulosa (no se determina lo anterior)			

PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

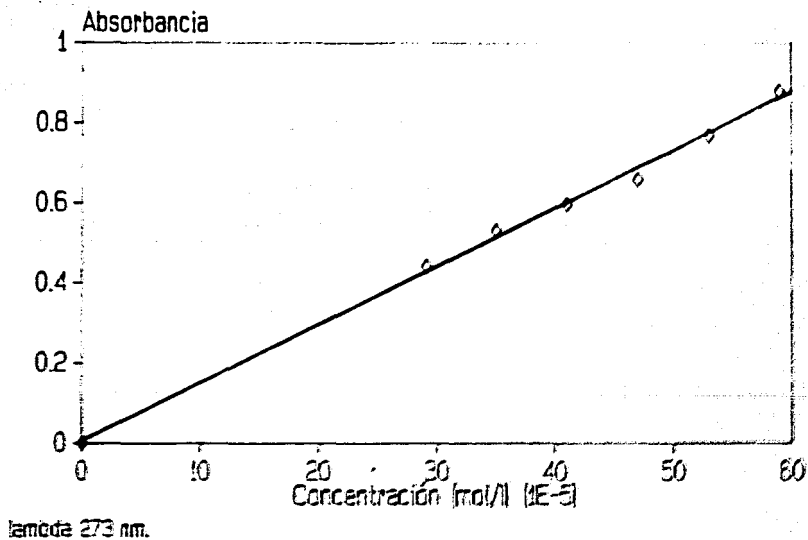
Clorhidrato de Fenilefrina



lambda 217.5 nm

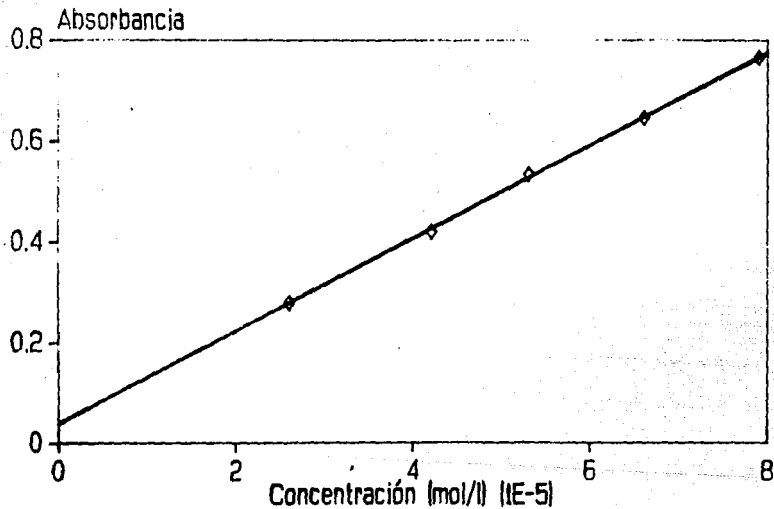
PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

Clorhidrato de Fenilefrina



PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

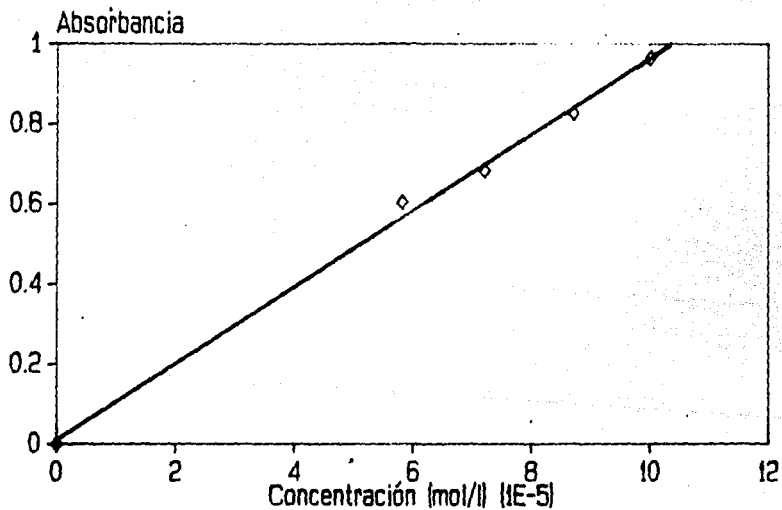
Clorhidrato de Nafazolina



lambda 280 nm.

PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

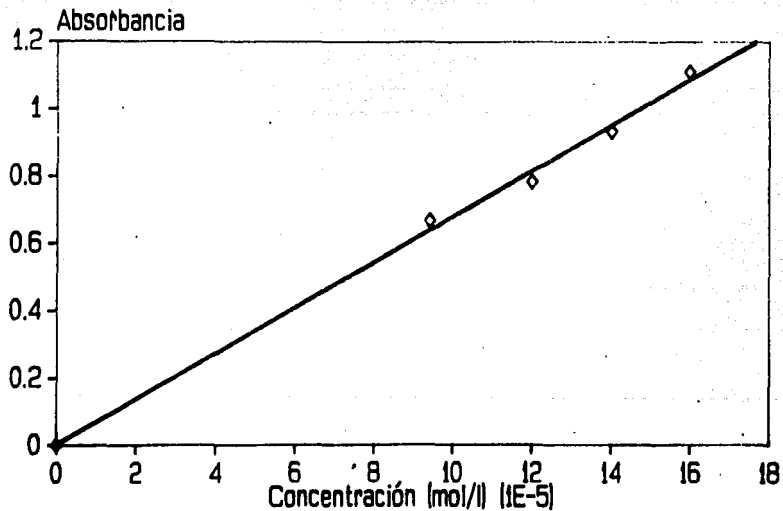
Idoxuridina



lambda 213.5 nm.

PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

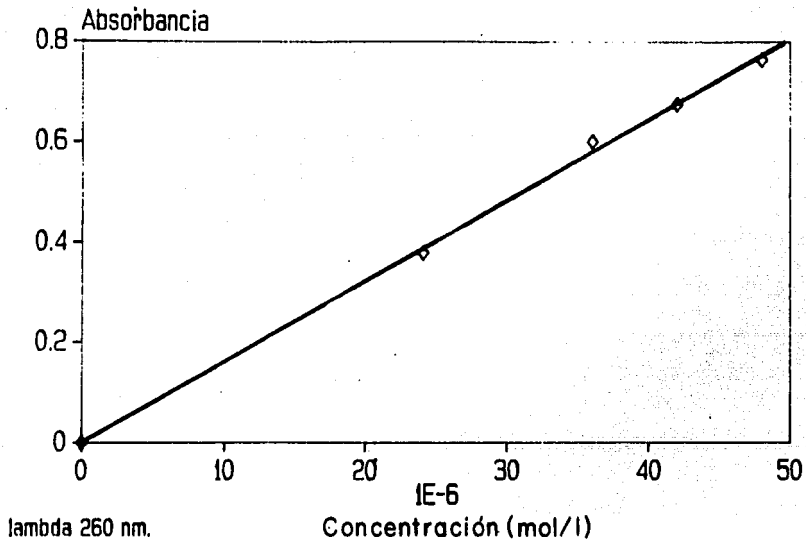
Idoxuridina



lambda 288 nm.

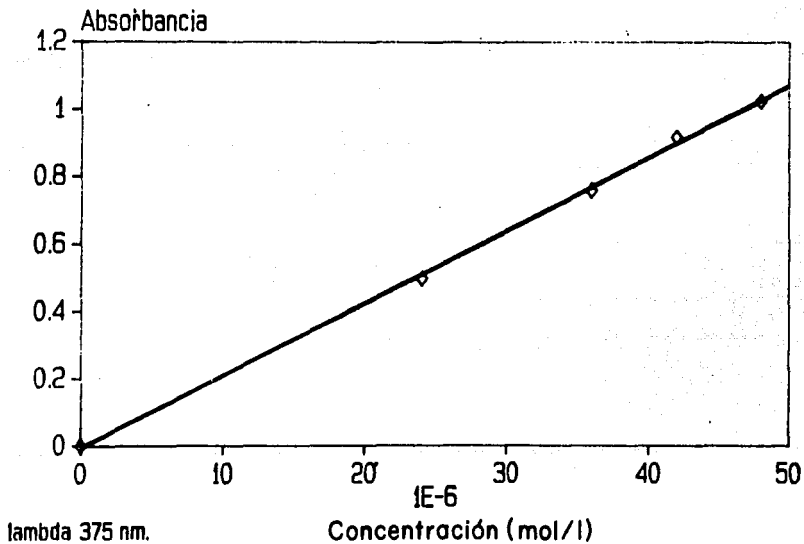
PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

Nitrofurazona



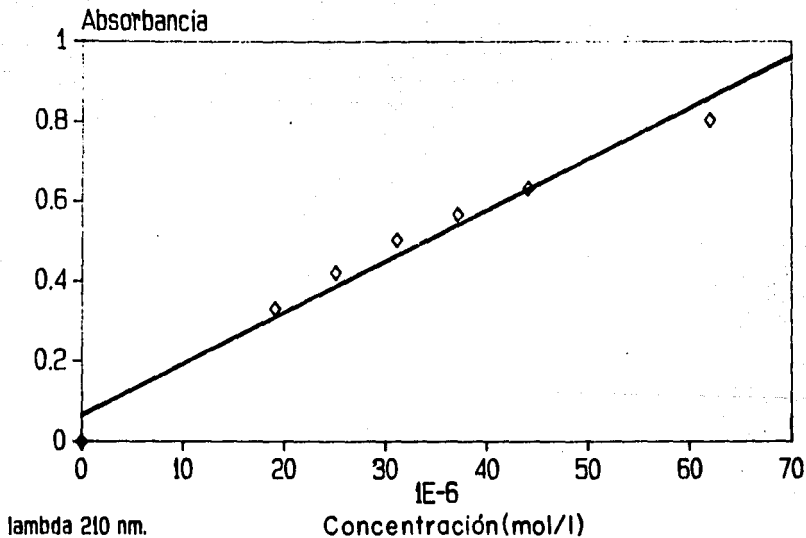
PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

Nitrofurazona



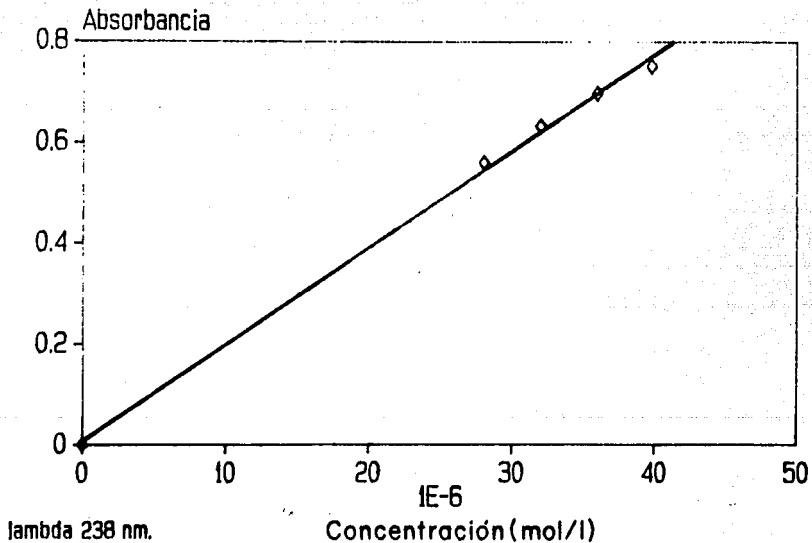
PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

Sulfato de atropina



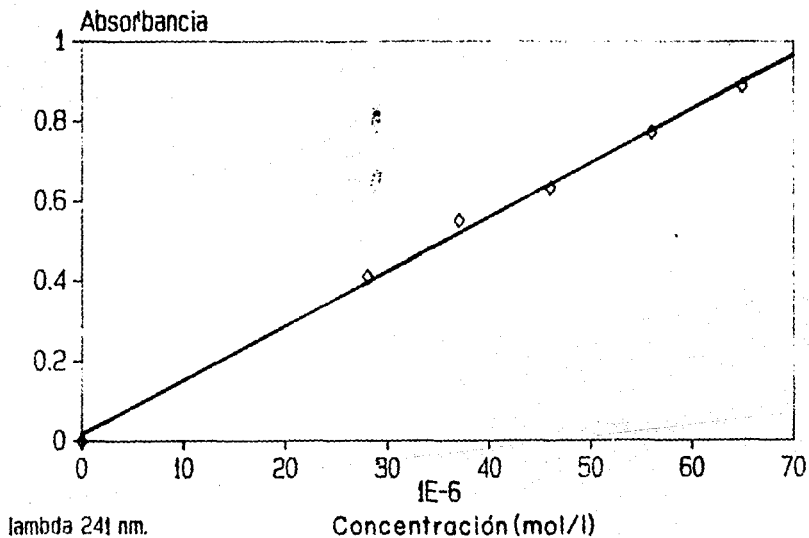
PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

Acetato de Cortisona



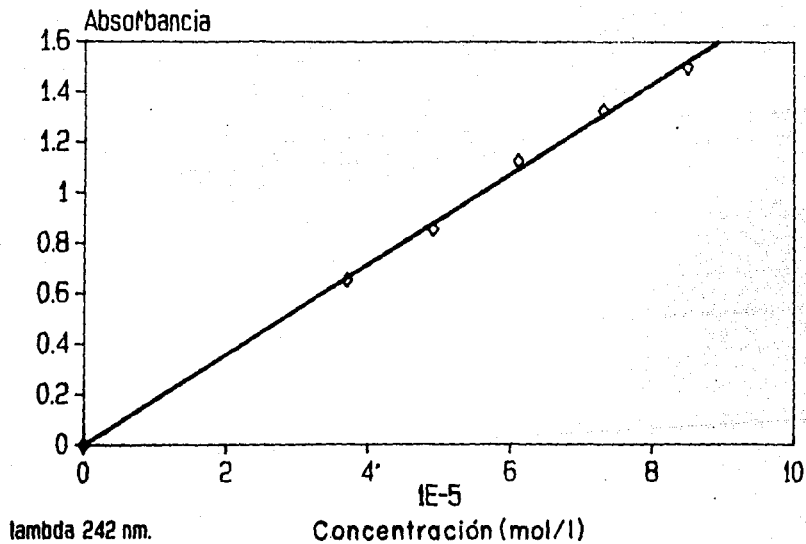
PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

21-Fosfato de Dexametasona disódica



PRINCIPIOS ACTIVOS PUROS

Medrisona

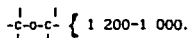
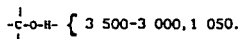


III.-DETERMINACION DE LOS ESPECTROS DE IR.
DE CADA MUESTRA Y SU INTERPRETACION.

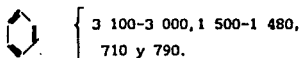
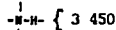
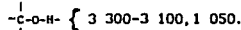
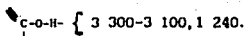
ASIGNACION DE SEÑALES DE LOS ESPECTROS DE IR

Clave y Nombre Identificación de Bandas por Grupos Funcionales

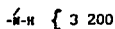
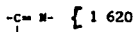
01-Metilcelulosa $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$; $-\text{CH}-$ { 2 800-3 000, 1 450, 1380.



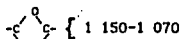
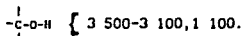
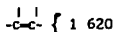
02-Clorhidrato de Fenilefrina $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$; $-\text{CH}-$ { 2 800-3 000, 1 420, 1 380.

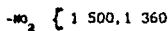
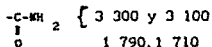
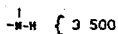
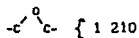
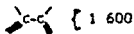
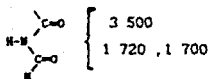


03-Clorhidrato de Nafazolina $-\text{CH}_2-$ { 2 800-3 000, 1 420.

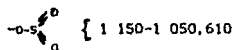
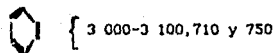
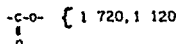
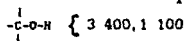
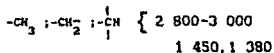


04-Idoxuridina $-\text{CH}_2-$ { 2 800-3 000

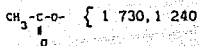
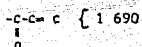
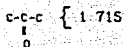
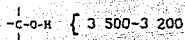
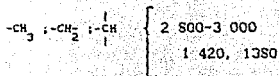




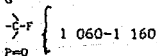
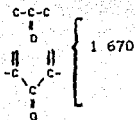
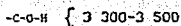
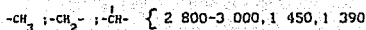
06-Sulfato de
Atropina



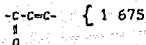
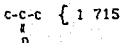
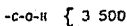
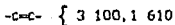
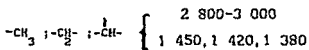
08-Acetato de
Cortisona

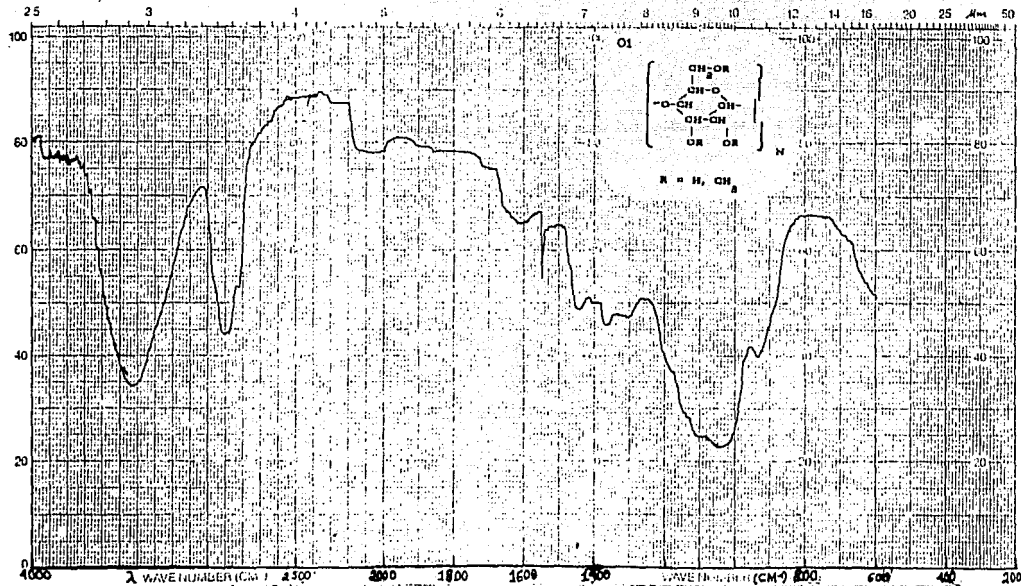


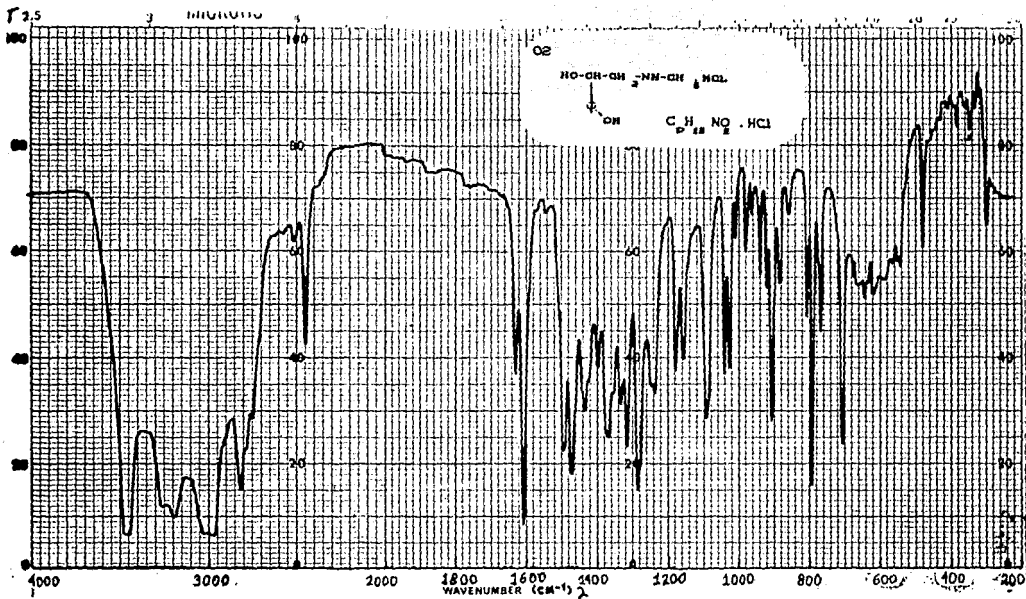
09-21 Fosfato de
Dexametasona
disódica

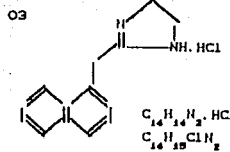
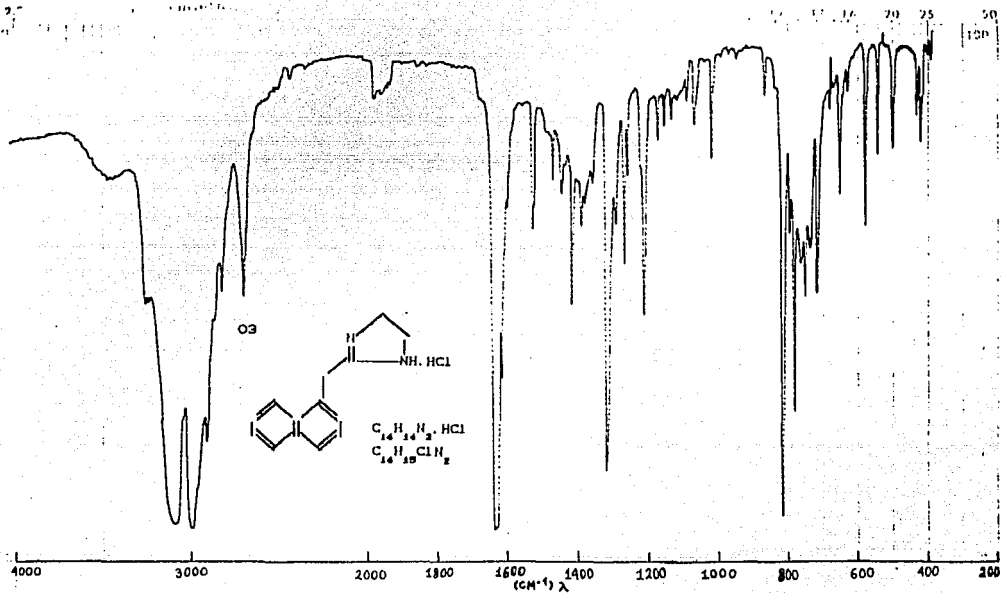


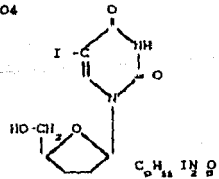
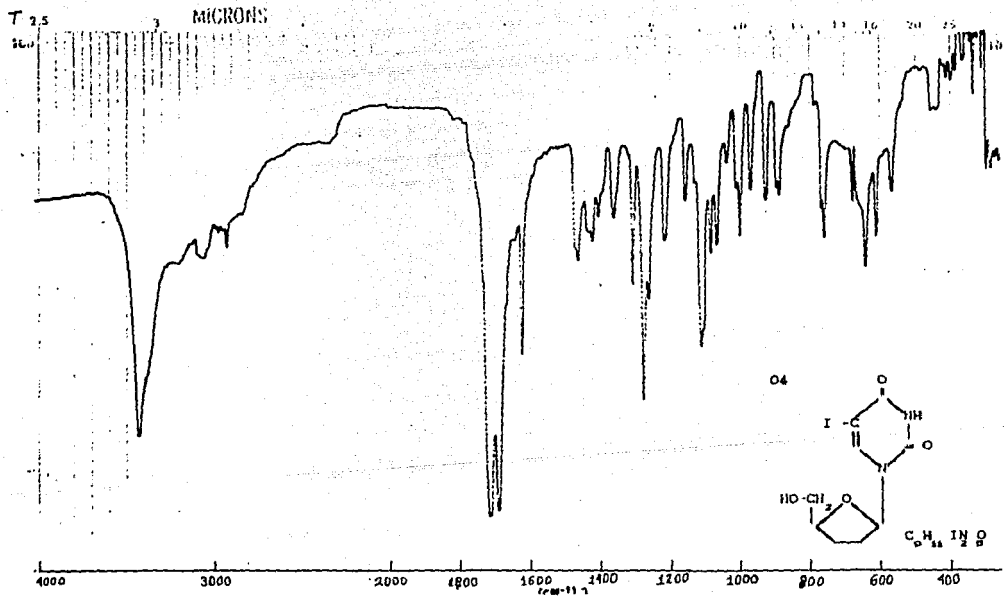
10-Medrisona

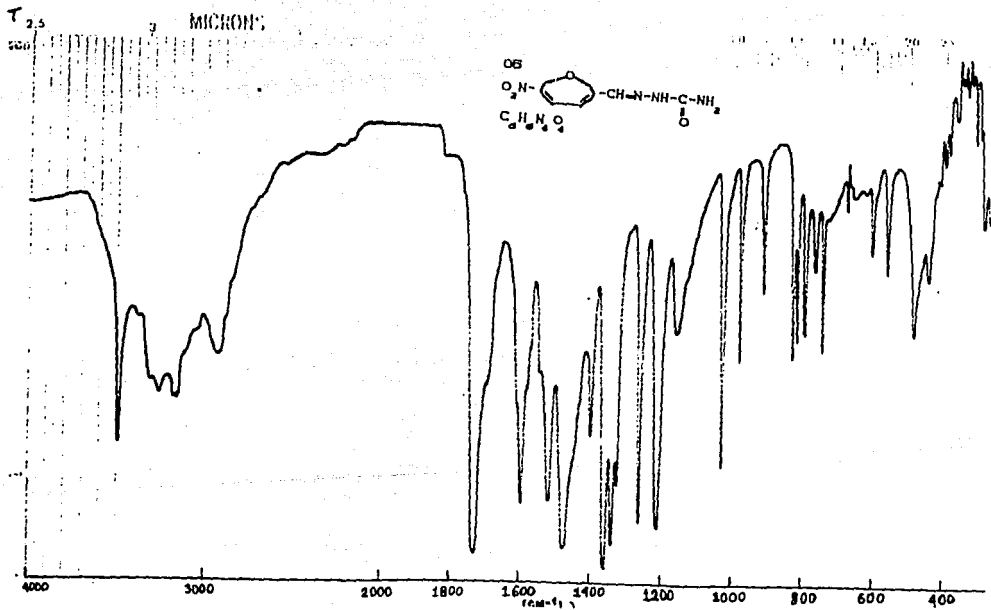






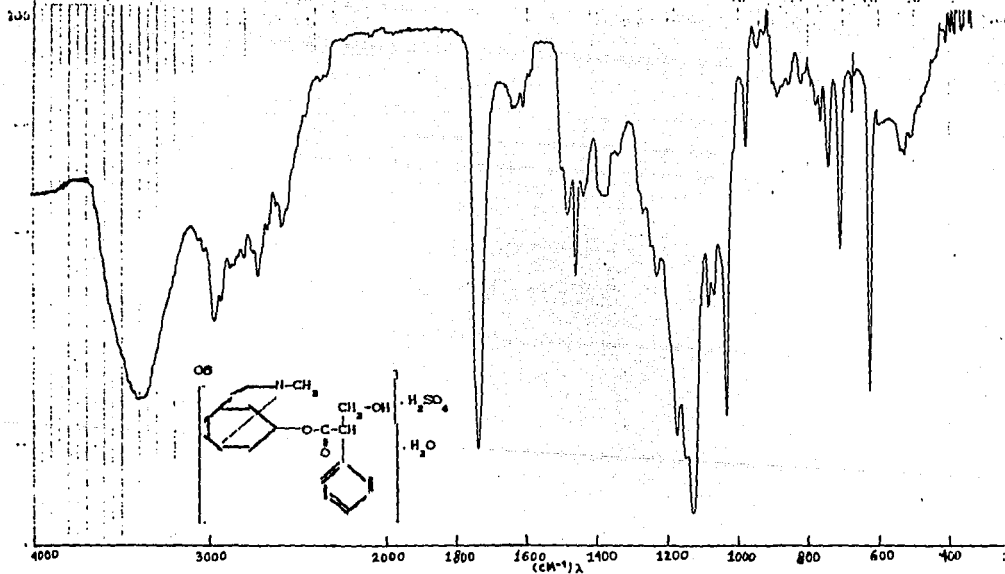


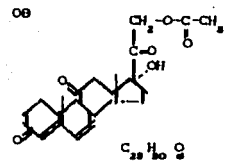
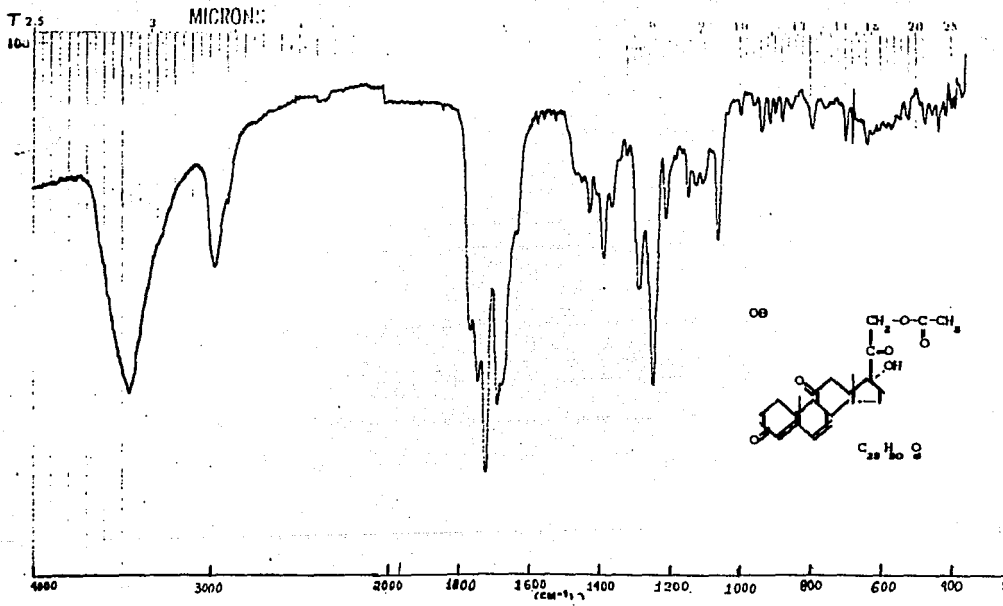


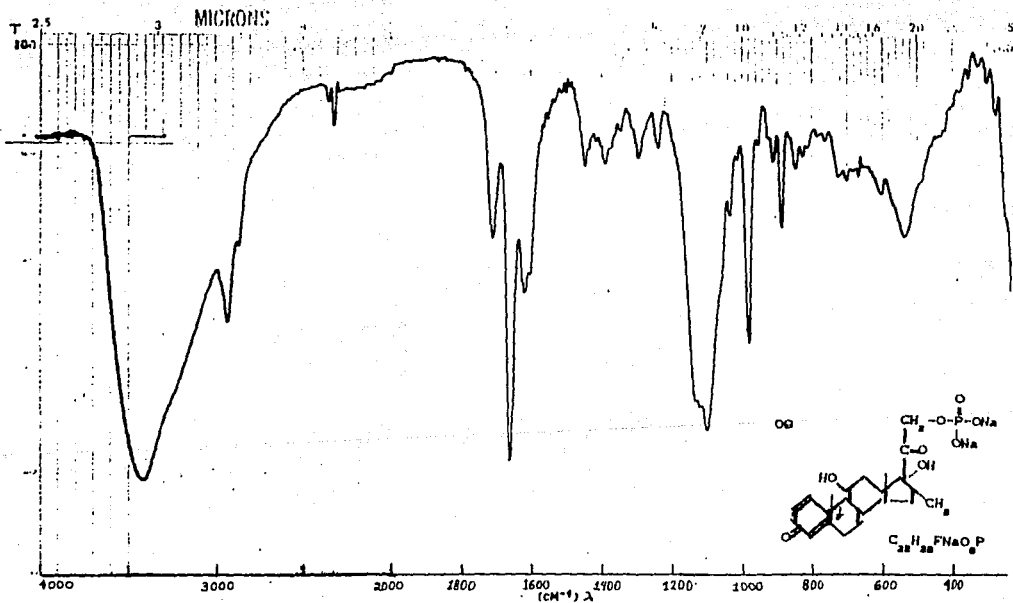


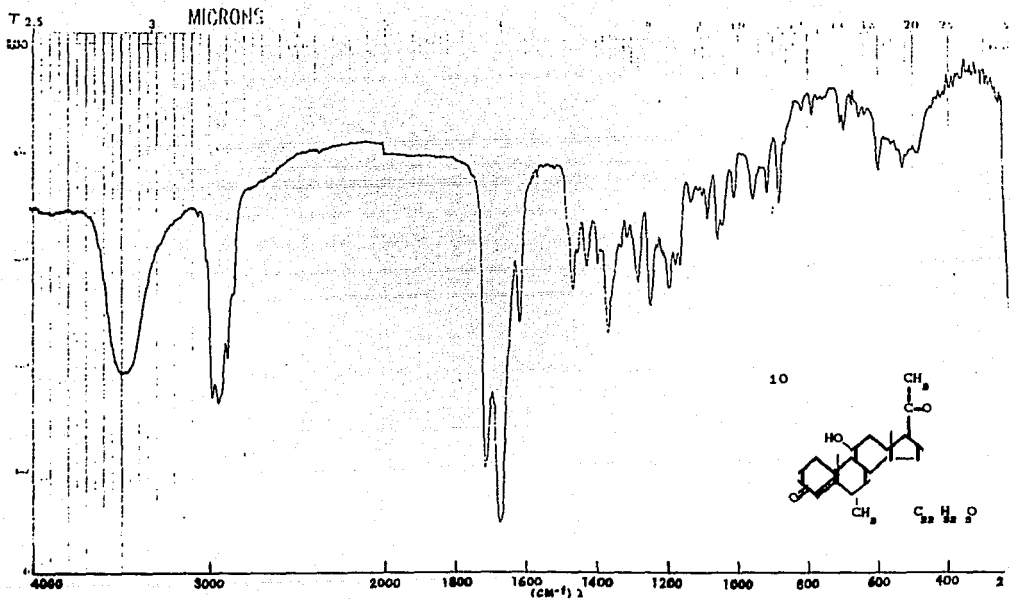
T_{2.5}

MICRON:









IV. -DETERMINACION DE LOS ESPECTROS DE R.M.N.
DE CADA MUESTRA Y SU INTERPRETACION.

ASIGNACION DE SEÑALES DE LOS ESPECTROS DE R.M.N.

En los casos en que es posible se realiza la asignación de señales utilizando letras de correspondencia para señalar la banda que corresponde a un hidrógeno determinado de la fórmula.

01-Metilcelulosa, en D_2O y DSS.

02-Clorhidrato de Fenilefrina, en D_2O .

a = 2.7 ppm	d = **	g = 7.7ppm	j = *
b = *	e = 4.6ppm	h = *	k = *
c = 3.2ppm	f = *	i = *	$H_2O = 4.6ppm$

* = 6.5-7.5ppm

** = incluido en la señal del agua

03-Clorhidrato de Nafazolina, en $CDCl_3$.

a = 7.3-8.1 ppm b = 4.3 ppm c = 10.4 ppm

04-Idoxuridina, en DMSO.

a = 8.3 ppm b = 6.0 ppm c = 2.1 ppm d = 5.0 ppm
e = 4.2 ppm f = 3.3-3.8 ppm g = 16.5 ppm

05-Nitrofurazona, en DMSO.

a = 7.2 ppm a' = 7.7 ppm b = 7.8 ppm c = 6.5 ppm
d = 10.5ppm $H_2O = 3.3 ppm$ DMSO = 2.5 ppm

06-Sulfato de Atropina, en CDCl_3 , DMS.

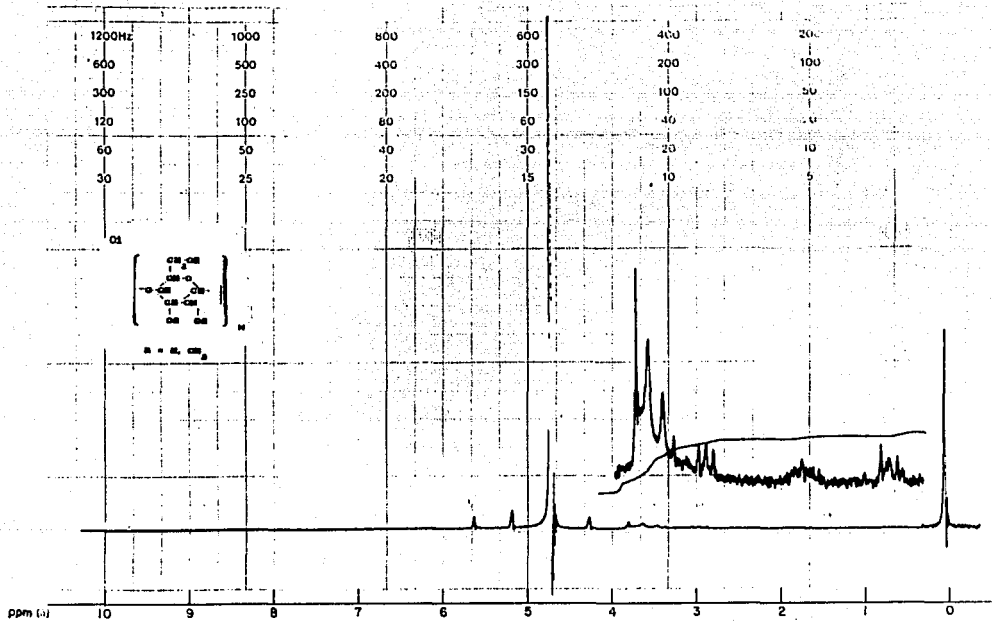
a = 1.2-2.3 ppm b = 2.15 ppm c = 3.0 ppm
d = 3.6-4.3 ppm e = 5.0 ppm f = 7.3 ppm
 H_2O = 3.3 ppm DMSO = 2.6 ppm

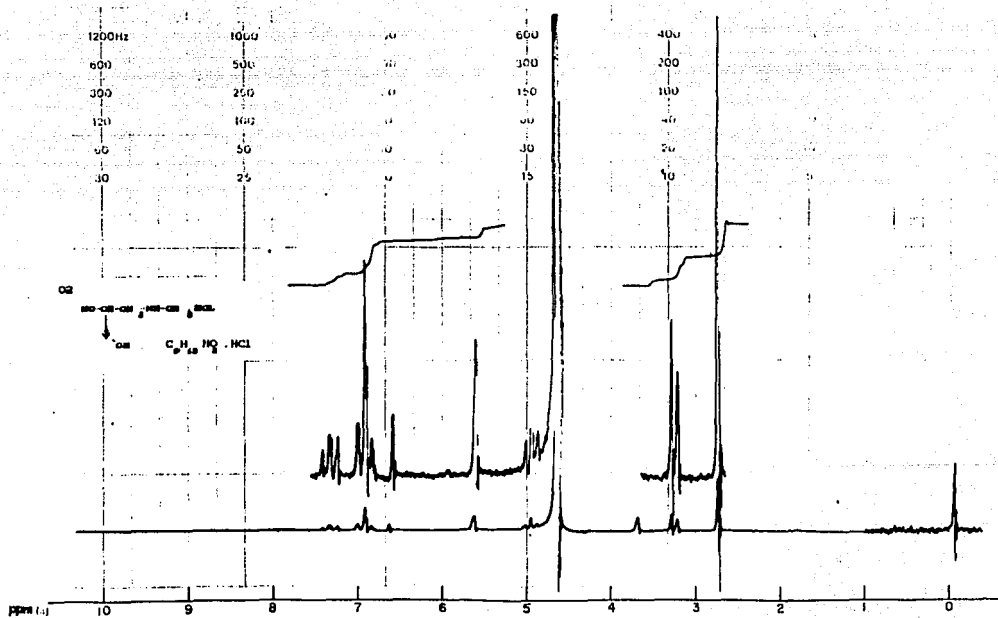
08-Acetato de Cortisona, en CDCl_3 .

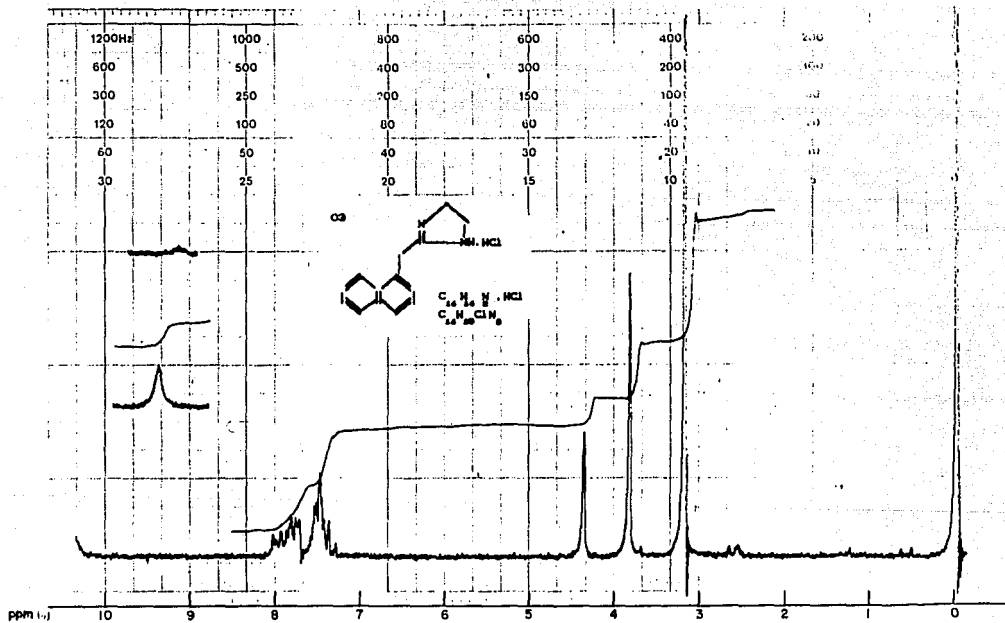
a = 2.1 ppm b = 4.4-5.2 ppm c = 5.6 ppm d = 0.6 ppm
e = 1.3 ppm f = 3.2 ppm

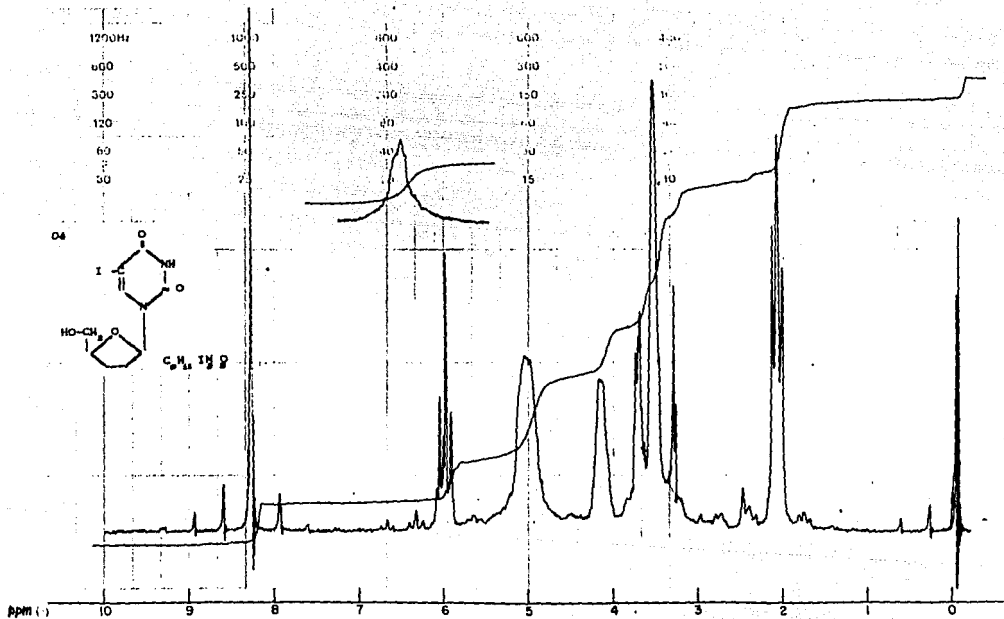
10-Medrisona, en DMSO, TMS.

a = 2.2 ppm b = 0.9 ppm c = 1.45 ppm d = 1.1 ppm
e = 5.6 ppm f = 4.45 ppm DMSO = 3.4 ppm

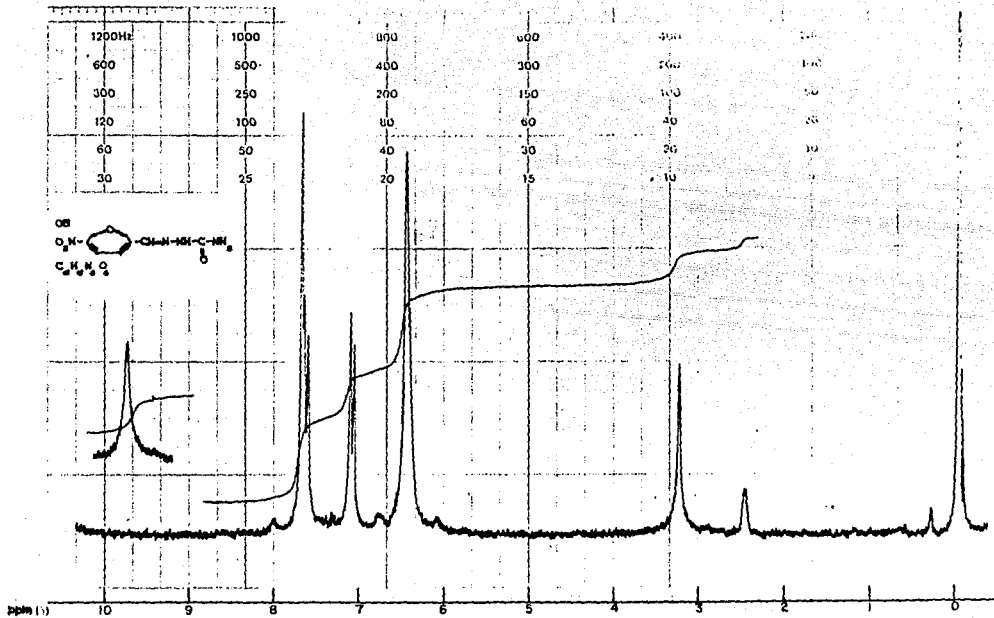
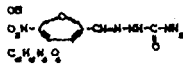








1200Hz	1000
600	500
300	250
120	100
60	50
30	25



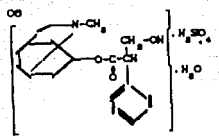
1200Hz
600
300
120
60
30

100.0
50.0
25.0
10.0
5.0
2.5

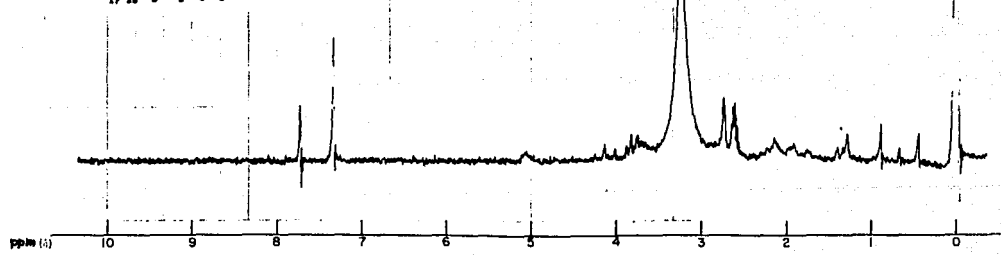
20.0
10.0
5.0
2.5

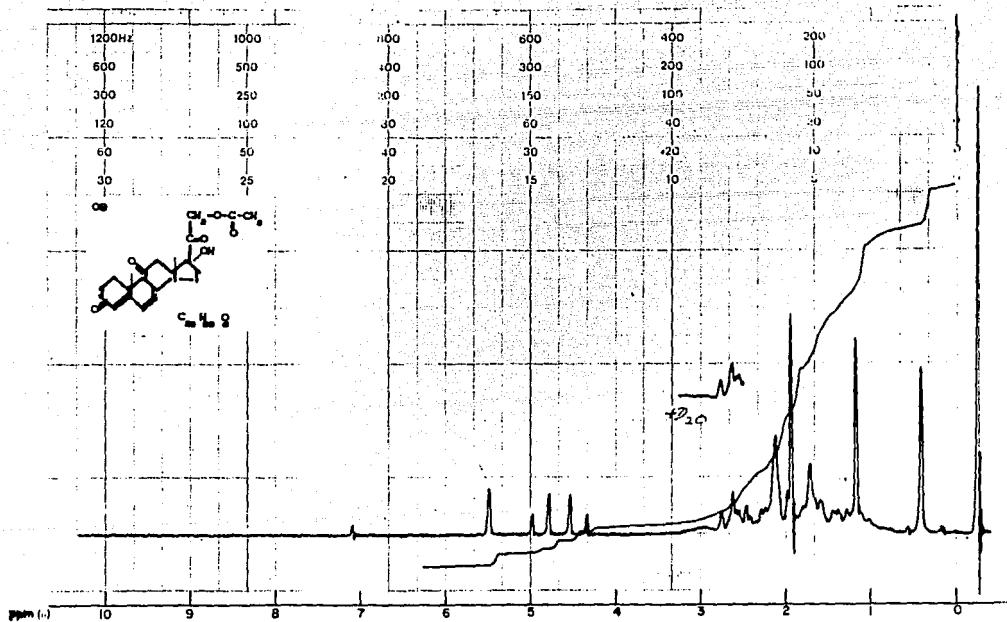
10.0
5.0
2.5

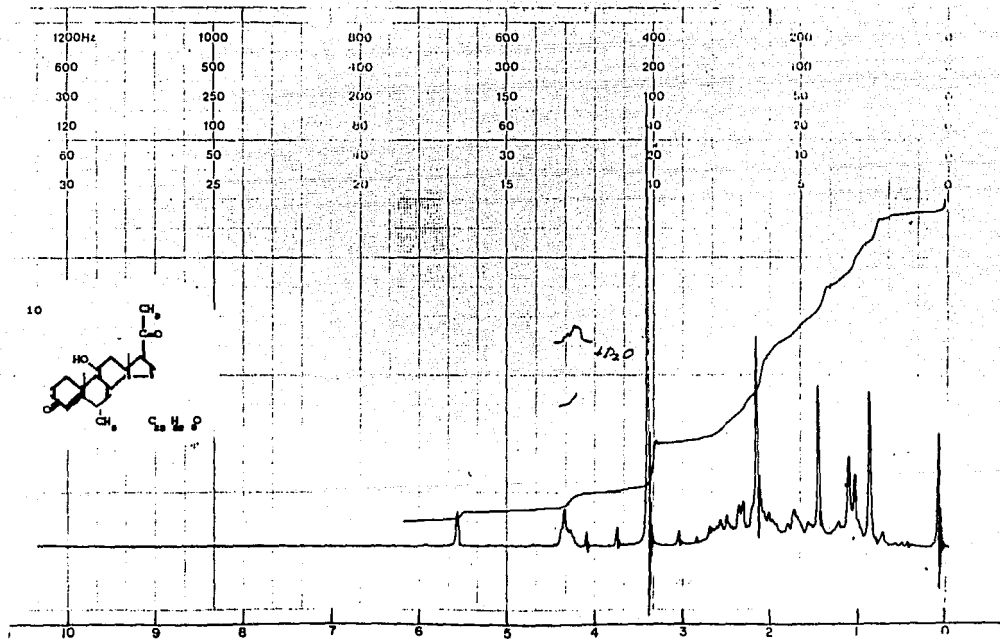
10.0
5.0
2.5



$\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{NO}_3 \cdot n \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$







APLICACION CUANTITATIVA DE ESPECTROSCOPIA UV

- 3.1 DETERMINACION DEL EFECTO DE LA METILCELULOSA EN LA ABSORBANCIA DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS.
- 3.2 DETERMINACION DE LA PENDIENTE DE LAS CURVAS ESTANDAR DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS CON METILCELULOSA.
- 3.3 DETERMINACION DE LA PENDIENTE DE LAS CURVAS ESTANDAR DE DOS PRINCIPIOS ACTIVOS.
- 3.4 DETERMINACION POR ESPECTROSCOPIA UV. DE LA CONCENTRACION DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS EN MEDICAMENTOS OFTÁLMICOS COMERCIALES.
- 3.5 TABLA DE CONCENTRACION DE PRINCIPIOS ACTIVOS EN LOS MEDICAMENTOS OFTÁLMICOS COMERCIALES (MARBETE).

3.1 DETERMINACION DEL EFECTO DE LA METILCELULOSA EN LA ABSORBANCIA DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS

Existen en el mercado muchos medicamentos oftálmicos en que el principio activo se encuentra mezclado con metilcelulosa, como se pretende hacer la determinación del principio activo directamente del medicamento es importante conocer el efecto que puede tener la metilcelulosa en la absorbancia de los principios activos. Para esto se prepararon soluciones acuosas manteniendo la concentración del principio activo constante y variando la concentración de la metilcelulosa, de acuerdo con la especificación de los marbetes*. Se midió la absorbancia con el espectrofotómetro de UV.-Vis. y se graficaron los datos.

A continuación se presentan las gráficas que contienen los datos obtenidos.

De las gráficas se concluye que la metilcelulosa no afecta la absorbancia de los principios activos, a excepción de la idoxuridina, donde se nota un aumento en la absorción, pero la

relación sigue siendo lineal.

* Ver tabla de la sección 3.5.

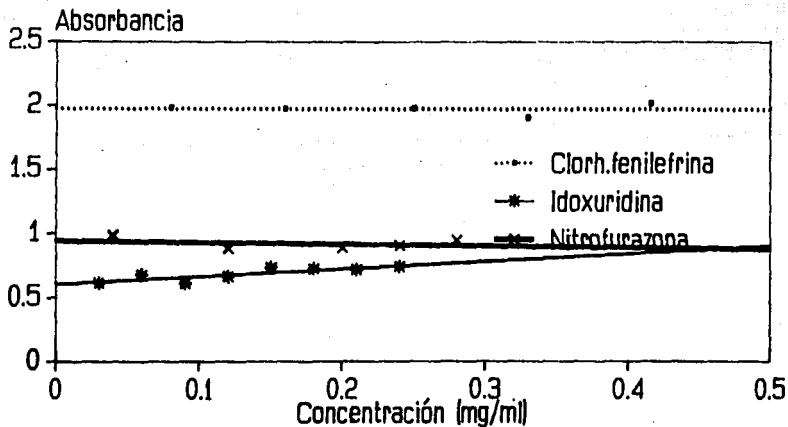
DATOS PARA LAS GRAFICAS

Conc.cte.de : 02=0.1 mg/ml; 04=0.03 mg/ml; 05=0.016 mg/ml.

Clave 02,01		04,01		05,01	
C(mg/ml)	A _{217.5nm}	C _m	A _{213.5nm}	C _m	A _{260nm}
0.08	1.98	0.03	0.65	0.04	0.98
0.16	1.97	0.06	0.66	0.12	0.88
0.25	1.97	0.09	0.60	0.20	0.89
0.33	1.90	0.12	0.66	0.24	0.90
0.42	2.01	0.15	0.72	0.28	0.94
		0.18	0.71		
		0.21	0.71		
		0.24	0.73		

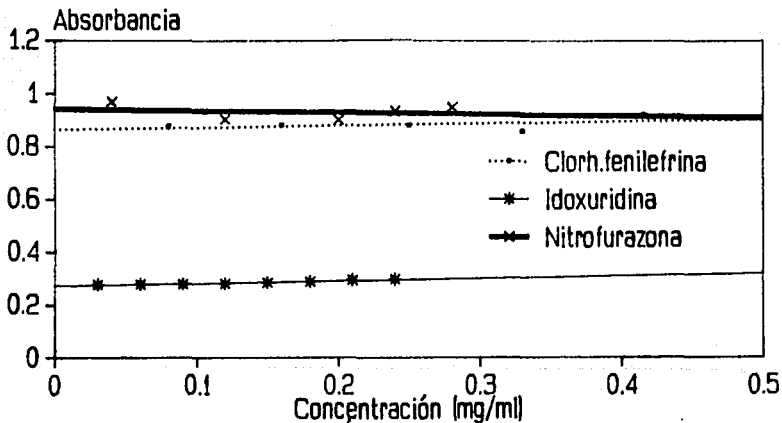
02,01		04,01		05,01	
C _m	A _{273nm}	C _m	A _{288nm}	C _m	A _{375nm}
0.08	0.88	0.03	0.28	0.04	0.97
0.16	0.88	0.06	0.28	0.12	0.90
0.25	0.88	0.09	0.28	0.20	0.90
0.33	0.86	0.12	0.28	0.24	0.93
0.42	0.92	0.15	0.29	0.28	0.95
		0.18	0.29		
		0.21	0.29		
		0.24	0.30		

EFECTO DE LA METILCELULOSA Sobre la absorbancia de los principios activos



lambda : 217.5 nm.
lambda : 213.5 nm.
lambda x 260.0 nm.

EFECTO DE LA METILCELULOSA Sobre la absorbancia de los principios activos



λ 273 nm.
 λ 288 nm.
 λ 375 nm.

3.2 DETERMINACION DE LA PENDIENTE DE LAS CURVAS ESTANDAR DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS CON METILCELULOSA

Se prepararon soluciones acuosas manteniendo constante la concentración de metilcelulosa y variando la concentración del principio activo, de acuerdo con la especificación del marbete. Se midió la absorbancia con el espectrofotómetro de UV.-Vis. y se graficaron los datos.

A continuación se presentan las gráficas con los datos obtenidos.

La gráfica es una recta y para mayor precisión se calculó su regresión lineal, obteniendo la pendiente y la ordenada al origen, a partir del valor de la pendiente podemos calcular la concentración, ya que la linealidad observada nos demuestra que podemos aplicar la Ley de Beer.

Los siguientes datos tienen un nivel de significancia del 95%

DATOS PARA LAS GRAFICAS Y CALCULOS DE REGRESION LINEAL

Clave 1,2		1,4		1,4	
C_M (mol/l)	$A_{217.5nm}$	C_M	$A_{213.5nm}$	C_M	A_{288nm}
4.91×10^{-5}	0.41	0.2×10^{-4}	0.18	0.2×10^{-4}	0.0
9.82×10^{-5}	0.74	0.3×10^{-4}	0.27	0.3×10^{-4}	0.10
14.73×10^{-5}	0.94	0.5×10^{-4}	0.35	0.5×10^{-4}	0.16
19.64×10^{-5}	1.21	0.7×10^{-4}	0.49	0.7×10^{-4}	0.25
24.55×10^{-5}	1.44	0.9×10^{-4}	0.54	0.9×10^{-4}	0.30
29.46×10^{-5}	1.63	1.0×10^{-4}	0.65	1.0×10^{-4}	0.37
34.37×10^{-5}	1.80	1.2×10^{-4}	0.74	1.2×10^{-4}	0.44
39.28×10^{-5}	1.94	1.4×10^{-4}	0.83	1.4×10^{-4}	0.51
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
n=9		n=9		n=9	
b=0.176 ± 0.117		b=0.057 ± 0.04		b=-0.03 ± 0.03	
log m=3.68 ± 2.7		log m=3.76 ± 2.69		log m=3.59 ± 2.5	
r=0.989		r=0.993		r=0.993	

Clave 1,5

C_H	A_{260nm}
0.2x10	0.18
0.3x10	0.27
0.5x10	0.35
0.7x10	0.49
0.9x10	0.54
1.0x10	0.65
1.2x10	0.74
1.4x10	0.83
0.0	0.0

n=8

$$b=0.022 \pm 0.095$$

$$\log m=4.32 \pm 3.45$$

$$r=0.986$$

1,5

C_H	A_{375nm}
0.2x10	0.0
0.3x10	0.10
0.5x10	0.16
0.7x10	0.25
0.9x10	0.30
1.0x10	0.37
1.2x10	0.44
1.4x10	0.51
0.0	0.0

n=8

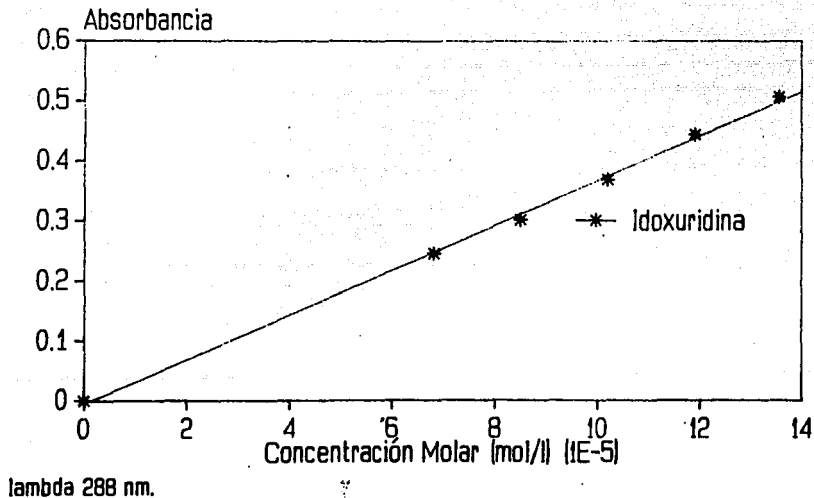
$$b=-0.082 \pm 0.145$$

$$\log m=4.5 \pm 3.63$$

$$r=0.986$$

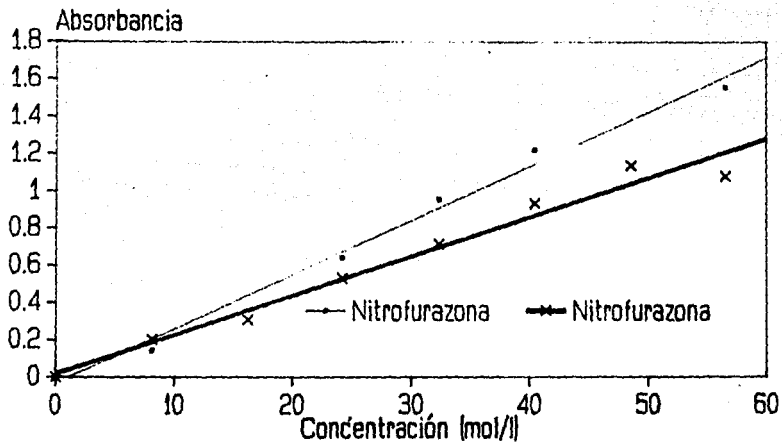
CURVAS ESTANDAR

Principios activos con metilcelulosa
determinación de la pendiente



CURVAS ESTANDAR

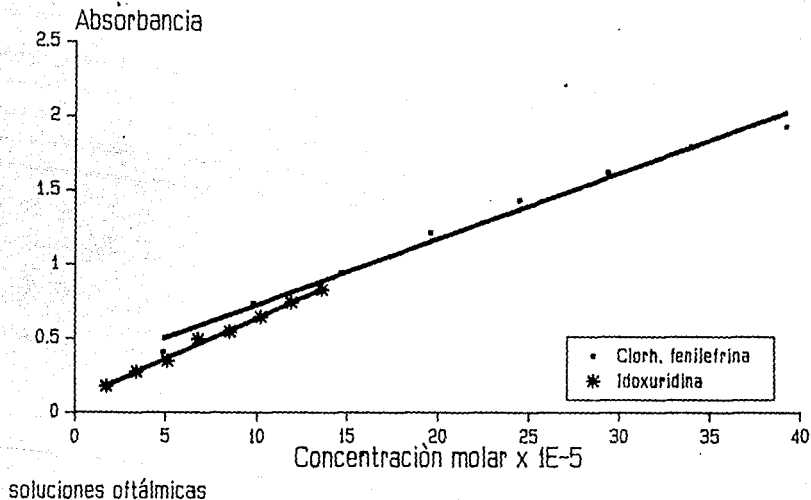
Principios activos con metilcelulosa
determinación de la pendiente



lambda 375 nm. .
lambda 260 nm. x

CURVAS ESTANDAR

Principios activos con metilcelulosa
determinación de la pendiente



3.3 DETERMINACION DE LA PENDIENTE DE LAS CURVAS ESTANDAR DE DOS PRINCIPIOS ACTIVOS

Existen medicamentos oftálmicos formados por mezclas de 2 principios activos en solución acuosa. Para estudiar su determinación simultánea es necesario en primer lugar conocer como se ve afectada la absorbancia de cada uno por la presencia del otro y por esto se realizaron 2 experimentos :

El primero consiste en mantener constante la concentración de uno de los principios activos y variar la concentración del otro; la segunda parte implica invertir el proceso en cuanto a la concentración de cada principio activo considerando siempre la proporción de acuerdo al marbete.

Para ejemplificar esto estudiamos el medicamento que contiene Clorhidrato de Fenilefrina y 21-Fosfato de Dexametasona disódica.

1. Se prepararon soluciones acuosas manteniendo constante la concentración de Clorhidrato de Fenilefrina, variando la conc. de 21-Fosfato de Dexametasona disódica. Se midió la absorbancia en el espectrofotómetro de UV. y se graficaron los datos.

2. Se prepararon soluciones acuosas manteniendo constante la concentración de 21-Fosfato de Dexametasona disódica y variando la conc. de Clorhidrato de Fenilefrina. Se midió la absorbancia en el espectrofotómetro de UV. y se graficaron los datos.

A continuación se presentan las gráficas que contienen los datos obtenidos.

La gráfica es una recta y para mayor precisión se calculó su regresión lineal, obtenemos la pendiente y la ordenada al origen, la pendiente es el valor principal y a partir de ésta podemos calcular la concentración ya que la linealidad observada nos demuestra que podemos aplicar la Ley de Beer

Los siguientes datos tienen un nivel de significancia del 95%

DATOS PARA LAS GRAFICAS Y CALCULOS DE REGRESION LINEAL

Clave 2,9		9,2		9,2	
C_H	A_{241nm}	C_H	$A_{217.5nm}$	C_H	A_{273nm}
1.6x10	0.18	0.2x10	0.36	0.2x10	0.14
2.3x10	0.27	0.4x10	0.50	0.4x10	0.20
3.1x10	0.38	0.6x10	0.60	0.6x10	0.22
3.9x10	0.45	0.8x10	0.67	0.8x10	0.26
5.5x10	0.62	1.0x10	0.79	1.0x10	0.30
0.0	0.0	1.2x10	0.90	1.2x10	0.33
		1.4x10	1.02	1.4x10	0.36
		1.6x10	1.12	1.6x10	0.40
		0.0	0.0	0.0	0.0

$$b=0.006 \pm 0.021$$

$$\log m=3.06 \pm 1.82$$

$$r=0.999$$

$$b=0.17 \pm 0.094$$

$$\log m=3.79 \pm 3$$

$$r=0.976$$

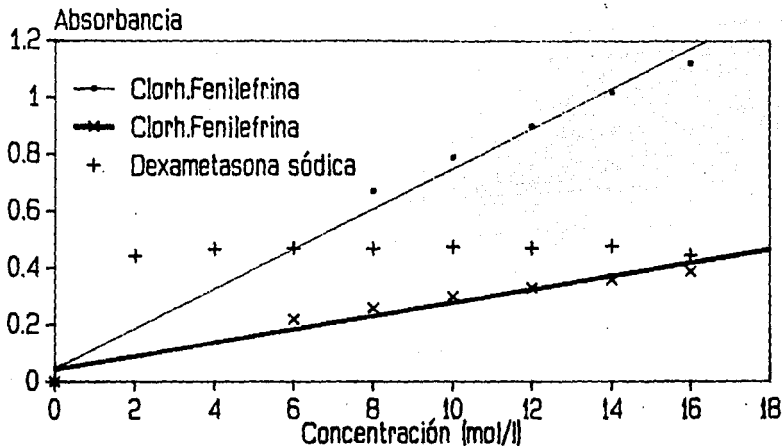
$$b=0.072 \pm 0.04$$

$$\log m=3.34 \pm 2.64$$

$$r=0.963$$

CURVAS ESTANDAR DE 2 PRINCIPIOS ACTIVOS

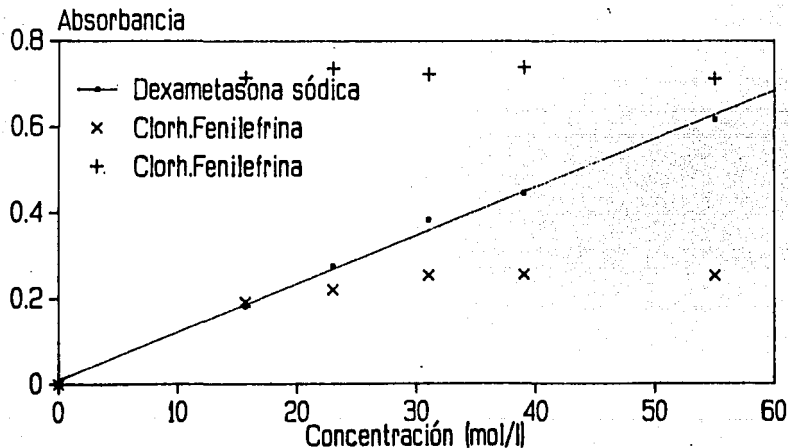
Mezcla de Clorh. de Fenilefrina Conc. Va_riable y Dexametasona Conc.Cte.



lambda 217.5 nm. .
lambda 273.0 nm. x
lambda 241.0 nm. +

CURVAS ESTANDAR DE 2 PRINCIPIOS ACTIVOS

Mezcla de Clorh. de Fenilefrina Conc.
Cte. y Dexametasona Conc. Variable



lambda 241.0 nm. .
lambda 273.0 nm. x
lambda 217.5 nm. +

3.4 DETERMINACION POR ESPECTROSCOPIA UV DE LA CONCENTRACION DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS EN MEDICAMENTOS OFTÁLMICOS COMERCIALES

Se investigó en el Diccionario de Especialidades Farmacéuticas los medicamentos oftálmicos que contuvieran mezclas de principios activos y se tomó en cuenta el cuadro de los que son utilizados en el Sector Institucional para enfocarnos a ellos. Finalmente se seleccionaron aquellos de los que se disponía materia prima químicamente pura, para trabajar así como los medicamentos que existían a la venta.

Dependiendo del medicamento el blanco debe contener o no Metilcelulosa, además de agua y se considera que en el caso en que se agreguen conservadores y antimicrobianos se encuentran en cantidades tan pequeñas que no alcanzan a afectar la absorbancia.

Esta determinación se llevó a cabo para:

- A) Los principios activos con metilcelulosa.
- B) Los principios activos sin metilcelulosa.
- C) La mezcla de dos principios activos sin metilcelulosa.

A) DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE PRINCIPIO ACTIVO CON METILCELULOSA

Se prepararon soluciones acuosas a partir de los medicamentos y se midió su absorbancia, luego se calculó la Concentración a la que corresponden mediante la Ecuación de Beer con el valor de la pendiente

Los datos de las lecturas de los medicamentos se presentan en la tabla siguiente:

Donde : A = Absorbancia; C_n = mmol/ml; C_m = mg/ml; C % = g/100ml
Blanco: H₂O (*)Blanco: H₂O + Metilcelulosa (01)

Clave y Nombre	$A_{\lambda(\text{nm})}$	C_H	C_m	C %
01,02. Dilufrin ofteno		(Conc. Marbete 0.12%)		
	$\lambda=217.5$			
	1.23	2.77×10^{-4}	1.41	0.14
	1.56	3.52×10^{-4}	1.43	0.14
	1.22 *	2.75×10^{-4}	1.40	0.14
	1.44 *	3.24×10^{-4}	1.32	0.13
	0.90	2.03×10^{-4}	1.65	0.17
	1.37	3.08×10^{-4}	1.25	0.13
01,02. Nefrin ofteno		(Conc. Marbete 5.0%)		
	$\lambda=217.5$			
	0.57	1.27×10^{-4}	64.82	6.48
	0.83	1.87×10^{-4}	63.48	6.35
	1.03	2.32×10^{-4}	59.08	5.91
	1.72	3.87×10^{-4}	49.33	4.93
	1.78	4.01×10^{-4}	48.62	4.86
01,05. Furan ofteno		(Conc. Marbete 0.02%)		
	$\lambda=260$			
	0.30	1.44×10^{-5}	0.07	0.01
	0.48	2.30×10^{-5}	0.11	0.01
	$\lambda=375$			
	0.37	1.11×10^{-5}	0.06	0.01
	0.50	1.50×10^{-5}	0.08	0.01

**B) DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE PRINCIPIO
ACTIVO SIN METILCELULOSA**

Se prepararon soluciones acuosas a partir de los medicamentos y se midió su absorbancia, luego se calculó la Concentración a la que corresponden mediante la Ecuación de Beer con el valor de c.

Los datos de las lecturas de los medicamentos se presentan en la tabla siguiente:

Donde : A = Absorbancia; C_H = mmol/ml; C_m = mg/ml; C % = g/100ml

Clave y Nombre

	$A_{\lambda(\text{nm})}$	C_H	C_m	C %
03.Naphacel ofteno			(Conc. Marbete 0.1%)	
	$\lambda=288$			
	0.20	2.00×10^{-5}	0.82	0.08
	0.17	1.74×10^{-5}	0.86	0.09
	0.14	1.44×10^{-5}	0.89	0.09

03.S-Mogfen ofteno			(Conc. Marbete 0.1%)	
	0.23	2.30×10^{-5}	0.95	0.10
	0.18	1.88×10^{-5}	0.93	0.09
	0.16	1.59×10^{-5}	0.98	0.10

C) DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE PRINCIPIO ACTIVO PARA DOS PRINCIPIOS ACTIVOS SIN METILCELULOSA

Se prepararon soluciones acuosas a partir del medicamento y se midió su absorbancia, luego se calculó la Concentración a la que corresponden mediante la Ecuación de Beer con el valor de la pendiente. Para los cálculos de ésta última determinación se usó la pendiente correspondiente a la curva estándar de concentración 09 constante y 02 variable para los datos de absorbancia de 02; y la pendiente de la curva estándar de concentración 09 variable y 02 constante para los datos de absorbancia de 09.

Los datos de las lecturas del medicamento se presentan en la tabla siguiente:

Donde : A = Absorbancia; C_H = mmol/ml; C_m = mg/ml; C % = g/100ml

Clave y Nombre	$A_{\lambda(\text{nm})}$	C_H	C_m	C %
02,09 Dexafrin ofteno			(Conc. Marbete 02=0.15% y 09=0.1316%)	
(09)	$\lambda=241$			
	0.33	2.46×10^{-5}	1.25	0.13

(02)	$\lambda=217.5$			
	0.60	1.21×10^{-4}	1.23	0.12
	0.58	1.17×10^{-4}	2.39	0.24
	$\lambda=273$			
	0.19	1.30×10^{-4}	1.33	0.13
	0.19	1.30×10^{-4}	2.65	0.27

3.5 TABLA DE CONCENTRACION DE PRINCIPIOS ACTIVOS EN MEDICAMENTOS OFTÁLMICOS COMERCIALES

Clave	Nombre Comercial	Dosis—Marbete		
		mg/ml	g/100ml	%
01,02	Dilufirin ofteno	1.2	0.12	0.12
01,02	Nefrin ofteno	50.0	5.00	5.00
01,05	Furan ofteno	0.2	0.02	0.02
03	Naphacel ofteno	1.0	0.10	0.10
03	S-Mogfen colirio	1.0	0.10	0.10
02,09	Dexafirin ofteno			
02		1.5	0.15	0.15
09		1.316	0.132	0.13

APLICACION CUANTITATIVA DE R.M.P.

El análisis de mezclas por Resonancia Magnética Protónica se basa en la medida de la línea de integración. Para llevarlo a cabo es necesario :

1° Que una de las señales de los espectros de la mezcla, que ya ha sido interpretada en el compuesto puro esté en un desplazamiento químico tal que no se sobreponga con el resto de las líneas espectrales.

2° Conocer los pesos moleculares de los compuestos puros.

En el caso de los medicamentos con un principio activo y que contienen metilcelulosa, como ésta no tiene un peso molecular fijo es necesario agregar un tercer componente puro a la mezcla de peso molecular definido, en una concentración conocida.

Se trató de probar esta técnica con el medicamento que contiene Metilcelulosa y Clorhidrato de Fenilefrina, agregando un tercer componente en este caso el Terbutanol.

El Terbutanol presenta una señal característica a 1.2 ppm debido a los 9 protones de los metilos, el Clorhidrato de Fenilefrina presenta su parte aromática en 6.8 ppm y representa 4 protones.

La integración para la señal ubicada en 6.8 ppm, que corresponde a la parte aromática del compuesto O2 (Clorhidrato de Fenilefrina) y representa a 4 protones, es de 4 mm lo que nos indica una proporción de :

$$1 \text{ H} = 1 \text{ mm}$$

La integración para la señal ubicada en 1.2 ppm , que corresponde a la señal del Terbutanol y representa 9 protones, es de 80 mm lo que nos indica una proporción de :

$$1 \text{ H} = 8.8 \text{ mm}$$

La relación molar en que se encuentran el Terbutanol (Tb-OH) y el Clorhidrato de Fenilefrina (O2) es de :

$$1 \text{ mol}_{(O2)} = 8.8 \text{ mol}_{Tb-OH}$$

La relación en gramos de la mezcla según el espectro es de que por cada gramo de Clorhidrato de Fenilefrina hay 3.2 gramos (aprox. 3.2 g) de Terbutanol

$$1 \text{ mol}_{(O2)} = 203.67 \text{ g}$$

$$1 \text{ mol}_{(Tb-OH)} = 74 \text{ g} \text{ entonces } 8.8 \text{ mol}_{(Tb-OH)} = 651.2 \text{ g}$$

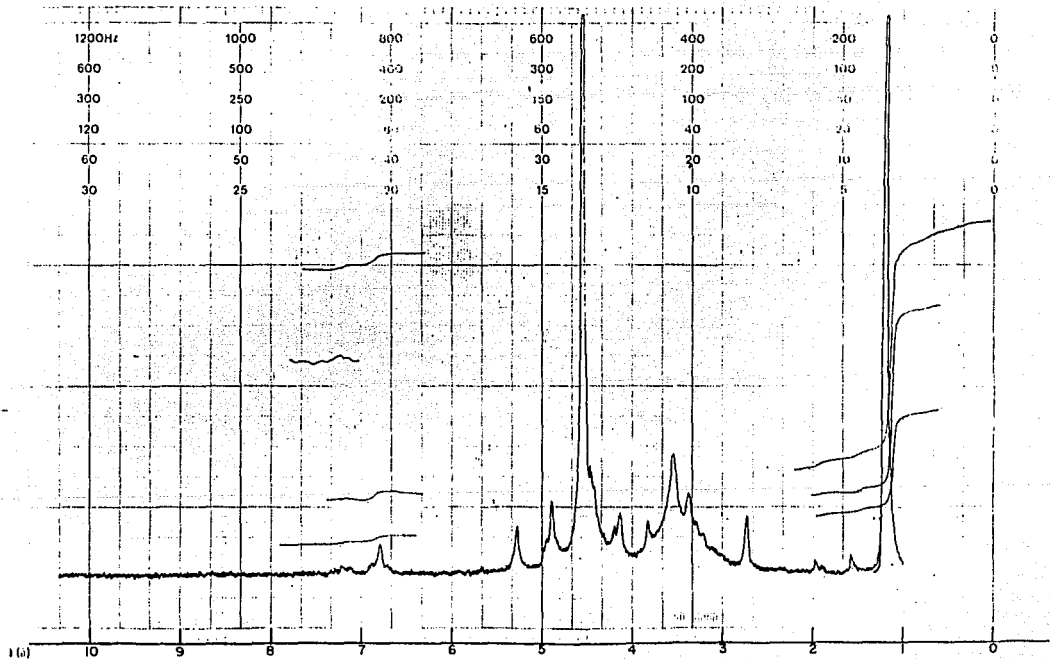
$$\frac{651.20 \text{ g}}{203.67 \text{ g}} = 3.197 \text{ (aprox. 3.2)}$$

La relación de la mezcla teórica es de 3.3 miligramos de Terbutanol por cada miligramo de Clorhidrato de Fenilefrina

$$\frac{42.6 \text{ mg}}{13.0 \text{ mg}} = 3.277 \text{ (aprox. 3.3)}$$

La similitud de los valores encontrados nos indica la factibilidad de aplicar la técnica R.M.P. para el análisis de soluciones oftálmicas utilizando un estándar interno.

De acuerdo con los espectros de los compuestos puros, es posible realizar este mismo tipo de análisis en soluciones que contengan a los compuestos combinados de la siguiente forma O4 y O1 ; O5 y O1.



CALIBRACION DEL TERMOMETRO PARA DETERMINAR LOS PUNTOS DE FUSION

Muestras para calibrar	P.F. Teorico °C	P.F. Experimental °C
Vainillina	81-83	74-76
Acetanilida	114-116	109-111
Acetofenetidina	134-136	130-132
Sulfanilamida	164.5-166.5	156-158
Sulfapiridina	190-193	192-194
Cafeina	235-237.5	209-214

Y X

Se tratan estos datos como la ecuación de la recta ya que su relación es lineal. $Y = m X + b$

La pendiente se calcula mediante una regresión lineal, así mismo rectificamos que la relación entre los datos teóricos y experimentales es lineal, ya que su coeficiente de correlación es muy aproximado a 1 :

$$m = 1.049 \quad b = -11.42 \quad R = 0.9975$$

Utilizando los valores de la pendiente y la ordenada al origen se calculan los Puntos de Fusión (P.F.) de las muestras usadas para esta tesis referidas a los valores de P.F. publicados en la literatura.

Se utilizó la ecuación de esta forma : $X = \frac{Y + 11.42}{1.049}$

En Y se introducen los valores de P.F. determinados con el termómetro calibrado, en X se obtienen los valores de P.F. reales de acuerdo a la literatura y se comparan con los publicados.

RESULTADOS

Por Espectroscopia UV., la determinación experimental de los coeficientes de absorptividad molar (ϵ) de los compuestos Idoxuridina, Acetato de Cortisona y 21-Fosfato de Dexametasona disódica (04,08 y 09 respectivamente) comparados con los reportados en la literatura, nos permite aseverar que el trabajo experimental fué adecuado y por lo tanto los valores determinados para los compuestos Clorhidrato de Fenilefrina, Clorhidrato de Nafazolina, Nitrofurazona, Sulfato de Atropina y Medrisona (02,03,05,06 y 10) que no se encontraron en la literatura deben ser correctos.

La $\lambda_{\text{máx.}}$ de absorción nos permite establecer cuáles soluciones oftálmicas de estos compuestos se pueden determinar cualitativa y cuantitativamente por Espectroscopia UV., y son los siguientes :

- a. Clorhidrato de Fenilefrina con Metilcelulosa. (02,01)
- b. Idoxuridina con Metilcelulosa. (04,01)
- c. Clorhidrato de Fenilefrina y 21-Fosfato de Dexametasona disódica. (09,02)

El análisis estadístico de los datos obtenidos por esta técnica se trabajó con un nivel de significancia del 95 %.

Al estudiar el efecto de la Metilcelulosa en la Absorción de radiación UV. de los principios activos, se observa que a concentración constante de los principios activos, dentro de un intervalo de concentración igual a la concentración marcada en el marbete la Absorbancia permanece constante, lo que nos lleva a concluir que la Metilcelulosa no afecta la Absorbancia de los principios activos en nuestras mezclas, conservándose la linealidad de los datos lo que a su vez implica que para estas concentraciones se cumple la Ley de Lambert y Beer. Esta conclusión era importante para poder proceder a elaborar nuestras curvas patrón.

Al comparar la concentración experimental de los principios activos de los medicamentos con la concentración marcada en el marbete, observamos que la concentración calculada varía en

diferentes proporciones :

Mezcla	Medicamento	Variación relativa al marbete
01,02	Dilufrin of.	Exceso del 16 %
	Nefrin of.	Exceso del 14 %
01,05	Furanofeno	Defecto de 50 %
02,09	Dexafrin of.	Defecto de 5 % de 09 y
		Exceso de 26.5 % de 02.

Compuesto	Medicamento	Variación relativa al marbete
03	Naphacel of.	Defecto del 14 %
	S-Mogfen of.	Defecto del 5 %

Los casos en que la variación es en exceso se pueden tratar de explicar con base a las propiedades fisiológicas requeridas para su aplicación (como es el que con una sola gota se instile la cantidad necesaria de principio activo tal que aunque se elimine una parte quede una cantidad suficiente para filtrarse al lugar de acción y pueda ser efectivo) es lógico que se prefiera tener un exceso en la concentración para lograr su efectividad (desde luego en proporción aceptable para no llegar a dañar el ojo).

En el caso de el medicamento llamado Furanofeno es posible que se hubiera tratado de una muestra defectuosa, ya que estas determinaciones se realizaron a partir de una sola muestra y no se consiguieron más muestras, ya que el objetivo no era el desarrollo de métodos, sino sólo determinar si la técnica era aplicable para estos casos.

Los casos de variación en defecto pueden tratar de explicarse como algo esperado en cualquier tipo de producto por razones de economía para el fabricante. Sería necesario un estudio posterior para poder tener más información y llegar a conclusiones

definitivas acerca de las variaciones para cada caso lo cual no era objeto de nuestro estudio.

La espectroscopia IR, en esta investigación sólo nos permitió asegurar que las muestras estaban puras, no se realizó ningún análisis cuantitativo de mezclas, ya que las bandas de absorción de todos los componentes usados presentan espectros muy parecidos, por tener los mismos grupos funcionales .

Con respecto a R.M.P. todos los principios activos que se trabajaron presentaron baja solubilidad en los disolventes deuterados disponibles en el laboratorio, la muestra de O9 no se realizó ya que no fue posible solubilizarlo, algunos de ellos dieron señales de baja intensidad que no permiten una adecuada interpretación.

Para determinar cuantitativamente por R.M.P. las mezclas de estos compuestos se sugiere utilizar una referencia interna tal que sus señales no se sobrepongan con las de la mezcla.

Para los compuestos Metilcelulosa, Clorhidrato de Fenilefrina, Clorhidrato de Nafazolina, Idoxuridina, Nitrofurazona y Sulfato de Atropina, la referencia interna más recomendable es el Terbutanol, ya que presenta una sola señal en 1.2 ppm que no se sobrepone con las bandas de estos compuestos; para los compuestos Acetato de Cortisona y Medrisona la referencia interna que se recomienda es un compuesto aromático soluble en agua, los cuales presentan señales con desplazamiento químico alrededor del intervalo de 6-7 ppm .

CONCLUSIONES

1. Por Espectroscopía UV. se determinaron los coeficientes de absorptividad molar (ϵ) de 8 compuestos y se compararon estos con los reportados en la literatura, encontrándose buena concordancia.
2. Las soluciones oftálmicas que se pueden determinar cualitativa y cuantitativamente por Ultravioleta son las siguientes :
 - a. Clorhidrato de Fenilefrina con Metilcelulosa.
 - b. Idoxuridina con Metilcelulosa.
 - c. Clorhidrato de Fenilefrina y 21-Fosfato de Dexametasona
3. Se encontró que la Metilcelulosa presente en las soluciones comerciales no afecta la Absorbancia de los principios activos.
4. La técnica sí es aplicable para la determinación cuantitativa de los medicamentos de uso oftálmico, con el desarrollo posterior de una metodología que no implique su separación.
5. Para determinar cuantitativamente por R.M.P. las mezclas de estos compuestos se sugiere utilizar una referencia interna tal que sus señales no se sobrepongan con las de la mezcla.

BIBLIOGRAFIA

1. Banker G. and Rhodes C. Modern Pharmaceutics.
Ed. Marcel Dekker Inc. N.Y. (1979).
2. Helman J. Farmacotecnia teórica y práctica. Ed. C.E.C.S.A.
2ª Impresión, Méx. Tomo VI, 53, 1953-1970, (1985).
3. Howard C. Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms.
Ed. Lea & Febiger. 3th ed. Philadelphia. (1981).
4. Remington. Farmacia. Ed. Medica Panamericana, 17ª ed.
Buenos Aires. (1987).
5. Skoog D. and West D. Química Analítica.
Mc.Graw-Hill/Interamericana de México, S.A. de C.V.
4ª Edición, Méx. (1989).
6. Joseph-Nathan P. Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico.
Serie de Química. Monografía No 9.
Washington, D.C. (1973).
7. Conley R. Espectroscopia Infrarroja.
Versión española de Martínez J.C.
Editorial Alhambra, S.A. Madrid. (1979).

ESTA COPIA DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

8. Simon I. Infrared Radiation.
D Van Nostrand Company, Inc. Princeton.
New Jersey. (1966).

9. Silverstein R. and Clayton B.
Spectrometric Identification of Organic Compounds.
John Wiley & Sons, N.Y. (1963).

10. Rao C.N. Espectroscopia ultraavioleta y visible.
Editorial Alhambra, S.A.
1a. edición española, Madrid. (1970).

11. Jaffé H. and Orchin M.
Theory and Application of UV Spectroscopy.
John Wiley and Sons., Inc. N.Y., 1962.

12. Osland R.C.J. Principles and Practices of Infrared
Spectroscopy. Heffers Printers Ltd.
Cambridge, Great Britain (1985).

13. Remington's. Pharmaceutical Sciences. Mc Publishing Co.
Easton, Pennsylvania. (1980).

14. The United States Pharmacopeia. (USP XXI), (1985).