



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

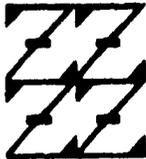
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

"EVALUACION DE LA ESTABILIDAD FISICOQUIMICA
EN 20 SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA DE
INTERES PARA LA INDUSTRIA FARMACEUTICA
MEXICANA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N :
CALLEJA LIMA TERESA
SANCHEZ JAIMES MARIA ISABEL

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO HIZIMOS ASI
DE NUESTRA REFERENCIA

ASESORES: Q. CELIA GOMEZ-TAGLE Y ORBE
Q.F.B. CESAR ESCAMILLA FLORES

LUGAR DE REALIZACION: LABORATORIO NACIONAL DE SALUD PUBLICA

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A MIS PADRES

COMO UN TESTIMONIO DE CARÍÑO Y ETERNO AGRADECIMIENTO POR EL APOYO MORAL Y ESTIMULOS BRINDADOS CON INFINITO AMOR Y CONFIANZA Y POR INFUNDIR EN MI, ESE CAMINO QUE INICIO CON TODA LA RESPONSABILIDAD QUE REPRESENTA EL TERMINO DE MI CARRERA PROFESIONAL.

A MIS HERMANOS VICTORINO Y EVA

CON GRATITUD Y ETERNO RECONOCIMIENTO POR EL APOYO QUE SIEMPRE ME HAN BRINDADO, DESEANDO QUE NUESTRO AMOR FRATERNAL PERDURE PARA SIEMPRE.

A MIS SOBRINOS MARIO DE DIOS, ALMA DELIA Y DULCE ROCIO

ESPERANDO QUE EL PRESENTE TRABAJO INFUNDA EN ELLOS EL DESEO DE LUCHAR POR ALCANZAR SUS MAS GRANDES METAS.

A TODOS LOS SERES QUERIDOS Y AMIGOS QUE ME RODAN Y UNEN LAZOS DEL CORAZON Y LA AMISTAD, CONTRIBUYENTES EN APOYO Y ESTIMULO A LA CULMINACION DE MIS ANHELOS.

A TODOS AQUELLOS QUE, DE UNA MANERA U OTRA HAN COLABORADO CONMIGO EN LA ELABORACION DE ESTE TRABAJO CON SUGERENCIAS, CON APOYO, CON TRABAJO. MUY ESPECIALMENTE A CESAR ESCAMILLA F. E IDALIA LETICIA FLORESG. POR SU VALIOSA COLABORACION ADEMAS DE REPRESENTAR CON SINCERIDAD AL AMIGO VERDADERO.

CON PROFUNDO AGRADECIMIENTO A TODOS MIS MAESTROS Y ASESORES.

**CON VOTO DE GUARDAR SU RECUERDO A MI INOLVIDABLE
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA UNAM.**

**AGRADECIENDO AL LABORATORIO NACIONAL DE SALUD PUBLICA
SSA POR EL APOYO BRINDADO DURANTE LA ELABORACION DEL
PRESENTE TRABAJO, ESPECIALMENTE A LA UNIDAD DE
MATERIALES DE REFERENCIA.**

**LAS METODOLOGIAS CIENTIFICAS ESTAN SUJETAS
A CAMBIOS CONTINUOS, EN LOS DIVERSOS CAMPOS
DEL SABER, Y EL EXITO DEL INVESTIGADOR RADICA
EN SU CAPACIDAD DE DESCUBRIR CAMINOS NUEVOS
PARA LA SOLUCION DE SUS PROBLEMAS.**

ALPHONSE CHAPANIS

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION

ANTECEDENTES

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
2. FUNDAMENTACION DEL TEMA	2
3. GENERALIDADES	27
4. OBJETIVOS	51
5. HIPOTESIS	52
6. MATERIAL Y METODOS	53
7. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS	60
8. CONCLUSIONES	82
9. SUGERENCIAS	84
10. BIBLIOGRAFIA	96

APENDICES

INTRODUCCION

INTRODUCCION

Una de las etapas importantes para establecer las diferentes Sustancias Químicas de Referencia es la de considerar aquellos factores que pueden influir de manera directa sobre las características de la sustancia, y que pueden causar la pérdida parcial o total de su actividad como referencia por la formación de productos de degradación. Entre las medidas aplicadas para el manejo, distribución y uso de las Sustancias de Referencia esta el de asegurar su estabilidad.

La estabilidad es la característica de una sustancia contenida en determinado tipo de envase para mantenerla dentro de especificaciones durante el tiempo de almacenaje y uso, las características físicas, químicas y microbiológicas que tenía en el momento de su caracterización como Sustancia de Referencia.

Con respecto a los factores de humedad, luz , oxígeno y temperatura, desde el punto de vista de estabilidad, ciertas sustancias exigen una protección más complicada contra estos factores con el fin de evitar su degradación. Sin embargo, la mayor parte de las Sustancias de Referencia se distribuyen sin ningún inconveniente en envases que pueden volverse a cerrar y que deben de ser de tamaño y dimensiones uniformes para facilitar su distribución.

Es importante considerar la permeabilidad de los envases a la humedad, ya que constituye un factor importante para determinar su idoneidad como recipiente de Sustancias de Referencia.

Por otro lado, es importante tener en cuenta que una Sustancia Química de Referencia es parte integral en la especificación de una preparación farmacéutica y si ésta sufre algún cambio o deterioro en sus características, éste deterioro constituye también un cambio en la norma del producto. Por esta razón es necesario vigilar la estabilidad de las sustancias mediante exámenes periódicos, reemplazándolas tan pronto como se observe cualquier alteración significativa en alguna de sus propiedades.

El Laboratorio Nacional de Salud Pública como responsable del establecimiento, conservación, manejo y distribución de las Sustancias Químicas de Referencia implantó un sistema para el análisis continuo del material almacenado.

Los ensayos realizados a dichas sustancias se basan en la repetibilidad y reproducibilidad de las especificaciones que se indican en los certificados originales .

Para evaluar su estabilidad se requiere de pruebas adicionales capaces de demostrar que no han sufrido deterioro en alguna de sus características que invalide su uso.

Las pruebas a que se someten las sustancias así como la metodología empleada suelen ser de dos tipos: las destinadas a caracterizar el material y las que tienen por objetivo determinar su pureza. Con la mayoría de los métodos, el porcentaje de pureza de una sustancia no puede expresarse como valor absoluto si no se han identificado previamente las impurezas o productos de degradación, por tal motivo se efectúan ensayos por cromatografía en capa delgada para verificar la estabilidad de las sustancias.

El presente trabajo muestra que de acuerdo a los requisitos de estabilidad para Sustancias Químicas de referencia propuestos por la Organización Mundial de la Salud y el programa de reevaluación implementado por el Laboratorio Nacional de Salud Pública, las 20 sustancias analizadas cumplen con las especificaciones para su uso dentro de la Industria Farmacéutica Mexicana.

ANTECEDENTES

ANTECEDENTES

El notable crecimiento en la producción nacional de Fármacos para uso farmacéutico, así como de las preparaciones farmacéuticas y de los productos biológicos, requieren de un control de calidad cada día más exigente, lo que indica la necesidad urgente de contar con los materiales de referencia correspondientes.

Desde que se inició en México (década de los 70's) el control reglamentario de los medicamentos, los analistas han tenido que depender de Sustancias de Referencia obtenidas en otros países.

La Secretaría de Salubridad y Asistencia, conocedora de esta situación al iniciarse el año 1977 hizo una evaluación primaria de los recursos técnicos y de investigación que tenía en ese momento el país; tanto en los propios laboratorios de la Secretaría, como en los institutos de enseñanza superior, Universidades y Centros de Investigación Científica, llegando a la conclusión de que se contaba con los recursos técnicos y humanos necesarios que permitirían estudiar y establecer un programa para el desarrollo y establecimiento de Sustancias Químicas de Referencia Nacionales para uso farmacéutico.

Para iniciar estas actividades, fue necesario dar origen a una comisión de carácter oficial, que se encargara de planear y desarrollar el programa, la cual fue establecida por la Secretaría de Salubridad y Asistencia (actualmente Secretaría de Salud), y cuyo acuerdo fue publicado en el Diario Oficial de la Federación, con fecha 4 de mayo de 1977, quedando oficialmente instalada la Comisión de Estandarización de Sustancias de Referencia para la Industria Químico Farmacéutica.

El principal propósito en el establecimiento de las Sustancias de Referencia, es proveer los medios que proporcionen uniformidad en la designación de la potencia, actividad o especificidad de preparaciones farmacéuticas, para poder ser usadas en la profilaxis, terapia o diagnóstico para humanos y algunos animales, expresándose directamente en términos químicos y de calidad.

Hasta la fecha, la necesidad de Sustancias Químicas de Referencia, indispensables para el control de calidad oficial, han sido suministrados por:

- a. La Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (USP)
 - b. El Formulario Nacional de los Estados Unidos de Norteamérica (NF)
 - c. La Farmacopea Británica (BP)
 - d. La Organización Mundial de la Salud (OMS)
-

ANTECEDENTES

En el país, la institución encargada de establecer, investigar, distribuir y conservar las Sustancias Químicas de Referencia, es el Laboratorio Nacional de Salud Pública (LNSP), sin embargo existe otra institución privada que establece sustancias confiables a través de su Comité Mexicano de Sustancias Farmacéuticas de Referencia (COSUFAR).

Los organismos internacionales encargados de establecer nuevas Sustancias de Referencia son la Organización Mundial de la Salud (OMS), British Pharmacopoeia (BP) y la United States Pharmacopoeia (USP, NF) para las preparaciones farmacéuticas; éstos tras la comparación de los análisis sobre nuevas sustancias, proyectos y propuestas, emiten sus resultados y conclusiones.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La industria químico-farmacéutica requiere de especificaciones que le permitan definir, evaluar y certificar la calidad de sus preparaciones. Estas especificaciones, determinadas a través de un proceso analítico, requieren del empleo de Materiales de Referencia como sustancias de comparación, que aumenten la confiabilidad del método y permitan una mayor unificación de las técnicas analíticas por aplicar, acciones todas ellas, que apoyan los programas de inspección y vigilancia sanitaria que tiene implementada la Dirección General de Insumos para la Salud a través del Laboratorio Nacional de Salud Pública.

De ahí que conviene tener en cuenta que una Sustancia de Referencia es parte integrante de la especificación de una preparación farmacéutica. Así pues, si la Sustancia de Referencia se deteriora, ese deterioro involucra un cambio en la especificación del producto. Por ésta razón, es sumamente importante vigilar la estabilidad de las Sustancias de Referencia mediante exámenes repetidos con regularidad reemplazándolas tan pronto como se observe cualquier alteración significativa en alguna de sus propiedades.

2. FUNDAMENTACION DEL TEMA

2. FUNDAMENTACION DEL TEMA

2.1. CRITERIOS PARA ESTABLECER SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

En la actualidad, se entiende por Sustancia Química de Referencia un material de uniformidad comprobada que se destina a determinadas pruebas químicas y físicas en que se comparan sus propiedades con las de un producto problema y que posee un grado de pureza suficiente para el uso a que se destina. (1,2,3)

La labor de establecer, comprobar, conservar y distribuir Sustancias Químicas de Referencia requiere tiempo y dinero, por consiguiente es muy importante evitar trabajos inútiles precisando claramente si existe o no necesidad de una sustancia dada. Las solicitudes de nuevas Sustancias Químicas de Referencia son las surgidas a raíz de la adopción de un criterio determinado para el establecimiento de una especificación aplicable a una nueva preparación o fármaco. Puede suceder que en una especificación se hayan propuesto métodos que requieran el establecimiento de una Sustancia Química de Referencia para utilizarla como patrón de comparación y, en consecuencia lo primero que hay que establecer es, si puede adoptarse algún otro procedimiento que no requiera de una Sustancia de Referencia y que sea igualmente satisfactorio.

De tal forma que un procedimiento analítico basado en una relación estequiométrica podría ser tan útil, en un contexto dado, como otro basado en espectrofotometría en la zona ultravioleta y eliminar la posible necesidad de una Sustancia de Referencia. (2)

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estableció las siguientes características para las Sustancias Químicas Internacionales de Referencia:

a. Sustancias para las cuales hayan sido establecidas referencias internacionales, para que sea posible definir las por medio de métodos químicos.

b. Sustancias Químicas necesarias como referencia de trabajo para ensayos descritos en las Farmacopeas.

En lo concerniente a los procedimientos de la Farmacopea Internacional se decidió que las Sustancias de Referencia deberían emplearse en los siguientes casos:

1. Cuando la identificación infrarroja sea necesaria.
2. Cuando los ensayos cromatográficos sean indicados en las monografías.
3. Cuando se trate de métodos espectrofotométricos o fotométricos.

Todos los especialistas admiten que en algunos métodos es esencial el empleo de una Sustancia Química de Referencia.

La cromatografía en capa delgada como medio de identificación exige un material de referencia, ya que la migración de una sustancia en relación con el frente del disolvente depende de las condiciones de trabajo, algunas de las cuales (temperatura y composición de la fase móvil) se pueden regular fácilmente mientras que otras (espesor exacto, contenido de humedad de la capa empleada y grado de saturación de la cámara) no pueden reproducirse con exactitud. En el mismo caso están los procedimientos no estequiométricos, como la titulación yodométrica de las penicilinas y la determinación del ácido ascórbico por titulación con un indofenol. (1)

Los métodos de análisis utilizados actualmente para fijar las especificaciones para los fármacos y preparaciones farmacéuticas que pueden requerir el empleo de una Sustancia Química de Referencia son los siguientes:

- A. Espectrofotometría infrarroja, utilizada a efectos de identificación.
- B. Métodos cuantitativos basados en la espectrofotometría de absorción ultravioleta.
- C. Métodos cualitativos basados en la aparición de un color y en la evaluación de su intensidad por comparación instrumental o visual.
- D. Métodos basados en la separación cromatográfica con fines de identificación o determinación cuantitativa.

E. Métodos cuantitativos (incluidos los automatizados) basados en otras técnicas de separación que dependen de la partición del material problema entre fases solventes, en los que la eficacia depende del procedimiento de extracción, pudiendo depender de condiciones ambientales que varían según el momento y el laboratorio.

F. Métodos cuantitativos, a menudo volumétricos o en ocasiones gravimétricos, basados en relaciones no estequiométricas.

G. Métodos de ensayo basados en la determinación del poder rotatorio que pueden requerir el empleo de un material de referencia constituido por una proporción fija de componentes conocidos (isómeros cis/trans).

En otros casos, por el contrario, no existe acuerdo sobre la necesidad de una Sustancia de Referencia. Por lo que, se ha sostenido que en la espectrofotometría infrarroja podría no ser esencial un material de referencia; en cambio, cabría definir ciertas características de un espectro o proporcionar una copia de un espectro auténtico utilizable con fines de comparación.

Las diferencias en el modo de presentación de los espectros por diversos instrumentos, así como las diferencias de resolución entre instrumentos y los problemas asociados al polimorfismo y las posibles impurezas presentes en los solventes dificultan actualmente esa forma de

proceder en ciertos casos; cuando es aplicable, este enfoque podría servir para reducir considerablemente el número de Sustancias de Referencia necesarias y también reducir el ámbito de utilización de estas sustancias con otros fines.

La controversia se maneja sobre todo al tratar el uso de Sustancias de Referencia en la espectrofotometría de absorción ultravioleta. Algunos compendios (Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica) exigen una comparación de las características espectrales observadas en la sustancia problema con las de una Sustancia de Referencia tratada del mismo modo, mientras que otros como la Farmacopea Europea, la Farmacopea Británica y la tercera edición de la Farmacopea Internacional aceptan la comparación con coeficientes de extinción tabulados. Ambos métodos ofrecen ventajas, pero ninguno de ellos está exento de críticas. La mera comparación de los espectros obtenidos por un analista con una técnica eficiente y un equipo descuidado podría llevar a la aceptación de una muestra, pero no constituiría un ensayo válido. A su vez, el empleo de condiciones mal controladas y de un coeficiente de extinción tabulado podría llevar al rechazo de una muestra satisfactoria. También hay que aceptar que, pese a lo que han mejorado en los últimos diez años los espectrofotómetros de luz ultravioleta en cuanto a su estabilidad, fiabilidad y precisión, todavía siguen observándose variaciones entre

unos instrumentos y otros que pueden restar validez al empleo de tablas de coeficientes de extinción. (2,3)

Estas consideraciones, que también son aplicables en cierta medida a que otras técnicas instrumentales como la espectrofotometría infrarroja, hacen indispensable definir criterios adecuados de rendimiento instrumental. Esto a su vez, hace pensar que también sería necesario otro tipo de material de referencia, destinado a facilitar la calibración de instrumentos.

En lo que se refiere a la estandarización de métodos se admite que pueden ser necesarios materiales de referencia para calibrar aparatos sencillos y automatizados empleados en los análisis. Estos materiales de referencia, sin embargo, quedan fuera de los límites del presente estudio sobre Sustancias Químicas de Referencia. (12,23)

2.2. EVALUACION DE SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

Para evaluar la idoneidad de un material propuesto como Sustancia de Referencia hay que someterlo a pruebas muy detenidas. Es necesario tener en cuenta todos los datos obtenidos mediante el examen del material, utilizando una gran variedad de métodos analíticos. Considerados en conjunto, tales datos permiten concluir que el material es idóneo para el uso a que se destina. En función de éste, las pruebas

a que se somete la sustancia podrían ser más o menos inquisitivas y efectuarse con la participación de cierto número de laboratorios independientes.

En el caso de las Sustancias de Referencia que se pretenden emplear en pruebas de identificación o de determinación de pureza, el examen puede practicarse sin necesidad de un programa unificado, teniendo en cuenta todos los datos analíticos obtenidos en diferentes laboratorios. Si en todos los laboratorios colaboradores se obtienen datos compatibles, cabe tomar una decisión positiva acerca de la idoneidad del material. Ese procedimiento puede simplificarse en el caso de la evaluación de lotes propuestos para reemplazar una Sustancia de Referencia ya existente.

Cuando sea necesario asignar valores cuantitativos a una Sustancia de Referencia, habrá que emprender un estudio en colaboración con arreglo a un protocolo cuidadosamente establecido y con participación de, por lo menos, tres laboratorios cooperadores. (1)

2.3. METODOS FISICOS Y QUIMICOS USADOS PARA EVALUAR SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

Los métodos empleados para aprobar un material propuesto puede dividirse en dos grandes grupos: Los destinados primordialmente a identificar el material y los que tienen por objeto determinar la pureza.

Con la mayor parte de los métodos, el porcentaje de pureza de una Sustancia Química de Referencia no puede expresarse como valor absoluto si no se han identificado las impurezas. En tales casos, la pureza consignada es una estimación basada en los datos obtenidos utilizando los diferentes métodos analíticos empleados para determinar la pureza de la Sustancia Química de Referencia. (1)

2.3.1. METODOS UTILES PARA COMPROBAR LA IDENTIDAD DE LAS SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

La identidad de un material que se pretende emplear como una Sustancia Química de Referencia ya establecida, puede llevarse al cabo por medio de pruebas susceptibles capaces de demostrar que las propiedades características de las dos muestras son idénticas. Para ello, basta muchas veces comparar los respectivos espectros de absorción infrarroja. Del mismo modo, cuando una nueva Sustancia de Referencia propuesta esta constituida por un compuesto cuya estructura ha sido bien aclarada, puede comprobarse su identidad equiparando los espectros infrarrojos del material y de un compuesto químicamente puro. También pueden utilizarse para estas comparaciones otras técnicas sumamente específicas, como la Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear, la Espectrometría de Masas o la Cristalografía de Difracción de rayos X.

Cuando no se dispone de una muestra "auténtica" de la Sustancia de Referencia propuesta para la comparación ni existen datos definitivos sobre sus propiedades puede ser necesario comparar la identidad del material aplicando diversas técnicas analíticas actualmente usadas para caracterizar nuevos compuestos. Estos métodos analíticos pueden comprender análisis como estudios cristalográficos, espectrometría de masas, espectroscopia de resonancia magnética nuclear, análisis de grupos funcionales, espectrofotometría infrarroja y espectrofotometría ultravioleta, así como cuantas pruebas suplementarias puedan ser necesarias y suficientes para llegar a la conclusión de que el material de referencia propuesto es la sustancia requerida. (3)

2.3.2. REQUISITOS DE PUREZA DE LAS SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

Los requisitos de pureza aplicables a una Sustancia Química de Referencia dependen del uso a que está se destine. Una Sustancia de Referencia propuesta para una prueba de identificación por espectrofotometria infrarroja no requiere una purificación meticulosa porque la presencia en ella de un pequeño porcentaje de impurezas no suele tener ninguna influencia sobre su espectro infrarrojo.

De igual modo, tampoco es muy necesario que estén muy purificadas las Sustancias de Referencia que se aplican en cargas ligeras en las pruebas de cromatografía en capa delgada.

Como norma básica lo ideal es que dichas sustancias posean una pureza del 99.5 por ciento por lo menos, aunque en los casos en que es baja la precisión del método analítico para el que se requiere la sustancia puede no ser necesario tal grado de pureza. En cambio, conviene que posean un elevado grado de pureza las sustancias de referencia utilizadas en valoraciones. Al tomar una decisión sobre la calidad de una Sustancia de Referencia la consideración más importante debe ser la influencia de la pureza sobre la calidad y cualidad que se mide en la valoración. Las impurezas con características fisicoquímicas similares a las del componente principal no reducen el empleo de una Sustancia de Referencia, mientras que basta con que halla indicios de una impureza con propiedades netamente diferentes para que la sustancia deje de ser idónea como Sustancia Química de Referencia. (1,2,3)

2.3.3. METODOS UTILIZADOS PARA DETERMINAR LA PUREZA DE LAS SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

Al considerar los métodos que han de emplearse para examinar una Sustancia Química de Referencia, se debe tomar en cuenta el método de preparación de ésta y el uso a que se destina. Tales métodos analíticos pueden dividirse en dos grandes categorías: los que dependen únicamente de una propiedad termodinámica intrínseca del sistema (análisis de solubilidad y calorimetría de exploración diferencial) y aquellos que requieren de la comparación con una Sustancia de Referencia (métodos cromatográficos o espectrofotométricos). Los métodos del primer grupo permiten medir el contenido total de impurezas en términos absolutos, pero suministran poca información acerca de la estructura molecular de los contaminantes.

Las propiedades fisicoquímicas de las sustancias: punto de fusión, punto de ebullición, densidad, índice de refracción, fórmula empírica, peso molecular, solubilidad, rotación óptica y propiedades espectrales, suministran una información muy útil en la elucidación de estructuras. Las propiedades físicas de los productos dependen de la pureza de la muestra, por lo tanto para obtener la máxima utilidad de los datos medidos, las muestras deben tener un alto grado de pureza.

Los métodos de análisis más empleados para dicha información son:

a. El método más usual y sensible de análisis tanto de sólidos como de líquidos incluye el uso de técnicas cromatográficas, lo mismo gas-líquido, que capa delgada. (1,2)

La cromatografía puede definirse como la separación de una mezcla de moléculas por distribución entre dos o más fases, una de las fases es esencialmente bidimensional (una superficie) y la fase restante, normalmente la principal esta en contacto con ella, moviéndose a contracorriente. Una fase estacionaria sólida con una fase líquida móvil conduce la cromatografía de absorción-adsorción. Si se emplea un gas como fase móvil se denomina cromatografía de gas-sólido y si se emplea un líquido como fase móvil se denomina cromatografía de líquidos de alta resolución. Esta forma de análisis indica el número de componentes individuales presentes, así como las cantidades existentes de otros. La cromatografía de líquidos consta de una fase estacionaria líquida de composición diferente a la fase móvil, en donde las moléculas de la muestra se distribuyen entre las dos fases, similar a un proceso de extracción líquido-líquido.

b. Los métodos espectrométricos de análisis, reagrupan el conjunto de técnicas analíticas basadas en las interacciones de las moléculas con la energía radiante, en las regiones visible y ultravioleta.

Las investigaciones espectrales en el rango ultravioleta e infrarrojo proporcionan información cualitativa útil, referente a la presencia o ausencia de ciertos grupos funcionales (como dieno carbonílico, aromático, nitro o conjugado) en compuestos orgánicos. Otra aplicación importante consiste en la detección de impurezas altamente absorbentes, en medios no absorbentes; si un pico de absorción del contaminante tiene una absorptividad suficientemente alta, este puede establecerse fácilmente en pequeñas cantidades.

En los estudios cuantitativos de absorción, un haz de radiación pasa a través de una muestra y se mide enseguida la intensidad de radiación transmitida. La radiación que absorbe la muestra se determina comparando la intensidad del haz transmitido cuando no hay muestra con la del haz cuando hay muestra.

Los datos espectrales, se presentan en una gran variedad de formas; para la abscisa se emplean comúnmente la frecuencia, el número de onda o la longitud de onda. La ordenada se expresa esencialmente en unidades de transmitancia o porcentaje de transmitancia, absorbancia o el logaritmo de la absorbancia.

La ecuación:

$$\log P_0/P = abc$$

$$A = abc$$

ECUACION 1

Es la ley fundamental que rige la absorción de todo tipo de radiación electromagnética y se conoce como ley de Lambert-Beer. El término logarítmico es conocido como absorbancia y se le asigna el símbolo A , la constante ϵ se llama absorptividad molar, cuando la concentración c , se expresa en moles de absorbente por litro, y la longitud de la trayectoria b se da en centímetros, a es una constante de proporcionalidad que es independiente de la concentración, paso de luz e intensidad de la radiación incidente; la absorptividad depende de la temperatura, disolvente, estructura molecular y longitud de onda de la radiación. La ecuación 1 indica que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración de especies absorbentes cuando la longitud de la trayectoria luminosa es fija y directamente proporcional a la trayectoria luminosa cuando la concentración es fija.

La espectrometría infrarroja, proporciona espectros que generalmente son complejos y presenta máximos y mínimos que pueden emplearse para fines de comparación. La absorción infrarroja de un compuesto orgánico representa una de sus propiedades físicas verdaderamente únicas; con la excepción de isómeros ópticos, no hay dos compuestos que tengan curvas de absorción idénticas.

Para absorber radiación infrarroja, una molécula debe experimentar un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su

movimiento vibratorio o rotatorio. Sólo en estas circunstancias puede actuar recíprocamente el campo alternativo de radiación en la molécula y causar cambios en su movimiento.

Los datos infrarrojos suelen representarse gráficamente como porcentaje de transmitancia. Se prefiere usar la unidad de centímetros recíprocos (cm^{-1}), para la abscisa, en vez de longitud de onda, debido a la proporcionalidad directa entre el número de onda y la energía. (4)

Sin importar los métodos empleados para evaluar las Sustancias Químicas de Referencia, es indispensable hacer una evaluación precisa del contenido de humedad y del contenido de otros contaminantes volátiles. Esto puede lograrse a menudo en términos absolutos por desecación, utilizando condiciones definidas que resulten apropiadas para la sustancia problema. En ciertos casos, sin embargo, quizá no pueda procederse así, en cuyo caso el contenido de humedad podrá determinarse por el método de titulación de Karl-Fischer, pérdida por secado y el contenido de disolventes volátiles por cromatografía gas-líquido. Sin una evaluación precisa de estas variables en el momento en que se practican otras determinaciones, todo dictámen de la aceptabilidad del material propuesto carecerá de validez. (2,3,10,16,19,22)

2.4. MANIPULACION Y DISTRIBUCION DE SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

Los medios que se apliquen para manipular, distribuir y utilizar las Sustancias Químicas de Referencia ya establecidas deben garantizar el mantenimiento y la conservación de la integridad de esas sustancias durante todo su período de utilización.

2.4.1. ESTABILIDAD Y REEVALUACION PERIODICA

Conviene tener en cuenta que una Sustancia de Referencia es parte integrante de la especificación de una preparación farmacéutica. Si la Sustancia de Referencia se deteriora, ese deterioro involucra también un cambio de especificación del producto. Por esta razón es sumamente importante vigilar la estabilidad de las Sustancias de Referencia mediante exámenes repetidos con regularidad, reemplazándolas tan pronto como se observe cualquier alteración significativa de alguna propiedad. La definición de "alteración significativa" difiere según el uso a que se destine la Sustancia de Referencia. La presencia de cierto porcentaje de productos de degradación en una sustancia, puede no reducir la utilidad de ésta en una prueba de identificación en espectroscopia infrarroja.

En cambio, cuando se trata de sustancias empleadas en pruebas cromatográficas o en valoraciones, aún una pequeña cantidad de impurezas puede resultar totalmente inaceptable. (1,2)

Los laboratorios encargados de comercializar Sustancias Químicas de Referencia deben disponer de un sistema para la evaluación periódica del material almacenado. Cuando se haya adquirido suficiente experiencia podrá modificarse la frecuencia de estas pruebas. A este respecto conviene tener en cuenta que la estabilidad de una Sustancia Química de Referencia especialmente preparada puede no ser siempre paralela a la de las muestras comerciales del mismo material.

La selección de métodos analíticos adecuados para evaluar la estabilidad de las Sustancias Químicas de Referencia depende de la naturaleza de la misma. Un método muy empleado es la cromatografía en capa delgada y con frecuencia resultan útiles pruebas sencillas como la determinación del contenido de agua o del pH, para reconocer el comienzo de la degradación.

Cuando es necesario evaluar cuantitativamente la degradación química hay que recurrir a técnicas más sofisticadas, como el análisis de solubilidad por fases, la calorimetría de exploración diferencial o la cromatografía combinada con la determinación cuantitativa de los distintos componentes.

Un fenómeno difícil de regular es la variación del contenido de humedad de las Sustancias de Referencia. Con el objeto de establecer condiciones adecuadas para reducir al mínimo tales cambios en las operaciones de envasado y almacenamiento, se recomienda que para cada sustancia se obtengan datos relativos al contenido de humedad y humedad relativa.

(2)

2.4.2. INFORMACION QUE DEBE ACOMPAÑAR A LAS SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

Las instituciones dedicadas a distribuir Sustancias de Referencia facilitan un certificado de análisis de la sustancia, así como instrucciones sobre el modo de empleo. Algunas otras no facilitan más información que el nombre de las sustancias y la autoridad que las distribuye. Estas diferencias pueden dar lugar a un uso incorrecto de las Sustancias de Referencia, por lo que convendría formular recomendaciones acerca de la información que debe facilitarse con dichas sustancias, así como la manera de expresarla adecuadamente.

En los rótulos de las Sustancias Químicas de Referencia debe figurar la siguiente información:

- a. Nombre de la sustancia.

b. Tipo de Sustancia de Referencia (Sustancia Química Internacional de Referencia, Sustancia Química Nacional de Referencia).

c. Nombre y dirección de la institución que distribuye la Sustancia de Referencia.

d. Cantidad aproximada de material presente en el envase.

e. Número de lote o control de la Sustancia de Referencia.

Tanto en los rótulos como en los documentos acompañantes debe darse, si es necesario, la siguiente información:

A. Condiciones recomendadas de almacenaje.

B. Uso a que se destina la Sustancia de Referencia.

C. Instrucciones sobre el uso (condiciones de secado y si procede, precauciones necesarias).

D. Datos sobre la composición de la Sustancia de Referencia que puedan ser necesarios para calcular los resultados de las pruebas en las que se vaya a utilizar la sustancia.

E. Una nota en la que se declina cualquier responsabilidad en los casos de uso incorrecto de la Sustancia de Referencia, almacenamiento inadecuado o utilización de las mismas con otros fines provistos por la autoridad que la distribuye.

Es recomendable restringir los datos analíticos consignados en los certificados que se faciliten con la Sustancia de Referencia a

lo estrictamente necesario para el uso correcto de la sustancia en las pruebas y valoraciones a las que estén destinadas. Ahora bien, los informes analíticos completos deben estar a disposición de quienes lo necesiten para evaluar la idoneidad de las Sustancias de Referencia para otros usos distintos de aquellos a los que estaban en principio destinados. (1)

2.4.3. CADUCIDAD DE LAS SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

Un problema de gran importancia, tanto para los usuarios como para los distribuidores, es si se deben fijar o no fechas de caducidad a las Sustancias de Referencia. Como argumento en contra de las fechas de caducidad se dice que podría dar lugar a la eliminación innecesaria de materiales satisfactorios y que para que sea posible fijar fechas de caducidad válidas habría que realizar un número considerable de trabajos experimentales.

Si en un caso concreto se considera necesario indicar una fecha de caducidad, esta deberá manifestarse en el rótulo. En la actualidad la mayor parte de las Sustancias de Referencia sólo se sustituyen por nuevos lotes cuando la reevaluación ha demostrado que esa sustitución es necesaria. Aunque de este modo se reduce al mínimo el

desperdicio de materiales útiles, a fin de que el procedimiento resulte completamente satisfactorio habrá, que encontrar medios eficaces para informar a los analistas que poseen Sustancias de Referencia susceptibles a un reemplazo. (2)

2.4.4. ENVASADO Y ALMACENAMIENTO

Los envases utilizados para las Sustancias Químicas de Referencia deben proteger contra la humedad, la luz y el oxígeno. Desde el punto de vista de estabilidad de la sustancia, los mejores recipientes son los frascos ampula herméticamente cerrados; estos, sin embargo, presentan ciertas desventajas, en particular el riesgo de que la sustancia se contamine con partículas de vidrio en el momento de la apertura y la dificultad para volver a cerrarlas. Los frascos ampula, por consiguiente se usan principalmente para los materiales que hay que mantener en una atmósfera exenta de oxígeno. Algunas sustancias exigen una protección más meticulosa. La mayor parte de las Sustancias de Referencia se distribuyen sin inconveniente alguno en envases que puedan volverse a cerrar y que deben ser de tamaños y dimensiones uniformes para facilitar su distribución. Conviene tener en cuenta que la permeabilidad de los envases a la humedad constituye un factor importante para determinar su idoneidad como recipientes contenedores de Sustancias Químicas de Referencia.

El envasado del lote de una Sustancia de Referencia es una operación en pequeña escala para la cual no siempre se dispone de material adecuado en el establecimiento productor. Por esta razón, suelen ser las autoridades responsables de la Sustancia de Referencia quienes se encargan de envasarlas.

Para distribuir sustancias en pequeña escala se utilizan espátulas vibratorias o dispositivos análogos; conviene usarlos con precauciones por el riesgo de que durante la operación de llenado se separen partículas de diferente tamaño, lo cual podría dar lugar a una falta de homogeneidad. También se han construido sistemas de alimentación de tornillo, pero aún no se han comercializado y a la fecha las Sustancias Químicas de Referencia se siguen envasando a mano.

Algunas Sustancias Farmacéuticas de Referencia tienen que envasarse en atmósfera de nitrógeno o en condiciones de humedad regulada. A este respecto resulta muy útil el empleo de una campana provista de guantes para operar desde el exterior.

Las distintas etapas del envasado de una Sustancia Química de Referencia deben supervisarse para evitar la contaminación de la muestra, errores en la rotulación, errores de etiquetado de los recipientes y otros factores que pudiesen afectar a la sustancia.

El establecimiento productor de la Sustancia de Referencia suele informar.

acerca de las condiciones adecuadas de almacenamiento. Esta información debe solicitarse sistemáticamente siempre que se establezca una Sustancia de Referencia. Teóricamente la estabilidad de la sustancia se refuerza cuando ésta se conserva a baja temperatura; en el caso de las sustancias que contienen agua, el almacenamiento a menos de 0° C puede afectar su estabilidad. También conviene recordar que la humedad relativa suele ser elevada en los refrigeradores ordinarios o en las cámaras frías y a menos que se utilicen frascos ampula u otros recipientes herméticamente cerrados, la pretendida mejora de la estabilidad aportada por el almacenamiento en esos lugares, puede quedar largamente anulada por la degradación resultante debido a la absorción de la humedad. El almacenamiento entre 5° y 8° C aproximadamente, con precauciones para dicha absorción, ha resultado satisfactoria para la mayor parte de las Sustancias Químicas de Referencia. (1,2)

2.4.5. PROBLEMAS DE DISTRIBUCION

La distribución de las Sustancias de Referencia en el interior de un país no suelen presentar problemas. Sin embargo, cuando hay que enviar muestras a otros países, tanto el expedidor como el destinatario del material pueden encontrarse con dificultades por la imprecisión de

los reglamentos postales y aduaneros. En la actualidad, los distribuidores de las Sustancias de Referencia desperdician una cantidad considerable de sus recursos tratando de obtener información acerca de los distintos reglamentos nacionales sobre importación y llenado de documentos oficiales. Convendría buscar medios adecuados para reducir estas dificultades y vencer las barreras que limitan la distribución eficaz de las Sustancias de Referencia. (3)

2.5. SUSTANCIAS QUIMICAS INTERNACIONALES DE REFERENCIA

Las Sustancias Químicas Internacionales de Referencia se han establecido atendiendo el asesoramiento del comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas. Se suministran principalmente para utilizarlas en pruebas y valoraciones físicas y químicas descritas en las especificaciones para el control de la calidad de los medicamentos publicados en la Farmacopea Internacional o en las monografías propuestas.

Las instrucciones para su empleo y los datos analíticos que se precisan para el uso previsto en las especificaciones pertinentes se dan en los certificados que se adjuntan en las sustancias cuando se procede

a distribuir las. Se puede obtener informes analíticos más detallados con respecto a la sustancia solicitándolos al centro colaborador de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para las Sustancias Químicas de referencia.

Las Sustancias Químicas Internacionales de Referencia también se pueden utilizar en pruebas y valoraciones no descritas en las especificaciones de la Organización Mundial de la Salud para las Sustancias Químicas de Referencia. La responsabilidad de evaluar la conveniencia de la utilización de esas sustancias recae entonces en el usuario.

En general se recomienda almacenar las sustancias protegiéndolas de la luz y la humedad y de preferencia a una temperatura entre 5° y 8° C. Se indicarán, de ser preciso, otras condiciones distintas de almacenamiento en el rótulo o en el certificado correspondiente.

La estabilidad de las Sustancias Químicas Internacionales de Referencia conservadas en el centro colaborador es objeto de examen periódico y el material deteriorado se reemplaza, si es necesario, por nuevos lotes. Pueden solicitarse al centro colaborador de la Organización Mundial de la Salud (OMS) las listas que éste publica en sus informes anuales con los números de control de los lotes. (3)

3. GENERALIDADES

3. GENERALIDADES

3.1. ESTABILIDAD

Hoy en día, el estudio y la determinación de la estabilidad de los fármacos se ha convertido en una necesidad de la Industria Farmacéutica moderna, a fin de poder garantizar la venta de los productos en el mercado con una vida útil adecuada que permita permanecer al mismo en la red de distribución con la potencia requerida. La determinación de la estabilidad no solamente es importante desde el punto de vista químico, sino que es necesario conocer si durante el proceso de envejecimiento del fármaco aparecen o no productos de descomposición que pudieran afectar el uso a que se destina.

Podríamos definir el término de estabilidad como: *la propiedad de un fármaco y/o medicamento contenido en un determinado material de empaque para mantener entre límites especificados y durante el tiempo de almacenamiento y uso las características físicas, químicas, fisicoquímicas, microbiológicas, biológicas y terapéuticas que tenía en el momento de ser fabricado.*

Los parámetros de estabilidad de una Sustancia Química de Referencia son factores muy importantes que pueden venir influenciados por las condiciones ambientales tales como: luz, humedad, temperatura y

aire, así como también por los componentes del envase, pues aunque este último se emplea para proteger la sustancia de los factores ambientales, puede influir decisivamente sobre la estabilidad del fármaco, especialmente los plásticos, que tienden a liberar algunas sustancias que entran en su composición.

Similarmente factores tales como el tamaño de partícula, el pH, las propiedades del agua y otros solventes empleados, la presencia de otras especies químicas como resultado de la contaminación o por mezclado intencional de otros productos pueden afectar la estabilidad.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente podemos clasificar la estabilidad como: (34)



Estabilidad Física: En este caso se estudia si ha ocurrido algún cambio en las propiedades físicas tales como color, uniformidad, solubilidad, etc.

Estabilidad Química: Es la más estudiada, y se basa en la determinación a través del tiempo de almacenaje de la integridad química de la

sustancia así como su pureza establecida en la etiqueta, empleando para ello métodos de análisis fisicoquímicos específicos. Puede contemplar el aislamiento, purificación y determinación de productos de degradación.

Estabilidad Microbiológica: Estudia si la esterilidad o la resistencia al crecimiento microbiano establecido en la formulación es efectiva durante el periodo de vigencia señalado. Debe incluir la determinación de la potencia de los antibióticos, a fin de comprobar su calidad.

Estabilidad Biológica: Esta relacionada principalmente con aquellos productos de fuerte actividad biológica tales como enzimas, hormonas, etc.

Puede también relacionarse con la estabilidad química en el estudio de la toxicidad de determinados productos de degradación a fin de establecer límites adecuados para los mismos. (34, 35)

Los estudios de estabilidad también pueden clasificarse de acuerdo al tiempo y condiciones en que se realicen:

Estudios de estabilidad natural: Es el método más clásico, el cual ha sido empleado desde el comienzo mismo de los estudios de estabilidad. Para ello se seleccionan toda una serie de muestras conocidas como

lotes testigos, los cuales se almacenan bajo condiciones controladas.

Posteriormente, se selecciona un método analítico específico apropiado y las muestras son valoradas periódicamente, siendo registrados los resultados hasta que se observa un cambio en las especificaciones iniciales de la Sustancia de Referencia o preparación farmacéutica.

(29,34)

Estudios de estabilidad acelerada: Son estudios diseñados para incrementar la velocidad de degradación química y/o biológica o el cambio físico de un fármaco o medicamento por medio del empleo de condiciones exageradas de almacenaje.

Estudios de estabilidad a largo plazo: Son aquellos en los que se evalúan las características físicas, químicas, biológicas y microbiológicas del fármaco o del medicamento durante el tiempo de reevaluación o de caducidad, la cual se justifica en la solicitud de registro y debe permanecer en el marbete.

Se deben llevar a cabo en tres lotes piloto o de producción en las condiciones de temperatura ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$) y/o particulares por un período mínimo de 24 meses para confirmar la fecha de caducidad tentativa. (29)

Los métodos analíticos empleados en los estudios de estabilidad generalmente no son empleados en el control de calidad y en muchos casos, es necesario desarrollarlos, ya que tienen como condición imprescindible su especificidad. (34,35)

3.2. CLASIFICACION DE LAS SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA

Sustancia Química de Referencia primaria: Son productos de uniformidad reconocida, destinados para utilizarse en comprobaciones analíticas físicas o químicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con las sustancias en examen.

Las Sustancias Químicas de Referencia poseen un grado de pureza y deben acompañarse de su certificado de análisis respectivo.

Sustancia Química de Referencia Secundaria: Son aquellas obtenidas de fármacos de alta calidad y cuyos parámetros se han comprobado mediante análisis efectuados por el propio laboratorio comparándolas contra Sustancias de Referencia primarias. (26, 27, 28, 29)

3.3. PROPIEDADES FISICAS Y ACTIVIDAD TERAPEUTICA

3.3.1 ANTIESPASMODICOS

Estos fármacos antagonizan las acciones muscarínicas de la acetilcolina y sustancias parasimpaticomiméticas y en menor grado, los efectos del estímulo parasimpático.

Los atropinizantes con nitrógeno terciario (atropina) son más liposolubles que los que poseen nitrógeno cuaternario, atraviesan con facilidad las barreras orgánicas, se absorben bien por todas las vías, excepto la piel intacta, pueden alcanzar el sistema nervioso central y atraviesan la barrera placentaria.

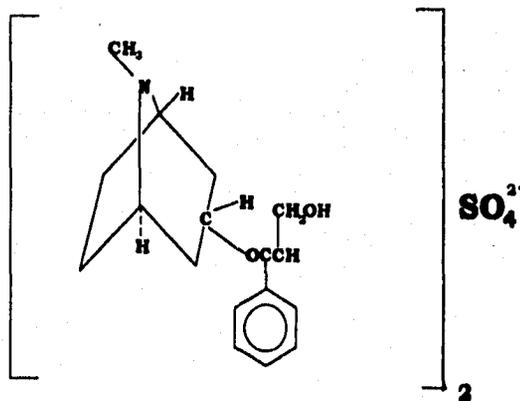
3.3.1.1. ATROPINA, SULFATO DE

Nombre Químico: Acido α -(hidróximetil) bencenacético-8-metil-8-azabicyclo (3,2,1) octil 3 éster, sulfato de.

Fórmula condensada: $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S.H_2O$

Masa molecular: 694.8 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo blanco cristalino.

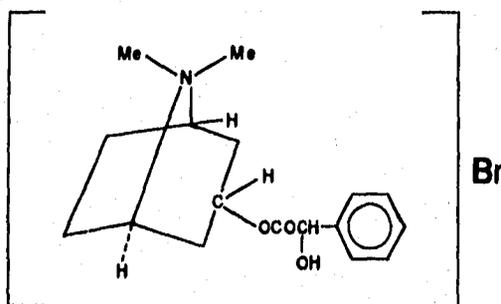
3.3.1.2. HOMATROPINA METIL BROMURO DE

Nombre químico: Metobromuro del (\pm)- α -hidroxifenilacetato de 3-tropanilo.

Fórmula condensada: $C_{17}H_{24}BrNO_3$

Masa molecular: 370.29 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo blanco.

3.3.2. ANTIBIOTICOS

Son sustancias químicas específicas derivadas o producidas por los organismos vivos que incluso en pequeñas concentraciones son capaces de inhibir los procesos vitales de otros organismos. Los antibióticos constituyen el grupo de medicamentos que se prescribe con mayor frecuencia; se emplean para los siguientes fines; a) tratamiento de infecciones sistémicas, circulatorias, respiratorias, urogenitales, gastrointestinales, oftálmicas, tejidos blandos, esqueléticos y tópicas; b) profilaxis de infecciones en sujetos sanos o enfermos; c) diagnóstico de malignidad.

La combinación trimetoprim-sulfametoxazol ejerce un verdadero efecto sinérgico sobre las bacterias. La sulfamida inhibe la utilización del ácido p-aminobenzoico en la síntesis del ácido fólico, mientras que el trimetoprim bloquea la conversión del ácido dihidrofólico en tetrahidrofólico por la enzima dihidrofolato reductasa. Así, pues, quedan bloqueados dos pasos consecutivos del metabolismo bacteriano.

El trimetoprim-sulfametoxazol es efectivo contra una amplia variedad de gérmenes grampositivos y gramnegativos. Las indicaciones principales radican en las infecciones agudas y crónicas del tracto urinario. Esta combinación también es eficaz en el tratamiento de los

procesos siguientes: fiebre tifoidea y paratifoidea, infecciones bacterianas del tracto respiratorio bajo, otitis media, gonorrea no complicada, paludismo vivax y falciparum e infecciones por *Shigella* y *P. carinii*.

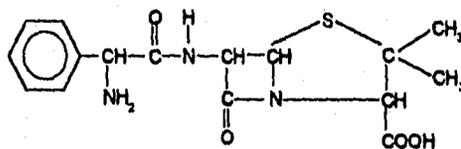
3.3.2.1. AMPICILINA

Nombre químico: D-(2-amino-2-fenilacetamida)-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo (3,2, 0)-heptano carboxílico-2.

Fórmula condensada: $C_{16}H_{19}O_4N_3S$

Masa molecular: 394.41 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo blanco o ligeramente amarillo.

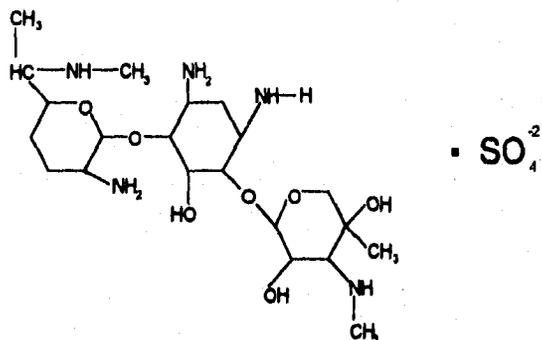
3.3.2.2. GENTAMICINA, SULFATO DE

Nombre químico: o-3-deoxi-4-C-metil-3-(metilamino)-β-L-arabinopiranosil-(1,6)-o-2,6-diamino-2,3,4,6-tetradeoxi-α-D-eritro-hexo-piranosil-(1-4))-2-deoxi-D-estreptamina.

Fórmula condensada: $C_{21}H_{43}N_5O_7S$

Masa molecular: 477.60 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo fino blanco.

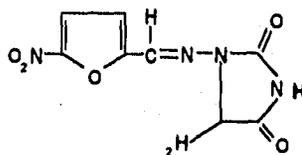
3.3.2.3. NITROFURANTOINA

Nombre químico: 2,4 Imidazolidinediona, 1-(((5-nitro-2 furanil)metileno)-amino).

Fórmula condensada: $C_8H_8N_4O_5$

Masa Molecular: 238.16 g/mol

Fórmula desarrollada



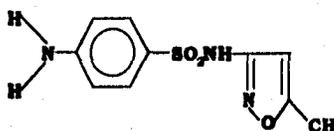
3.3.2.4. SULFAMETOXAZOL

Nombre químico: 4-amino-N-(5-metilisoxazolil-3) bencensulfonamida.

Fórmula condensada: $C_{10}H_{11}N_3O_3S$

Masa molecular: 253.31 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo.

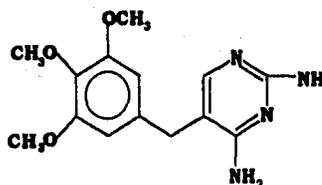
3.3.2.5. TRIMETOPRIM

Nombre químico: 2,4-diamino-5-(3',4',5'-trimetoxibencil) pirimidina.

Fórmula condensada: $C_{14}H_{18}N_4O_3$

Masa molecular: 290.32 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo blanco.

3.3.3. ANTIINFLAMATORIOS

La inflamación es un importante mecanismo para proteger al organismo, suele iniciarse por antígenos virales, bacterianos, protozoarios o micóticos, o bien por un traumatismo. La lesión celular que acompaña a la inflamación produce liberación de enzimas lisosomales de los leucocitos por una acción sobre las membranas celulares.

Generalmente existe una superposición entre los efectos inmunosupresores y antiinflamatorios de diversos fármacos. Por ejemplo, los corticoesteroides desarrollan ambas acciones.

La forma más simple de explicar esta superposición consiste en considerar que la agresión inmune conduce a inflamación como consecuencia de la actividad de las células inflamatorias. Los fármacos que reducen el número de esas células o que inhibe su actividad puede ejercer efectos tanto inflamatorios como aparentemente inmunosupresores. Los agentes citotóxicos inhiben la multiplicación de las células, mientras que los fármacos antiinflamatorios menos potentes quizás ejerzan efectos más sutiles sobre las células inflamatorias o bloqueen las acciones de sus productos. Desde el punto de vista teórico, los agentes antiinflamatorios pueden bloquear la acción de los factores leucotácticos sobre las células inflamatorias, o inhibir la elaboración de mediadores por parte de esas células.

También es posible que bloqueen la acción de los mediadores. Las teorías simples, como la basada en la estabilización de los lisosomas no son suficientes para explicar las amplias diferencias en el espectro de actividad de los diversos tipos de fármacos antiinflamatorios. (38, 39)

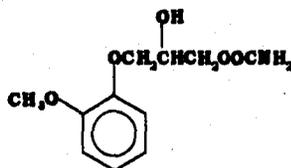
3.3.3.1. METOCARBAMOL

Nombre químico: 3-(o-metoxifenoxi)-1,2-propanodiol-carbamato-1.

Fórmula condensada: $C_{11}H_{15}NO_5$

Masa molecular: 241.24 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo cristalino blanco.

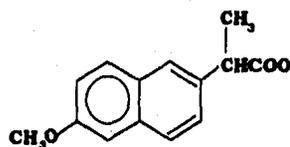
3.3.3.2. NAPROXEN

Nombre químico: 2-ácido naftalenacético, 6-metoxi- α -metil, (+).

Fórmula condensada: $C_{14}H_{14}O_3$

Masa molecular: 230.26 g/mol.

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo cristalino blanco.

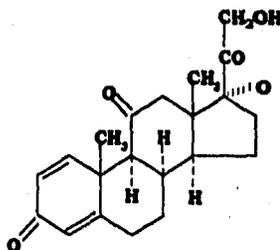
3.3.3.3. PREDNISONA

Nombre químico: 1,4-pregnadienol-17- α , 21-triona-3,11,20.

Fórmula condensada: C₂₁H₂₈O₅

Masa molecular: 358.44 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo blanco amorfo.

3.3.4. PSICOTROPICOS

El término antipsicóticos es uno de los varios aplicados a un grupo de medicamentos que han sido usados principalmente para tratar la esquizofrenia, aunque también han probado su eficacia en la terapéutica de algunas otras psicosis. El término preferido en Europa es *neurolépticos*, connotando la capacidad de estos agentes para afectar los diversos sistemas integrados del cerebro, incluyendo la propiedad de producir trastornos del movimiento. El término *tranquilizantes mayores* afortunadamente a caído en desuso, ya que origina confusión entre estos medicamentos y los tranquilizantes menores, con los cuales tienen sólo una ligera similitud.

Una selección racional de medicamentos antipsicóticos puede basarse en las diferencias que se observan tanto entre las estructuras químicas, como entre las asistencias farmacológicas, ya que las desemejanzas de los grupos entre si son mayores que las existentes dentro de ellos. Por lo tanto, podría seleccionarse el miembro que se conozca de cada una de las tres subfamilias de fenotiazinas, así como de los grupos del tioxanteno y butirofenona. (36, 39)

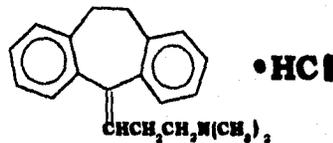
3.3.4.1. AMITRIPTILINA CLORHIDRATO DE

Nombre químico: 5-(3-dimetilaminopropiliden)-dibenzo (a-d)-1,4-cicloheptadieno, clorhidrato de.

Fórmula condensada: $C_{20}H_{23}N \cdot HCl$

Masa molecular: 313.87 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo.

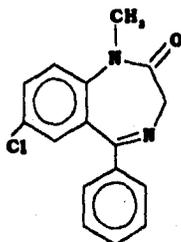
3.3.4.2. DIAZEPAM

Nombre químico: 7-cloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepinona-2.

Fórmula condensada: $C_{16}H_{13}ClN_2O$

Masa molecular: 284.74 g/mol.

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo cristalino blanco.

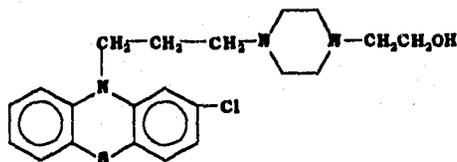
3.3.4.3. PERFENAZINA

Nombre químico: 2-cloro-10 (3-(4-(2-hidroxietil) piperazinil-1) propil) fenotiazina.

Fórmula condensada: $C_{21}H_{28}ClN_3OS$

Masa molecular: 403.97 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo fino blanco.

3.3.5. ANTIHIPERTENSIVOS

Todos los agentes antihipertensivos actúan en uno o más de los cuatro sitios anatómicos de control y producen sus efectos interfiriendo en los mecanismos de regulación de la presión arterial. Una clasificación útil de estos agentes los coloca de acuerdo al sitio o mecanismo regulatorio principal sobre el cual actúan. Debido a sus mecanismos comunes de acción, los medicamentos dentro de cada categoría tienden a producir una variedad semejante de efectos tóxicos. Las categorías son las siguientes:

1. Diuréticos, que reducen la presión arterial disminuyendo el sodio del organismo y reduciendo el volumen circundante.
2. Agentes simpaticolíticos, que reducen la presión arterial al disminuir la resistencia vascular periférica, inhibiendo la función cardíaca e incrementando el depósito venoso en los vasos capacitantes.
3. Vasodilatadores directos, que reducen la presión al relajar la musculatura lisa vascular, dilatando así los vasos que ofrecen resistencia y en grados variables incrementando también la capacitancia.
4. Agentes que bloquean la acción de la angiotensina y por lo tanto reducen la resistencia vascular periférica y el volumen sanguíneo. (36, 38, 39)

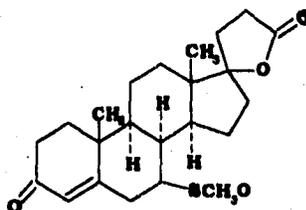
3.3.5.1. ESPIRONOLACTONA

Nombre químico: γ -lactona de ácido 3-(3-oxo-7- α -acetililo-17- β -hidroxi-4-androsten-17- α -il) propiónico.

Fórmula condensada: $C_{24}H_{32}O_4S$

Masa molecular: 416.60 g/mol

Fórmula desarrollada.



Apariencia: Polvo fino blanco.

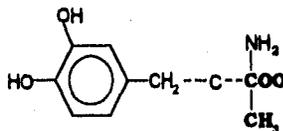
3.3.5.2. α - METILDOPA

Nombre químico: Ácido L-2-amino-2-metil-3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico.

Fórmula condensada: $C_{10}H_{13}NO_4$

Masa molecular: 211.21 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo.

3.3.6. DIURETICOS

Son agentes que aumentan la velocidad de formación de la orina. En el uso común el término diuresis tiene dos connotaciones diferentes; una se refiere al aumento del volumen de orina por se y la otra a la pérdida neta de soluto y agua. En algunos casos el mantenimiento de un volumen suficiente de orina justifica por si sólo el uso de diuréticos, pero sin duda la indicación más importante es con mucho la movilización del líquido del edema, es decir produce un balance negativo del líquido de modo tal que se normalice el volumen extracelular.

Casi todos los diuréticos actúan directamente sobre el riñón y con pocas excepciones sobre la función tubular y no glomerular. (37, 39)

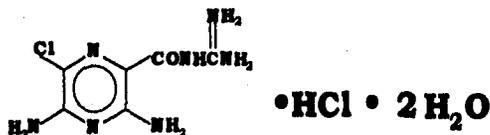
3.3.6.1. AMILORIDA CLORHIDRATO

Nombre químico: 3,5-diamino-N-(aminoiminometil-6-cloropirazin carboxamida), clorhidrato de

Fórmula condensada: $C_6H_8ClN_7O \cdot HCl \cdot 2H_2O$

Masa molecular: 302.12 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo amarillo o amarillo verdoso.

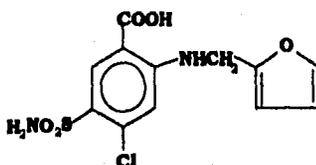
3.3.6.2. FUROSEMIDA

Nombre químico: Acido 5-(aminosulfonyl)-4-cloro-2-((2-furanilmetil) amino) benzoico.

Fórmula condensada: $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$

Masa molecular: 330.75 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo aglomerado ligeramente amarillo, higroscópico..

3.3.7. ESTEROIDES

Los andrógenos son sintetizados en los testículos, ovarios y la corteza adrenal. En la circulación los andrógenos actúan como prohormonas para la formación de dos clases de esteroides: andrógenos 5 alfa-reducidos, los cuales actúan como mediadores intracelulares de la mayor parte de los efectos hormonales, y los estrógenos, los cuales incrementan algunos efectos androgénicos y anulan otros. Por lo tanto el efecto neto de la acción de los andrógenos endógenos es la suma de los efectos de la hormona secretada (testosterona), de su metabolito 5 alfa-reducido (dihidrottestosterona) y de su derivado estrogénico (estradiol). (36, 39)

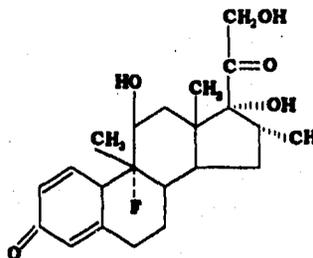
3.3.7.1. DEXAMETASONA

Nombre químico: 9- α -fluoro- 11- β ,17- α , 21-trihidroxi-16- α -metil
pregnadien-1,4-diona-3,20

Fórmula condensada: $C_{22}H_{29}FO_5$

Masa molecular: 392.47 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo.

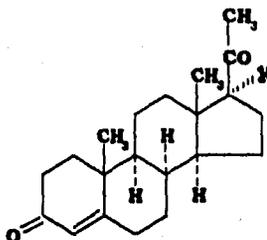
3.3.7.2. PROGESTERONA

Nombre químico: 4-pregnen diona-3,20.

Fórmula condensada: $C_{21}H_{30}O_2$

Masa molecular: 314.50 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo cristalino blanco.

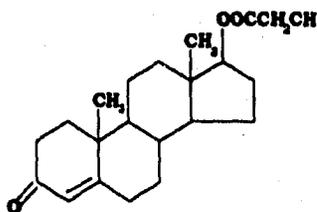
3.3.7.3. TESTOSTERONA, PROPIONATO DE

Nombre químico: 17-β-propionato de Δ⁴-androsterona-3.

Fórmula condensada: C₂₂H₃₂O₃

Masa molecular: 344.50 g/mol

Fórmula desarrollada:



Apariencia: Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo, estable al aire.

4. OBJETIVOS

4. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad fisicoquímica de 20 Sustancias Químicas de Referencia existentes en el Laboratorio Nacional de Salud Pública con base a los criterios de estabilidad propuestos por la Organización Mundial de la Salud.

4.1. OBJETIVOS PARTICULARES

4.1.1. Evaluar la estabilidad fisicoquímica de 20 Sustancias Químicas de Referencia de interés para la Industria Farmacéutica Mexicana.

4.1.2. Delimitar y actualizar la metodología analítica para la evaluación de dichas Sustancias Químicas de Referencia de acuerdo a las especificaciones oficiales.

5. HIPOTESIS

5. HIPOTESIS

Considerando las características de pureza de una Sustancia Química de Referencia, se espera que las 20 sustancias a estudiar mantengan su calidad con respecto al tiempo comparadas con una Sustancia Química Internacional de Referencia.

6. MATERIAL Y METODOS

6. MATERIAL Y METODOS

6.1. MATERIAL

- Matraz volumétrico bajo actínico de 10, 25, 50 y 100 ml.
- Matraz volumétrico de 10, 100, 200, 250, 500, 1000 y 2000 ml.
- Microburetas de 5 y 10 ml.
- Pesafiltros de forma baja.
- Desecador con entrada para vacío.
- Desecador bajo actínico.
- Matraz erlenmeyer de 125, 250 y 4000 ml.
- Pipetas volumétricas de 0.5, 1, 2, 4, 5, 7, 10 y 25 ml,
- Pipetas graduadas de 5, 10 y 25 ml.
- Probetas de 10, 25, 50, 100 y 1000 ml.
- Matraz kitasato de 500 y 1000 ml.
- Embudo Büchner.
- Embudo de separación de 125 y 250 ml.
- Cámaras de elución 20 X 20.
- Parrillas de agitación y calentamiento.
- Vasos de precipitados de 10, 30, 50, 100, 250 y 500 ml.
- Microjeringas de 10, 25 y 50 μ l.
- Placas cromatográficas de 20 X 20 GF 254 Merck.
- Placas cromatográficas con zona de concentración Merck.
- Cajas petri con tapa de porcelana.
- Penicilindros.
- Pipetas Pasteur.
- Mechero Fisher.

6.1.1. EQUIPO

- Estufa analítica Caisa Alleyl B-1203.
- Colocador de penicilindros CRAFT INSTRUMENTOS.

- Lámpara de luz ultravioleta.
- Autoclave Revco West Columbia SC-29169.
- Horno Caisa Alley B-1269.
- Incubadora Caisa Alley B-1242.

6.1.2. INSTRUMENTOS

- Balanza analítica Sartorius Mettler H10W 2842.
- Balanza granataria Brainweigh B300 Ohaus.
- Potenciómetro Beckman 71 pH meter, Beckman 4500 pH meter.
- Medidor de halos Fisher Lilly Antibiotic Zone Reader.
- Espectrofotómetro UV/VIS Beckman DU 600.
- Karl Fischer. Titrator Beckman Mettler DL 18.
- Espectrofotómetro infrarrojo Perkin Elmer 599.
- Cromatógrafo de líquidos Hitachi-Merck, L-4250 UV-VIS detector, L-6200A intelligent pump, D-2500 chromato-integrator.

6.1.3. REACTIVOS

- Acido acético glacial
- Anhídrido acético
- Acido clorhídrico
- Acido sulfúrico
- Acido fórmico
- Hidróxido de amonio
- Dimetilformamida
- Cristales de yodo
- Bifalato de potasio
- Bromuro de potasio grado espectro.
- Acido cítrico
- Acetona
- Acetonitrilo

- Butanol
- Cloroformo
- Etanol
- Benceno
- Dioxano
- Eter dietílico
- Eter de petróleo
- Tolueno
- Tetrahidrofurano
- Metanol
- Acetato de etilo
- Hexano
- Heptano
- Diclorometano
- Propanol

*Todos los reactivos y disolventes empleados fueron de proveedor Merck grado analítico y HPLC.

6.1.4. SOLUCIONES

- Hidróxido de sodio 0.1, 0.01 y 0.02 N
- Acido perclórico 0.1 N
- Acido clorhídrico 0.1 N
- Cloruro de bario 3 N
- Acetato mercurico al 10%
- Cristal violeta al 1% en ácido acético
- Azul de timol al 1% en etanol
- Fenolftaleína al 1% en etanol
- Azul de bromotimol en dimetilformamida al 1%
- Clorhidrato de azul de nilo al 1% en etanol
- Azul de tetrazolio alcalino

- Solución de cloruro férrico y ferrocianuro de potasio
- Timolftaleína al 1% en etanol
- Hidróxido de tetrabutilamonio 0.1 N
- Solución de acetato de amonio
- Solución reveladora Dragendorff

6.2. METODOLOGIA

En la evaluación de las Sustancias Químicas de Referencia, se llevaron acabo las pruebas y los métodos analíticos empleados durante su establecimiento considerando las especificaciones oficiales y en algunos casos de proveedores. Algunas técnicas fueron actualizadas de acuerdo a las publicaciones oficiales para, de esta manera, apoyar las determinaciones iniciales y comprobar la posible degradación física o química que presentaron con respecto al tiempo.

6.2.1. PRUEBAS Y METODOS ANALITICOS EFECTUADOS

- Apariencia
- Pérdida por secado
- Determinación del contenido agua

- Pureza cromatográfica
- Valoración
- Identificación
- Potencia microbiológica

Las pruebas y métodos analíticos se realizaron de acuerdo a las bibliografías: FEUM 4a, 5a y 6a edición; USP XX, XXI, XXII y XXIII; B.P. 1980 y 1988; Farmacopea Internacional 1982; The Pharmaceutical Codex 1980.

6.2.2. SUSTANCIAS QUIMICAS DE REFERENCIA ANALIZADAS

Las Sustancias de Referencia analizadas fueron seleccionadas de acuerdo a la demanda de consumo por parte de la industria farmacéutica y a su vez agrupadas en función de su actividad terapéutica.

GRUPO I ANTIESPASMÓDICOS

- * Atropina, Sulfato de
- * Homatropina, Metil Bromuro de

GRUPO II
ANTIBIOTICOS

- * Ampicilina
- * Gentamicina, Sulfato de
- * Nitrofurantoina
- * Sulfametoxazol
- * Trimetoprim

GRUPO III
ANTINFLAMATORIOS

- * Metocarbamol
- * Naproxén
- * Prednisona

GRUPO IV
PSICOTROPICOS

- * Amitriptilina, Clorhidrato de
- * Diazepam
- * Perfenazina

GRUPO V
ANTIHIPERTENSIVOS

* Espironolactona

* α - Metildopa

GRUPO VI
DIURETICOS

* Amilorida Clorhidrato

* Furosemda

GRUPO VII
ESTEROIDES

* Dexametasona

* Progesterona

* Testosterona, Propionato de

7. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

7. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

7.1. ANTIESPASMÓDICOS

PRUEBA	RESULTADO	LÍMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco.
PERDIDA POR SECADO	3.6529 por ciento.	Entre 2.5 y 4.0 por ciento.
PUREZA	99.2328 por ciento. C.V. 0.21059 %	No menos del 98.5 y no más del 101.25 por ciento
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA I. ATROPINA, SULFATO DE

Para la evaluación del sulfato de atropina, debido al contenido de agua que posee, resultó indistinto realizar el método de pérdida por secado que la titulación por el método de Karl-Fischer por el cual se obtuvo un resultado de 3.6158 por ciento, ya que se pretendió cuantificar únicamente la cantidad de agua presente en la sustancia. La valoración se realizó en medio no acuoso empleando ácido perclórico 0.1N no mostrando variación significativa (apéndice A). La identificación por espectroscopía infrarroja corresponde a lo establecido en el certificado de análisis inicial (Fig. 1, apéndice B).

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco.
PERDIDA POR SECADO	0.1422 por ciento.	No mas del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.6966 por ciento. C.V. 0.46841 %	No menos del 99.48 y no más del 99.93 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA II. HOMATROPINA, METIL BROMURO DE

Para la determinación de Sustancias Relacionadas en el metil bromuro de homatropina fue necesario evaluar diferentes sistemas de elución con la finalidad de obtener una mejor resolución, ya que la técnica propuesta presentó problemas de retención de la muestra y Rf muy pequeños siendo difícil realizar una comparación. El sistema más adecuado fue: Fase móvil: cloroformo:acetona:dimetilformamida (5:4:1) y como disolvente Metanol. La valoración se realizó en medio no acuoso empleando ácido perclórico 0.1N no observándose variación significativa (apéndice A). Su identificación por infrarrojo fue positiva y se reporta en la figura 2, apéndice B.

7.2. ANTIBIOTICOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco.
PERDIDA POR SECADO	0.0100 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
POTENCIA	1000.9753 µg/mg C.V. 0.01531 %	No menos de 950 y no más de 1050 µg/mg
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA III. AMPICILINA

Los resultados obtenidos en las pruebas de pureza, permitieron conocer su estabilidad con respecto al tiempo, ya que, dicha sustancia fue establecida en el año de 1977 sin ser modificada de su envase primario ni el lote lo cual indica que las condiciones de almacenaje son adecuadas para su conservación (apéndice A). En la determinación de la pureza cromatográfica fue necesario eliminar el hidróxido de amonio de la fase móvil, esto para evitar el arrastre de las manchas; siendo necesario saturar la fase con el mismo por 24 horas. Su identificación infrarroja correspondió a lo establecido en la bibliografía (Fig. 3, apéndice B).

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo blanco, higroscópico	Polvo blanco o ligeramente amarillo, higroscópico.
PERDIDA POR SECADO	17.4587 por ciento.	No más del 18 por ciento.
POTENCIA	748.8594 $\mu\text{g}/\text{mg}$ C.V. 0.85628 %	No menos de 583.83 $\mu\text{g}/\text{mg}$ y no más de 996.56 $\mu\text{g}/\text{mg}$.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA IV. GENTAMICINA, SULFATO DE

Para la determinación de sustancias relacionadas y la separación de las tres fracciones características de la gentamicina, fue necesario cambiar la metodología propuesta en el Code Federal Regulations, recomendando una saturación de la cámara con hidróxido de amonio por 24 horas, además de preparar la fase móvil 24 horas antes de su uso y eliminar la fase acuosa. La evaluación de la potencia no presentó cambios significativos con respecto al valor inicial (apéndice A). La identificación infrarroja no presentó problemas correspondiendo a lo reportado (fig. 4, apéndice B).

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo fino de color amarillo.	Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo.
PERDIDA POR SECADO	0.0885 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.8537 por ciento. C.V. 0.75109 %	No menos del 98.0 y no más del 102.0 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA V. NITOFURANTOINA

Al efectuar el análisis de la Nitrofurantoína fue importante conservar la muestra protegida de la luz debido a la fotosensibilidad de la sustancia y no afectar de este modo los resultados de pureza evaluada por método espectrofotométrico (apéndice A). De acuerdo a la cromatografía en capa delgada la Nitrofurantoína no presentó productos de degradación y la prueba de espectroscopía infrarroja correspondió a lo esperado (Fig. 5, apéndice B).

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo.
PERDIDA POR SECADO	0.0060 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.3948 por ciento. C.V. 0.87674 %	No menos del 98.5 y no más del 101.0 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA VI. SULFAMETOXAZOL

Al efectuar el análisis del Sulfametoxazol fue importante conservar la muestra protegida de la luz debido a la fotosensibilidad de la sustancia y no afectar de este modo los resultados de pureza evaluada por método espectrofotométrico (apéndice A). De acuerdo a la cromatografía en capa delgada realizada el Sulfametoxazol no presentó productos de degradación y la prueba de espectroscopía infrarroja correspondió a lo esperado (Fig. 6, apéndice B).

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo blanco.	Polvo blanco.
PERDIDA POR SECADO	0.0502 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.4380 por ciento. C.V. 0.32348 %	No menos del 98.5 y no más del 101.0 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA VI. TRIMETOPRIM

Para evaluar la pureza, se llevaron a cabo dos métodos de valoración, la titulación en medio no acuoso con ácido perclórico dando un resultado de 99.31254 por ciento y el reportado en la USP XXIII por cromatografía de líquidos de alta resolución reportada en la tabla VII, ambas proporcionaron resultados satisfactorios con respecto al inicial (apéndice A). Para ambos métodos fue necesario mantener la sustancia protegida de la luz y evitar de esta forma que se vieran afectados los resultados. Su espectro infrarrojo no presentó problemas y se reporta en la figura 7, apéndice B.

7.3. ANTIINFLAMATORIOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco.
PERDIDA POR SECADO	0.1528 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.9953 por ciento. C.V. 1.16112 %	No menos del 98.69 y no más del 101.58 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA VIII. METOCARBAMOL

Para la identificación de la sustancia se realizaron los métodos de espectroscopía infrarroja y la espectroscopía ultravioleta, ambos métodos proporcionaron resultados que correspondieron a lo reportado en la bibliografía, en este caso, sólo se reporta el obtenido por espectroscopía infrarroja (fig. 8, apéndice B) por uniformizar resultados. La pureza se evaluó por método espectrofotométrico mostrando poca variación en relación al valor inicial (apéndice A).

RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco.
PERDIDA POR SECADO	0.0913 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.5680 por ciento. C.V. 1.67140 %	No menos del 99.42 y no más del 100.78 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA IX. NAPROXEN

En la valoración de la sustancia se empleó el método volumétrico con Hidróxido de sodio 0.1 M, para ello fue necesario controlar la formación de carbonatos en la solución además de controlar la humedad en el momento de la titulación; los resultados obtenidos presentaron gran similitud con los reportados inicialmente en el certificado de análisis original (apéndice A). En la determinación de pureza cromatográfica se manejaron concentraciones desde 10 µg hasta 50 µg para conocer la resolución del método. Su espectro infrarrojo se muestra en la figura 9, apéndice B.

RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo blanco.	Polvo blanco amorfo.
PERDIDA POR SECADO	0.3995 por ciento.	No más del 1.0 por ciento.
PUREZA	99.8441 por ciento. C.V. 0.49379 %	No menos del 99.30 y no más del 100.61 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA X. PREDNISONA

La identificación de un fármaco es una prueba más de la pureza de éste. La prednisona, perteneciente al grupo de los antiinflamatorios, presentaba la posibilidad de identificarla por medio de espectroscopia infrarroja o ultravioleta; se realizaron ambos métodos, sin embargo por uniformizar resultados, únicamente se expone el espectro Infrarrojo en la figura 10. En este caso ambos resultados correspondieron con la referencia. La pureza se evaluó por método espectrofotométrico sin presentar variación significativa con respecto al valor inicial (apéndice A).

7.4. PSICOTROPICOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco.
PERDIDA POR SECADO	0.0765 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.7350 por ciento. C.V. 0.24434 %	No menos del 97.70 y no más del 101.45 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA XI. AMITRIPTILINA, CLORHIDRATO DE

La evaluación de la sustancia no presentó ningún problema, sin embargo para la determinación de la pureza cromatográfica fue necesario saturar la fase móvil de hidróxido de amonio:benceno:dioxano (5:60:35) durante 24 horas eliminando la fase acuosa. Se trató de conocer el límite de detección realizando para ello 7 aplicaciones a distintas concentraciones desde 40 µg hasta 400 µg dada la baja resolución encontrándose que la concentración más adecuada es de no menos de 40 µg y no más de 200 µg. Su espectro infrarrojo se muestra en la figura 11, apéndice B.

RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco.
PERDIDA POR SECADO	0.0512 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.5071 por ciento. C.V. 0.60182 %	No menos del 99.43 y no más del 100.42 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA XII. DIAZEPAM

Para la prueba de sustancias relacionadas se emplearon dos sistemas de elución acetato de etilo:heptano y acetato de etilo:hexano, obteniéndose una mejor resolución con el sistema acetato de etilo:heptano en proporción 1:1; no se presentaron productos de degradación. La valoración cumple con las especificaciones así como la identificación por espectroscopía infrarroja reportada en la figura 12, apéndice B.

RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo fino blanco.	Polvo fino o cristales blancos.
PERDIDA POR SECADO	0.1384 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	100.2709 por ciento. C.V. 0.17712 %	No menos del 99.98 y no más del 100.50 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA XIII. PERFENAZINA

El análisis experimental de la perfenazina muestra datos congruentes con respecto a lo establecido en su análisis inicial encontrándose que la sustancia posee sus características inalterables para así seguir empleándose como Sustancia Química de Referencia, ya que su valoración inicial no se ha visto modificada a través del tiempo (apéndice A). En la evaluación de sustancias relacionadas no se encontraron productos de degradación y la identificación por infrarrojo corresponde a lo establecido teóricamente (fig. 13, apéndice B).

7.5. ANTIHIPERTENSIVOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo fino blanco.	Polvo fino blanco.
PERDIDA POR SECADO	0.4451 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.9046 por ciento. C.V. 0.96927 %	No menos del 99.18 y no más del 101.43 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA XIV. ESPIRONOLACTONA

Dicha sustancia, que pertenece al grupo de los antihipertensivos, mostró un comportamiento estable considerando todos los análisis practicados y el tiempo desde su establecimiento (apéndice A). En la evaluación de sustancias relacionadas no se observaron productos de degradación y la identificación infrarroja corresponde a lo establecido en la bibliografía (fig. 14,apéndice B).

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco, o ligeramente amarillo.
CONTENIDO DE AGUA	11.2385 por ciento.	No menos del 10.0 y no más del 13.0 por ciento.
PUREZA	99.9920 por ciento. C.V. 0.42532 %	No menos del 99.35 y no más del 100.82 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia

TABLA XV. METILDOPA

En la determinación de sustancias relacionadas se presentó el problema de sustituir tanto la fase estacionaria de celulosa como la fase móvil de butanol:ácido acético:agua (65:15:25) inicialmente propuestas ya que la muestra era retenida y desplazada no lográndose la separación de los posibles productos de degradación, para lo cual se llegó a la conclusión de que la fase móvil adecuada para lograr lo anterior fue la compuesta por ácido cítrico en solución (0.48g en 13 ml de agua) :butanol (13:87) y como fase estacionaria placa de sílica gel GF 254 Merck, además de no utilizar concentraciones mayores a 20 µg; la placa se reveló con solución de Dragendorff. Su identificación por espectroscopía infrarroja corresponde a lo establecido en la bibliografía (fig.15, apéndice B).

7.6. DIURETICOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo amarillo.	Polvo amarillo o amarillo verdoso.
CONTENIDO DE AGUA	12.8582 por ciento.	No menos del 11.0 y no más del 13.0 por ciento.
PUREZA	99.5500 por ciento. C.V. 1.5369 %	No menos del 99.54 y no más del 100.42 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA XVI. AMILORIDA, CLORHIDRATO DE

Para la prueba de pérdida al secado se emplearon muestras de 150 y 190 mg prolongando el calentamiento por 5 días hasta obtener la muestra a peso constante ya que se encontró que al emplear muestras mayores se obtenían datos poco congruentes que comparados con los obtenidos con la prueba de contenido de agua por Karl Fischer no presentaban relación alguna. La identificación por espectroscopía infrarroja corresponde a lo ya establecido en el certificado de análisis. Se presenta en la figura 16, apéndice B.

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo aglomerado ligeramente amarillo, higroscópico.	Polvo aglomerado ligeramente amarillo, higroscópico.
PERDIDA POR SECADO	0.0487 por ciento.	No más del 1.0 por ciento.
PUREZA	100.2200 por ciento. C.V. 0.64278 %	No menos del 96.70 y no más del 100.42 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA XVII. FUROSEMIDA

Para la valoración de la sustancia se llevaron a cabo dos métodos, el volumétrico donde se obtuvo un valor de 99.14228 por ciento y el espectrofotométrico, esto debido a que en el momento del establecimiento de la misma se desarrollaron ambos métodos por lo que fue necesario elegir entre ellos, encontrándose que el análisis espectrofotométrico proporcionó datos más reproducibles (apéndice A). Su espectro infrarrojo corresponde a lo esperado y se reporta en la figura 17, apéndice B.

7.7. ESTEROIDES

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo.
PERDIDA POR SECADO	0.2512 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.6990 por ciento. C.V. 0.50649 %	No menos del 96.0 y no más del 104.0 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA XVIII. DEXAMETASONA

La evaluación de la dexametasona no presentó ningún problema; en la determinación de las sustancias relacionadas no se observaron otras fracciones distintas a la referencia y del mismo modo la valoración no presentó variación significativa a la mostrada en su certificado original de análisis (apéndice A). La identificación por espectroscopía infrarroja correspondió a lo esperado teóricamente (fig. 18, apéndice B).

RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco.
PERDIDA POR SECADO	0.0204 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	99.6424 por ciento. C.V. 1.54361 %	No menos del 99.52 y no más del 100.68 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA XIX. PROGESTERONA

Las pruebas de pérdida por secado y sustancias relacionadas no presentaron problemas durante su evaluación, y ambas no muestran variación significativa al certificado de análisis original expedido durante su establecimiento (apéndice A), la valoración mostró un coeficiente de variación pequeño por lo que el resultado mostrado es de una alta confiabilidad. La identificación por espectroscopía infrarroja corresponde y se muestra en la figura 19, apéndice B.

PRUEBA	RESULTADO	LIMITE
APARIENCIA	Polvo cristalino blanco.	Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo, estable al aire.
PERDIDA POR SECADO	0.1167 por ciento.	No más del 0.5 por ciento.
PUREZA	100.0939 por ciento. C.V. 0.40167 %	No menos del 99.87 y no más del 100.12 por ciento.
SUSTANCIAS RELACIONADAS	Cumple	No presentar fracciones distintas a la referencia.
ESPECTRO INFRARROJO	Corresponde	Exhibir máximos y mínimos a la misma longitud de onda que la referencia.

TABLA XX. TESTOSTERONA PROPIONATO

Este esteroide muestra un comportamiento estable considerando los análisis practicados. En la evaluación de las sustancias relacionadas no se obtuvieron productos de degradación y la identificación por espectroscopía infrarroja corresponde a lo establecido en la bibliografía, se muestra en la figura 20, apéndice B.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Al evaluar los resultados obtenidos durante el análisis de 20 Sustancias Químicas de Referencia establecidas en el Laboratorio Nacional de Salud Pública, se detectó, que a pesar del tiempo transcurrido desde el momento de su establecimiento a la fecha estas no han presentado cambios significativos en sus propiedades fisicoquímicas, aunque es importante hacer hincapié sobre la importancia que tiene la elección de los diferentes métodos analíticos necesarios para la evaluación fisicoquímica de estas; en algunos casos existió la problemática de elegir entre dos métodos de valoración debido principalmente a la capacidad de recursos existentes en los diferentes laboratorios colaboradores durante su establecimiento, por lo que fue necesario realizar ambas técnicas y actualizarlas.

La técnica de cromatografía en capa delgada resultó ser el método más apropiado para la detección de los posibles productos de degradación de las sustancias en cuestión, en algunos casos proporciono datos importantes acerca de la pureza de las sustancias.

Los métodos de pérdida por secado, determinación del contenido de agua por Karl Fischer y apariencia no dejan de ser importantes, ya que nos proporcionan bases para decidir si la sustancia en cuestión conserva sus propiedades fisicoquímicas además de evaluar sus condiciones de almacenaje.

El método de identificación por espectroscopía infrarroja se considera de suma importancia puesto que nos proporciona un criterio más amplio para confirmar la idoneidad de las Sustancias de Referencia.

Por lo tanto, el presente trabajo experimental permitió conocer la calidad de las Sustancias de Referencia evaluadas con respecto al tiempo y emitir de esta forma las observaciones pertinentes para la aprobación o rechazo de los lotes.

8. CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

1. De acuerdo a los lineamientos de estabilidad propuestos por la Organización Mundial de la Salud y el programa de análisis periódico implantado por el Laboratorio Nacional de Salud Pública, las 20 Sustancias de Referencia cumplen con la calidad requerida para ser empleados como tales.

Ahora bien, todos y cada uno de los resultados obtenidos para cada una de las sustancias analizadas proporcionaron información acerca de la importancia que tienen las condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad, tipo de envase primario, exposición a la luz), en este caso, tales condiciones resultaron óptimas ya que no se observó degradación significativa en ellas.

2. Dada la importancia de una Sustancia Química de Referencia como comparación dentro de la industria farmacéutica, es necesario resaltar la importancia de cada uno de los métodos analíticos llevados a cabo durante su establecimiento y su reevaluación, así como las condiciones de almacenaje y manejo de las mismas ya que de todo ello depende el aprovechamiento total y seguro de dichas sustancias, dentro del laboratorio, llevando todo ello a un aumento en la calidad productiva al proporcionar resultados exactos precisos y reproducibles.

Los diferentes métodos analíticos indicativos de estabilidad propuestos durante su establecimiento se actualizaron de acuerdo a las publicaciones oficiales (diferentes Farmacopeas) proporcionándose datos con una alta confiabilidad.

9. SUGERENCIAS

9. SUGERENCIAS

- 1. Periódicamente efectuar una revisión bibliográfica para cada una de las sustancias para así mantener actualizadas las diferentes metodologías requeridas para su evaluación fisicoquímica.**
- 2. Dar continuidad al programa ya establecido en el Laboratorio Nacional de Salud Pública para la evaluación de la estabilidad fisicoquímica de cada Sustancia Química de Referencia por lo menos cada seis meses.**
- 3. Concluir si la Sustancia Química de Referencia cumple con las especificaciones fisicoquímicas requeridas para su uso o en su defecto proponer si es necesario el reemplazo del lote.**
- 4. Se recomienda realizar nuevamente la identificación por espectroscopía infrarroja ya que, como se muestra en el apéndice B, la resolución del aparato no fue la más apropiada además de presentar demasiado ruido.**

APENDICES

APENDICE A

SUSTANCIA QUIMICA DE REFERENCIA	AÑO DE ESTABLECIMIENTO	PUREZA/POTENCIA INICIAL
ATROPINA, SULFATO DE	1986	100.60 por ciento
HOMATROPINA, METILBROMURO DE	1986	99.70 por ciento
AMPICILINA	1977	1004.00 µg/mg
GENTAMICINA, SULFATO DE	1986	755.20 µg/mg
NITROFURANTOINA	1991	100.00 por ciento
SULFAMETOXAZOL	1981	99.70 por ciento
TRIMETOPRIM	1981	99.70 por ciento
METOCARBAMOL	1986	100.10 por ciento
NAPROXEN	1989	100.10 por ciento
PREDNISONA	1986	100.00 por ciento
AMITRIPTILINA, CLORHIDRATO DE	1987	99.60 por ciento
DIAZEPAM	1984	99.90 por ciento
PERFENAZINA	1991	100.00 por ciento
ESPIRONOLACTONA	1987	100.00 por ciento
METILDOPA	1987	100.00 por ciento
AMILORIDA CLORHIDRATO, DE	1987	99.98 por ciento
FUROSEMIDA	1986	99.30 por ciento
DEXAMETASONA	1987	100.00 por ciento
PROGESTERONA	1986	100.00 por ciento
TESTOSTERONA PROPIONATO	1991	100.00 por ciento

TABLA XXI. VALOR INICIAL PUREZA/POTENCIA

APENDICE B

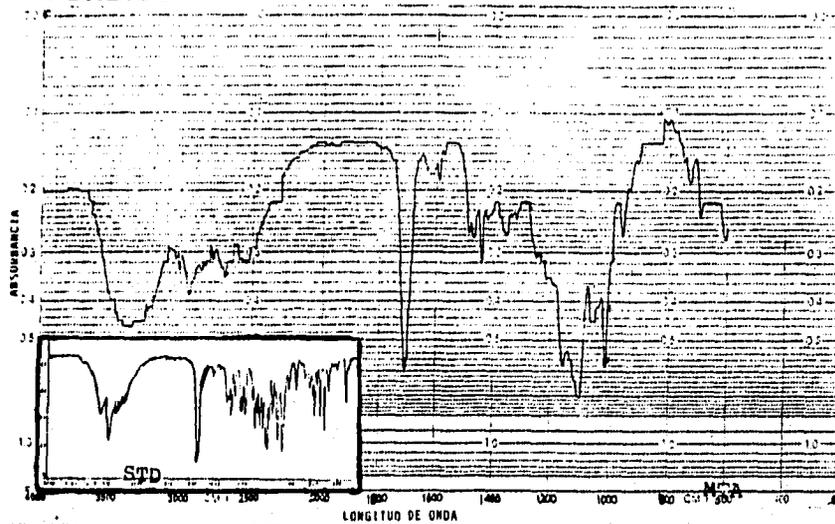


FIG. 1. ATROPINA, SULFATO DE

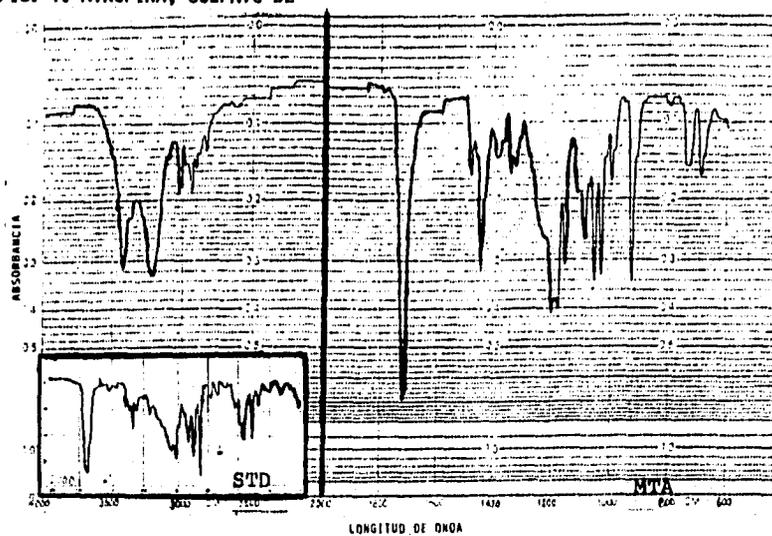


FIG. 2. HOMATROPINA, METILBROMURO DE

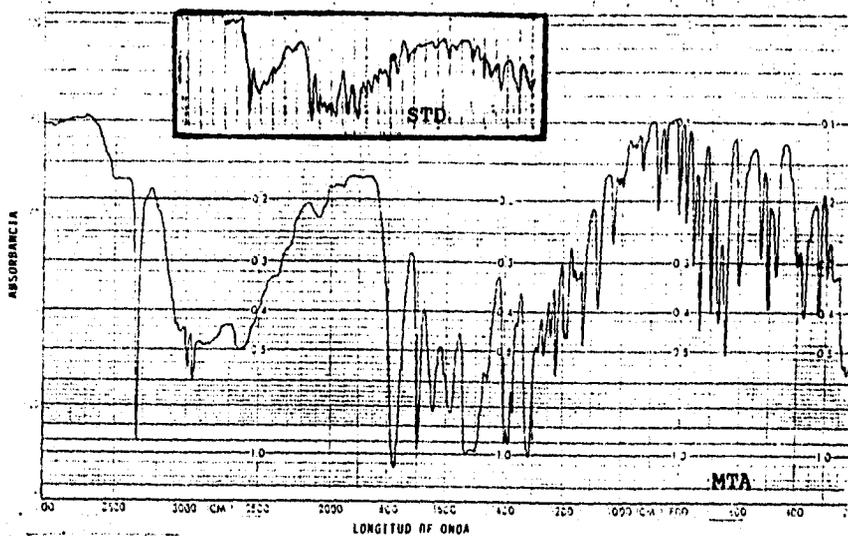


FIG. 3. AMPICILINA

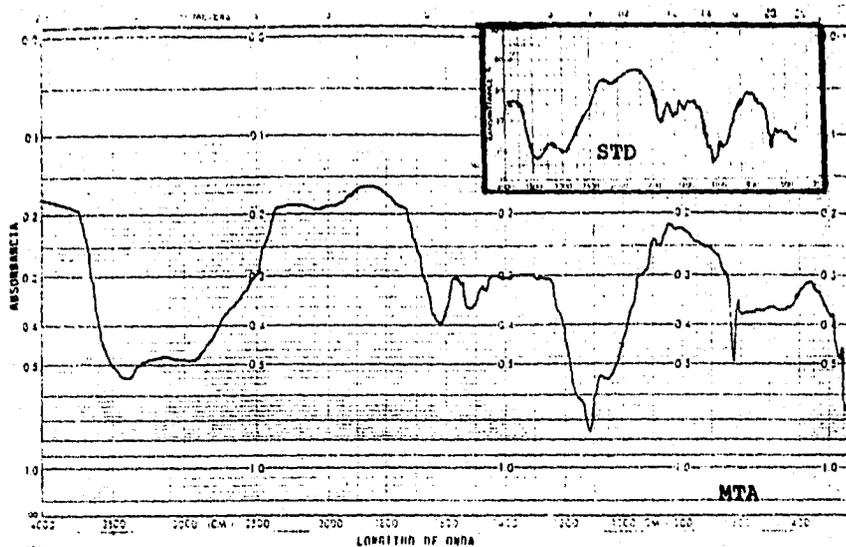


FIG. 4. GENTAMICINA, SULFATO DE

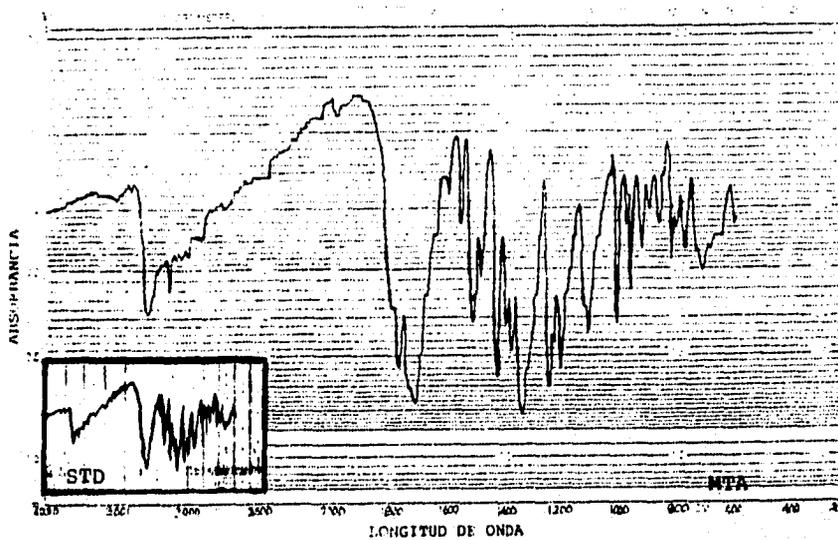


FIG. 5. NITROFURANTOINA

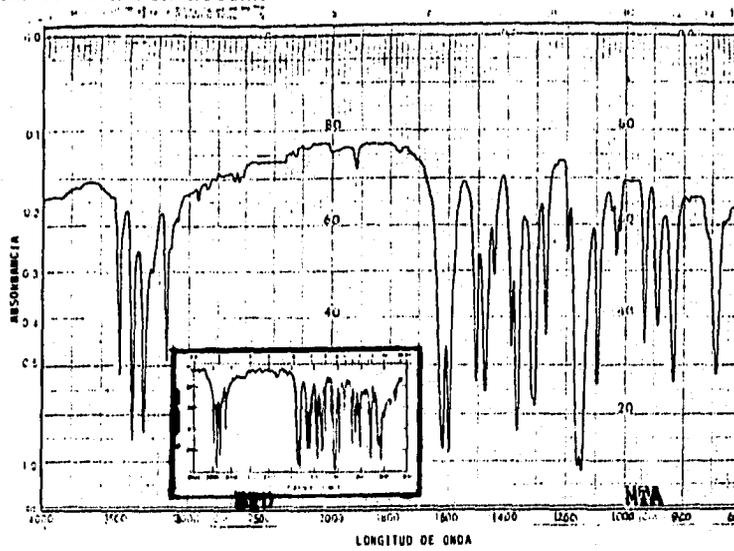


FIG. 6. SULFAMETOXAZOL

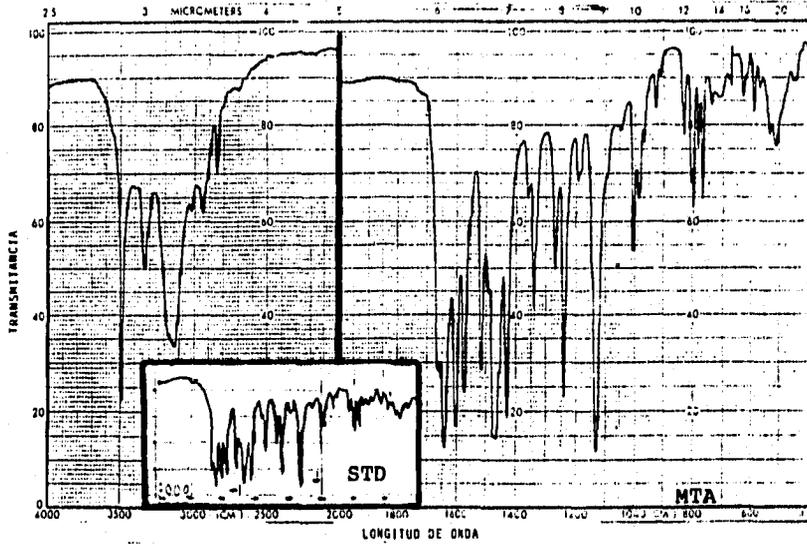


FIG. 7. TRIMETOPRIM

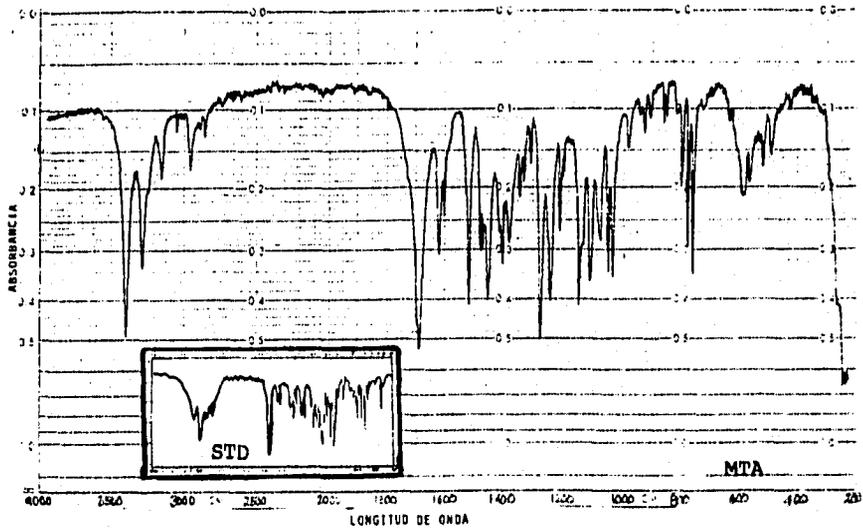


FIG. 8. METOCARBAMOL

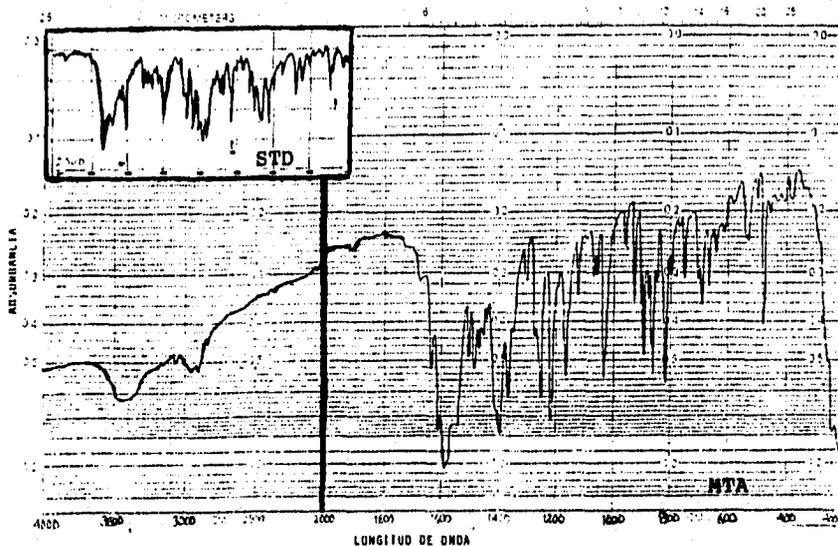


FIG. 9. NAPROXEN

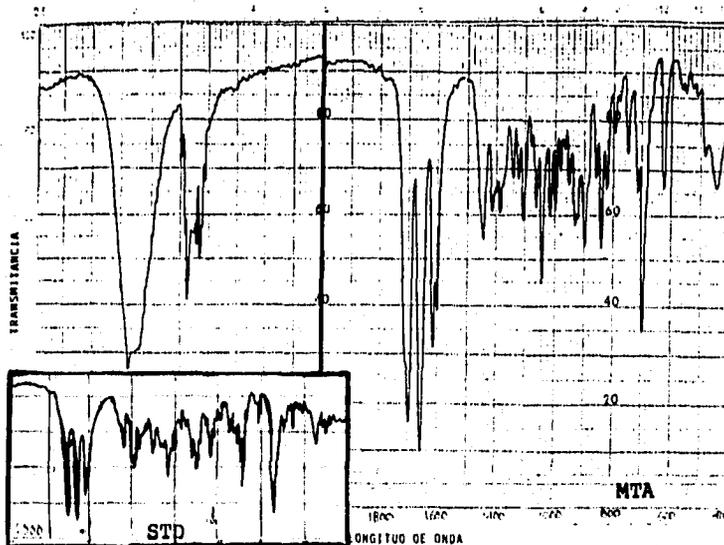


FIG. 10. PREDNISONA

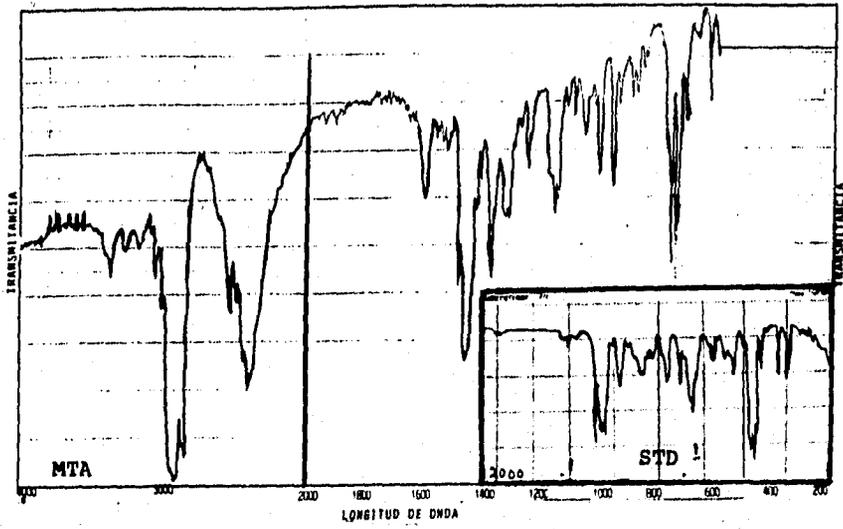


FIG. 11. AMITRIPTILINA, CLORHIDRATO DE

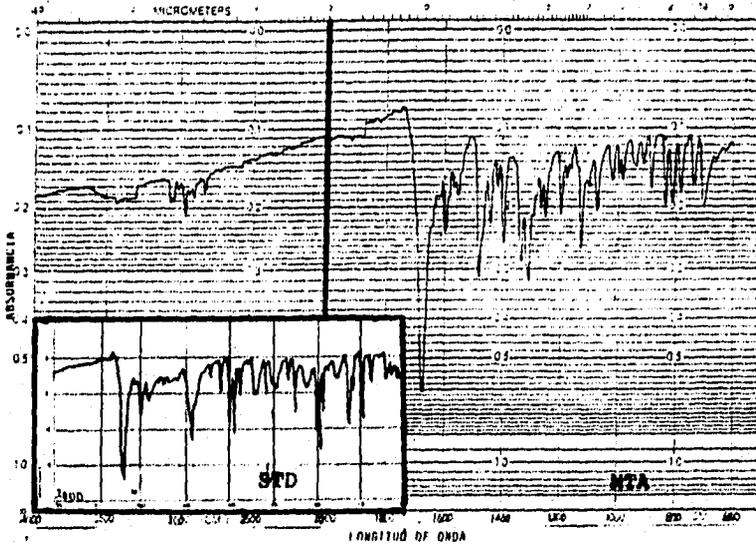


FIG. 12. DIAZEPAM

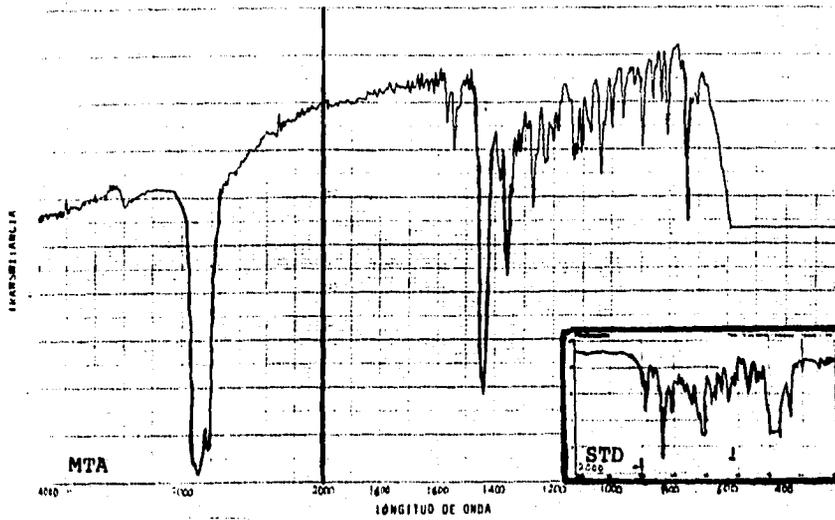


FIG. 13. PERFENAZINA

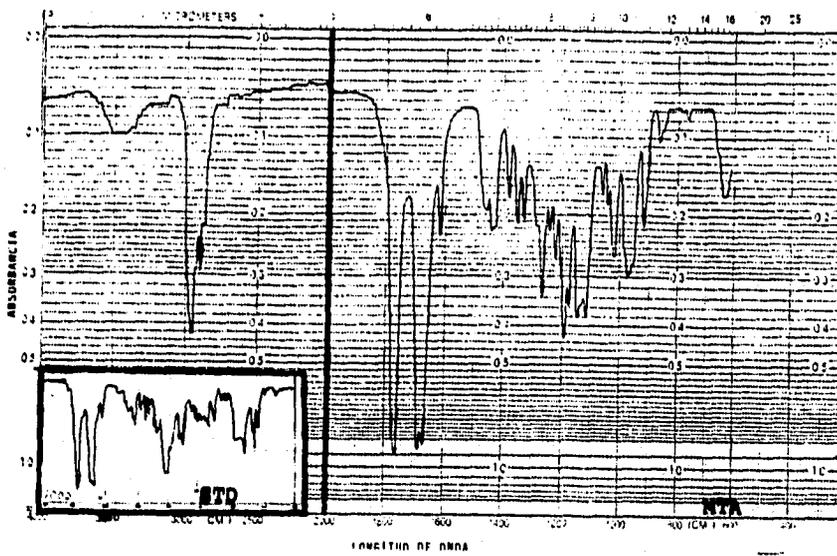


FIG. 14. ESPIRONOLACTONA

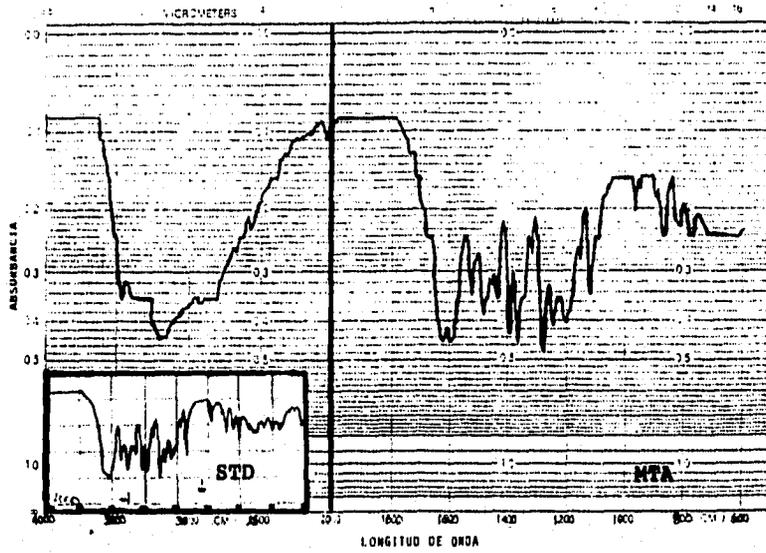


FIG. 15. METILDOPA

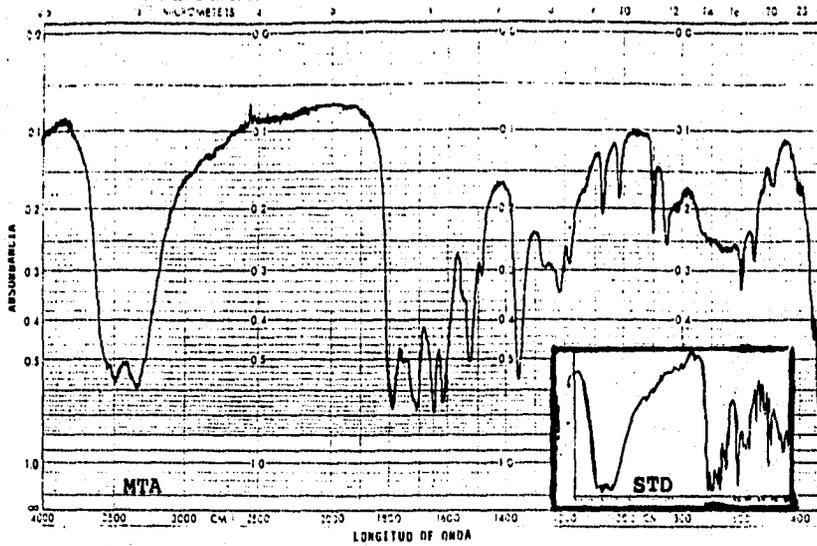


FIG. 16. AMILORIDA, CLORHIDRATO DE

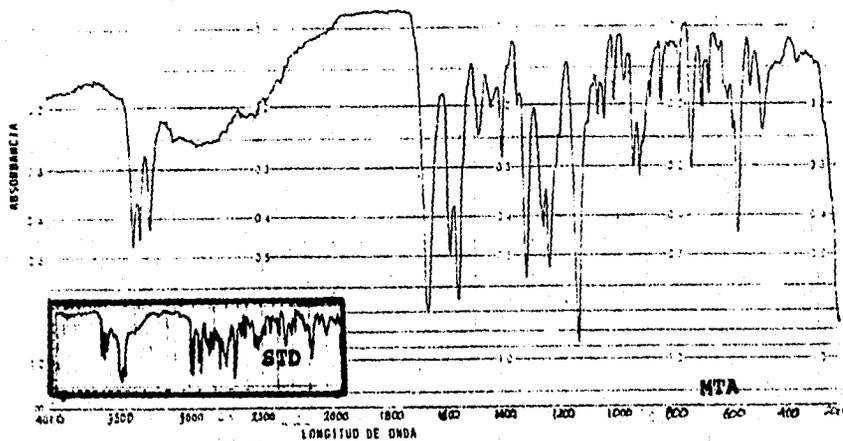


FIG. 17. FUROSEMINA

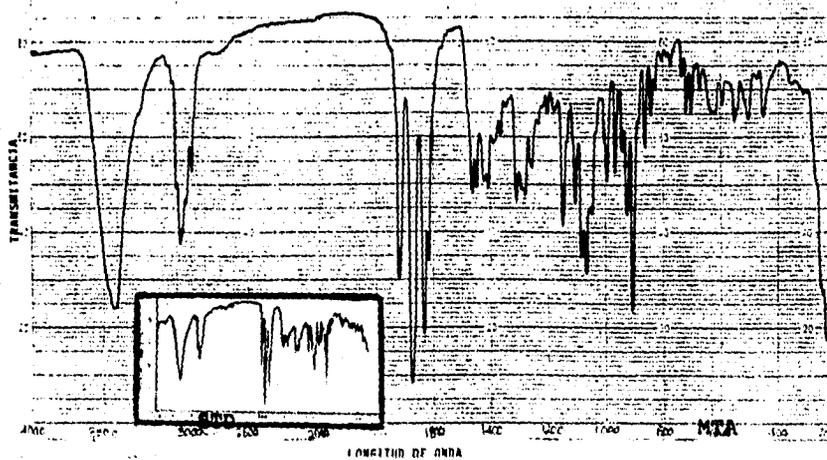


FIG. 18. DEXAMETASONA

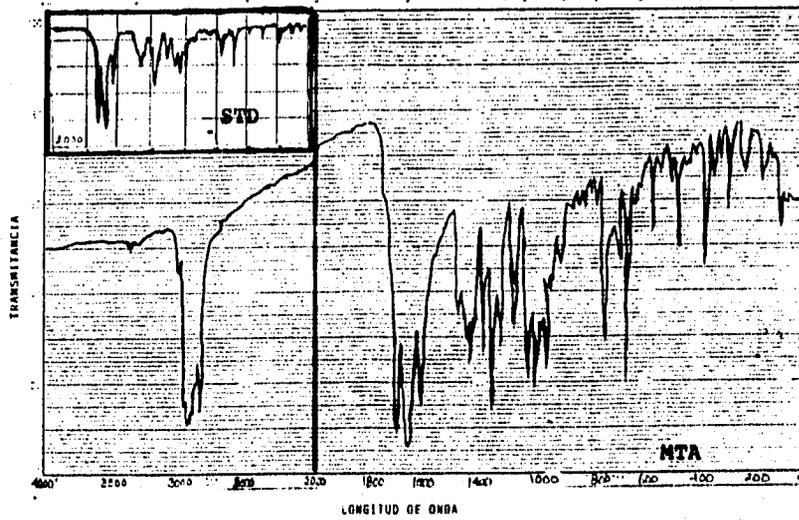


FIG. 19. PROGESTERONA

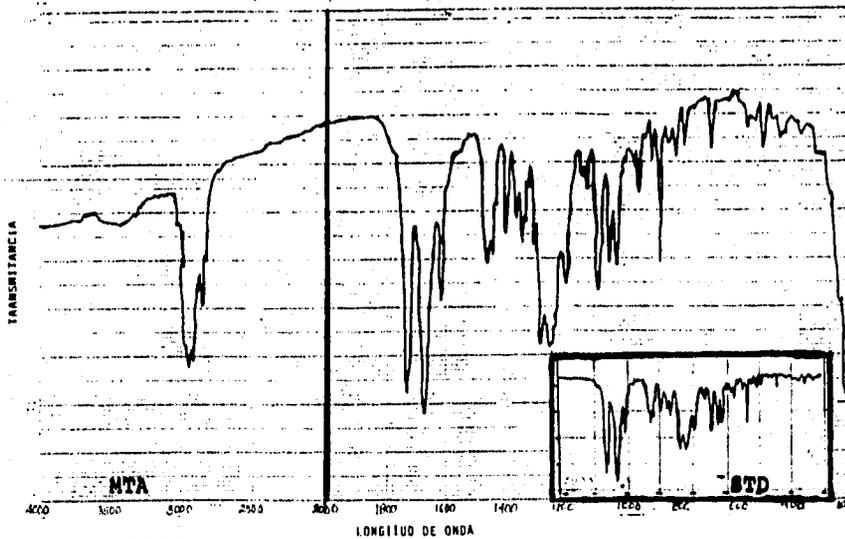


FIG. 20. TESTOSTERONA PROPIONATO

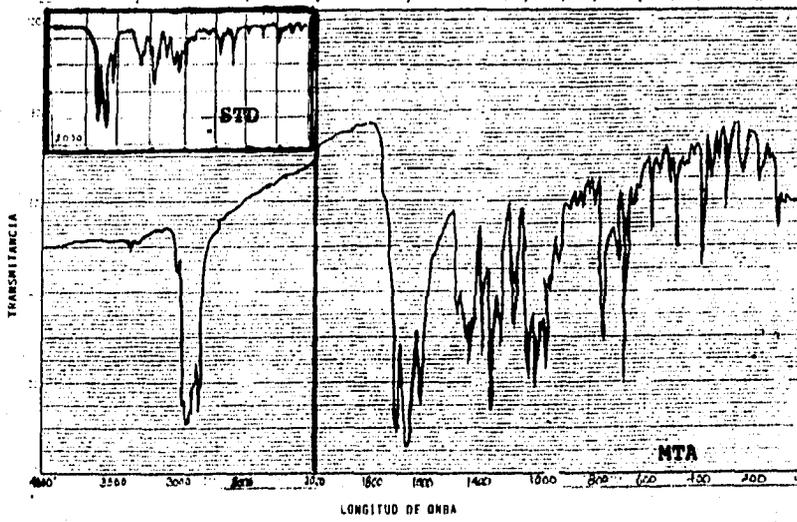


FIG. 19. PROGESTERONA

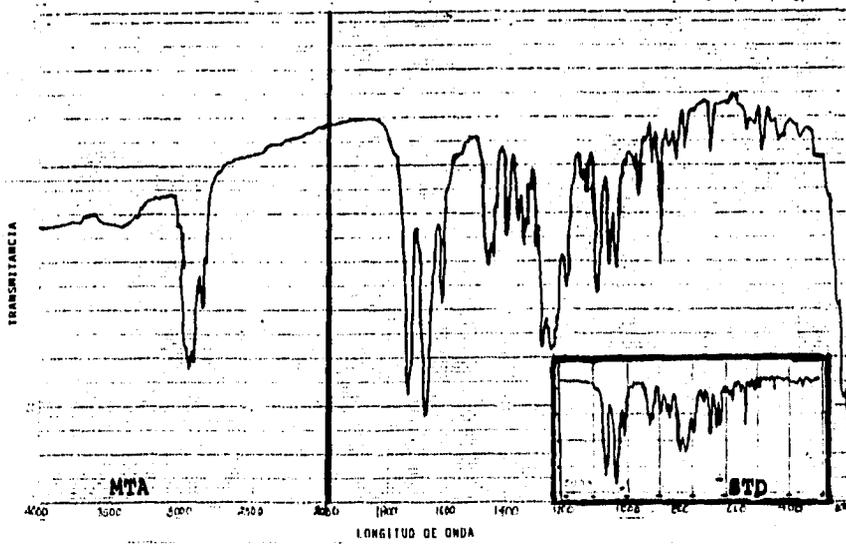


FIG. 20. TESTOSTERONA PROPIONATO

10. BIBLIOGRAFIA

10. BIBLIOGRAFIA

1. Who expert committee on specifications for pharmaceutical preparations; General guidelines for the establishment, maintenance, and distribution of chemical Reference Substances; **World Health Organization Technical Report Serie**, twenty eighth report, annex 1, No. 681, pp.19-23, Geneva, 1982.

2. Who expert committee on specifications for pharmaceutical preparations; International Chemical Reference Substances-Stability tests; **World Health Organization Technical Report Serie**, twenty three report, annex 5, No. 509, pp. 11-20, Geneva, 1982.

3. Who expert committee on specifications for pharmaceutical preparations; Consultations on International Chemical Reference Substances for Pharmaceuticals; **World Health Organization Technical Report Serie**, nineteen report, annex 1, appendix 1, No. 505, pp. 1-11, Geneva, 1980.

4. Connors, K. A., "Chemical Stability of pharmaceuticals a Handbook pharmacists", Ed. John Wiley and Sons, pp.3-5, USA, 1976.

5. Wallen, O., "Etalan Pour les Substances Pharmaceuticals, World Health Organization cronicle", 26, (9), pp. 450-454, World Health Organization, Geneva, 1972.
6. Clarke, E: G. C., "Isolation and identification of drugs", Vol.1 and 2, The Pharmaceutical press, London, 1978.
7. Florey, K., "Analitical profiles of drugs Substances", Vol. 1-20, Academic Press, New York, San Francisco, London.
8. Martindale, "The extra Pharmacopoeia", 28a. Edition, The Pharmaceutical Press, London, 1982.
9. Budavari, S., "The Merck Index", 11a. Edition, Published by Merck & Co. Inc, USA, 1989.
10. Official Methods of Analysis, AOAC XIII, Association of Official Analitical Chemists, USA, 1980.
11. The Pharmaceutical Codex, 11 th ed, Department of Pharmaceutical Press, England, 1980.

12. Certification of Reference Materials, General and Statisticals principles Iso-Guide, USA, 1985.
13. Macek, K., "Pharmaceutical Applications of thin-layer and paper chromatography", The Pharmaceutical Press, England, 1972.
14. Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos, 4a. ed, Secretaria de Salud, México D.F., 1974.
15. Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos, 5a. ed Secretaria de Salud, México D.F: 1988.
16. Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos, 6a. ed, Secretaria de Salud , México D.F., 1990.
17. United States Pharmacopela XX, The National Formulary XV, Authority of the United States Pharmacopela Convention, Inc. Mack Publishing, USA, 1980.

18. Unites States Pharmacopeia XXI, The National Formulary XVI, Authority of the United States Pharmacopeia Convention, Inc. Mack Publishing, USA, 1985.

19. United States Pharmacopeia XXII, The National Formulary XVII, Authority of the United States Pharmacopeia Convention, Inc. Mack publishing, USA, 1990.

20. United States Pharmacopeia XXIII, The National Formulary XVIII, Authority of the United States Pharmacopeia Convention, Inc. Mack Publishing, USA, 1995.

21. British Pharmacopoeia, Vol. 1 and 2, Her Majesty's Stationary Offices University, Press London, England, 1980.

22. British Pharmacopoeia, Vol. 1 and 2, Her Majesty's Stationary Offices University, Press London, England, 1988.

23. Farmacopea Internacional, 3a. ed, Organizacion Mundial de la Salud, Ginebra, 1982.

24. **Certificados Oficiales de Análisis emitidos por la Comisión de Estandarización de Sustancias Químicas de Referencia, Laboratorio Nacional de Salud pública, México D.F.**

25. **NOM - 102 - SSA 1 - 1994. Requisitos para el registro de resultados analíticos del laboratorio de control de calidad de la Industria Químico Farmacéutica.**

26. **NOM - 104 - SSA 1 - 1994. Manejo de Sustancias Químicas de Referencia.**

27. **NOM - 101 - SSA 1 - 1994. Requisitos mínimos para la calibración de instrumentos que se utilizan en el laboratorio de control de calidad de la Industria Químico Farmacéutica.**

28. **Norma Técnica número 190, para la identidad y especificidad de estándares de calibración.**

29. **NOM - 073 - SSA 1 -1993. Estabilidad de medicamentos.**

30. Guía de Procedimientos Adecuados de Laboratorio Analítico, Monografía técnica número 2, México D.F., 1989, pp. 29 - 31.
31. PMA'S Joint QC-PDS Stability Committee, "Room-Temperature Stability Studies Conditions", **Pharmaceutical Technology**, 10, (9), 1992, pp. 92-96.
32. PMA'S Joint QC-PDS Stability Committee, "Stability concepts", **Pharmaceutical Technology**, 8, (6), 1984, pp. 42-48.
33. Secretaria de Salud, Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, "Conclusiones de las mesas redondas sobre los requisitos mínimos para las pruebas de estabilidad para medicamentos", **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, 18, (3), 1987, pp.20-24.
34. Voigt. R., "Tratado de tecnología farmacéutica", 3a. ed., editorial Acribia, Zaragoza España, 1982, pp. 527-573.
35. Nudelman. N.E., "Estabilidad de medicamentos", Editorial Libreria el Ateneo, Buenos Aires Argentina, 1975, pp.77-171.

36. Goth. A., "Farmacología médica principios y conceptos", Ediciones doyma, Barcelona España, 1984.
37. Velasco. A., "Farmacología", 16a. ed., Editorial Interamericana.McGraw-Hill, España, 1993.
38. Katzung. B., "Farmacología básica y clínica", 2a. ed., Editorial El manual moderno S.A. de C.V., México, 1986.
39. Goodman. A., "Las bases farmacológicas de la terapéutica", 7a. ed., Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires Argentina, 1986.
40. Specification Report, SPR-DS 89-11 (890420), Janssen Beerse, Belgium, 1990, pp. 8-16.
41. Reporte analítico Metildopa. WHO/PHARM/80.504. Apéndice 10, pp. 20.
42. Reporte analítico Progesterona. WHO/PHARM/67.441. Apéndice 4, pp. 19-22.

43. Fundamental Differences "Testosterona Propionate"; AKZO Pharmaceutical Organon, Report number 890110-01.

44. Pachaly, P., "Simple Thin-Layer Chromatographic Identification of Active Ingredients in Essential Drugs". Editio Cantor Verlag Aulendorf, pp 56-60, Germany, 1994.