

302927

UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO

2  
20/3



**DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO  
ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE  
LIDAMIDINA CLORHIDRATO EN TABLETAS**

TESIS CON  
FALLA DE ORDEN

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**  
P R E S E N T A:  
**NORA PATRICIA CAMACHO DE LEON**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## CONTENIDO

CAPITULO		PAGINA
I	INTRODUCCION	1
II	GENERALIDADES	3
III	PARTE EXPERIMENTAL	37
IV	RESULTADOS	48
V	COMENTARIOS	84
VI	CONCLUSIONES	88
VII	BIBLIOGRAFIA	90

## CAPITULO I

### INTRODUCCION

Uno de los aspectos importantes para la industria farma --  
céutica es el de garantizar la calidad de sus productos y para  
lograrlo es necesario que el medicamento sea sometido a una se-  
rie de controles con el objeto de observar tanto su comporta --  
miento físico y químico como biológico; cuyo resultado sera com  
parado con especificaciones oficiales o no; que se localizaran  
las primeras en la farmacopea de cada País y los no oficiales  
en libros, revistas o en estudios efectuados por el laboratorio  
fabricante del fármaco, mediante dicha comparación se determina  
rá si el medicamento cumple o no con las normas previamente es-  
tablecidas.

Entre los controles efectuados se encuentra la valoración  
del principio activo, siendo una determinación de gran importan  
cia ya que mediante ella se comprueba la cantidad de principio  
activo contenida en las tabletas.

Para llevar a cabo una valoración se han creado diversos mé  
todos de análisis fundados en las propiedades físicoquímicas  
del fármaco. (1)

Estos métodos una vez desarrollados es necesario validar--  
los con el objeto de demostrar su exactitud, precisión, reprodu  
cibilidad, linealidad y confiabilidad.

La validación es la determinación del grado de validez de

un proceso de medición.

Esta definición sugiere una actividad que toma lugar después de que el proceso de medición ha sido desarrollado.

Un significado alternativo de validación es "hacer válido" en el sentido de "producir el resultado deseado".

Esta definición sugiere una actividad que toma lugar mientras el proceso de medición esta siendo desarrollado. (2)

De acuerdo a estas consideraciones se realiza el presente trabajo cuyos objetivos principales son los siguientes:

- 1) Desarrollar un método analítico para determinar clorhidrato de Lidamidina en tabletas.
- 2) Validar dicho método para comprobar que cumpla con los requisitos indispensables para poder ser utilizado.
- 3) Comparar estadísticamente tanto el método propuesto como el establecido por el fabricante del fármaco.

Escogí este fármaco por su apreciable valor terapéutico en medicina ya que es un nuevo y potente agente antidiarréico libre de efectos secundarios provocados por narcóticos y anticolinérgicos, siendo su administración más frecuente en la forma farmacéutica tableta y además por no encontrarse su método analítico oficial en ninguna farmacopea. (3)

## CAPITULO II

### GENERALIDADES

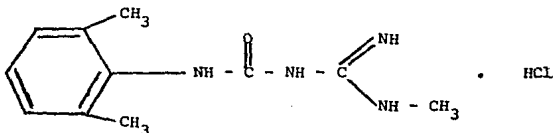
#### I MONOGRAFIA (4)

#### 1. DESCRIPCION

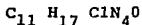
##### 1.1 NOMBRE QUIMICO

Clorhidrato de 1 - (2,6 - dimetil fenil) - 3 - mentilami-  
dinourea.

##### 1.2 FORMULA ESTRUCTURAL



##### 1.3 FORMULA CONDENSADA

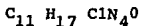


##### 1.4 PESO MOLECULAR

256.794

##### 1.5 CONTENIDO

Debe contener no menos del 99% y no más del 101% de



##### 1.6 APARIENCIA, COLOR, OLOR

El Clorhidrato de lidamidina es un polvo microcristalino

blanco, inodoro y de sabor amargo.

#### 1.7 SOLUBILIDAD (4)

Muy soluble en metanol (297.94mg/ml) y en agua (153.55mg/ml); soluble en etanol (88.55mg/ml) y en isopropanol (36.33mg/ml); ligeramente soluble en cloroformo (4.62mg/ml); muy ligeramente soluble en éter etílico (0.03mg/ml).

### 2. IDENTIFICACION

#### 2.1 ESPECTRO DE ABSORCION INFRARROJO

El espectro de absorción infrarrojo del clorhidrato de Lidamidina en nujol presenta las mismas bandas de absorción que el estándar de referencia (se anexa gráfica del espectro infrarrojo). (4)

#### 2.2 ESPECTRO DE ABSORCION ULTRAVIOLETA

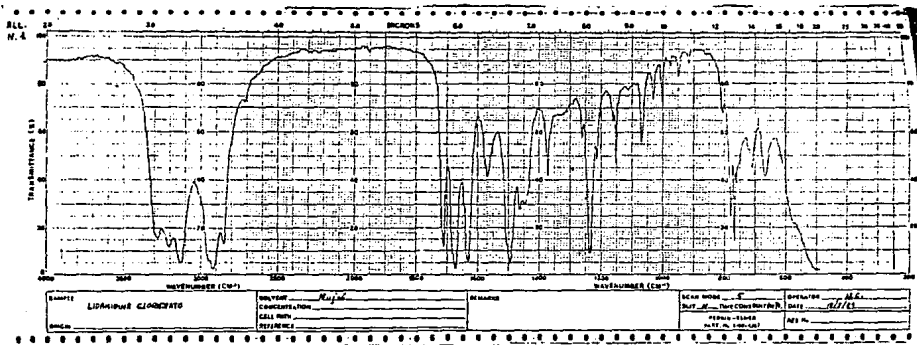
El espectro de absorción ultravioleta del clorhidrato de Lidamidina en etanol a una concentración de 0.46 mg/ml muestra un máximo de absorción a  $271 \pm 2$ nm y a  $263 \pm 2$ nm (se anexa gráfica del espectro de absorción ultravioleta). (4)

#### 2.3 DA LAS REACCIONES CARACTERISTICAS DE CLORUROS

#### 2.4 PUNTO DE FUSION 192 - 194.5°C

#### 2.5 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

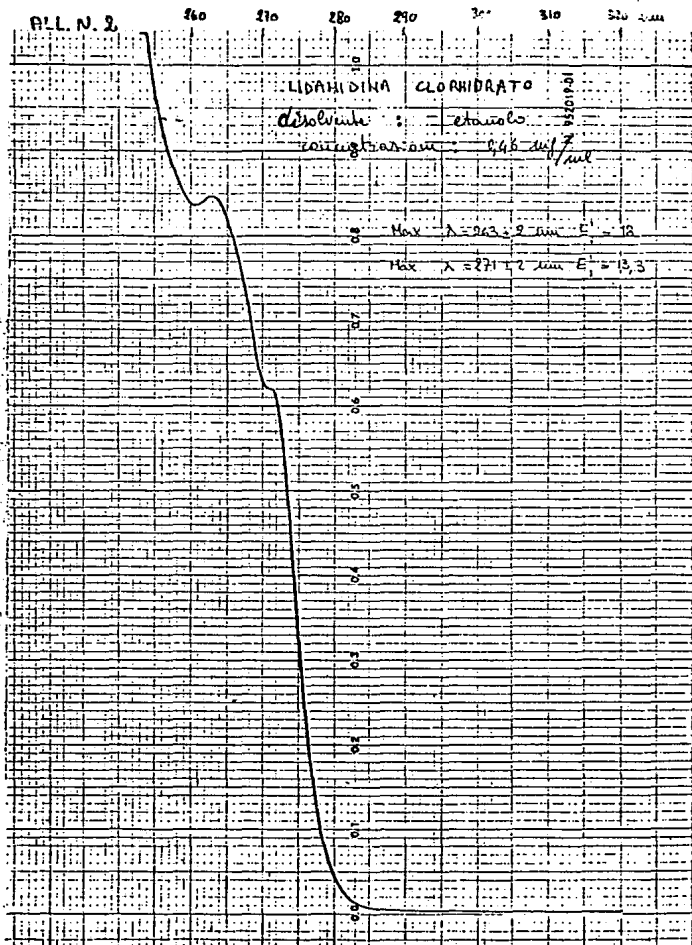
Fase estacionaria: Placas de sílica Gel G con un espesor de 0.25 mm



Gráfica del espectro de absorción infrarrojo.

GRAFICA 1.a





Gráfica del espectro de absorción ultravioleta

GRAFICA 1.b

Fase móvil: Sistema 1: isopropanol; amoniaco (100:3)

Sistema 2: metanol; cloroformo, amoniaco  
(60:40:3).

Preparar una solución de clorhidrato de Lidamidina que con-  
tenga 0.40 mg/ml en metanol. (4)

#### REVELADOR

2.5.1 A la luz ultravioleta previa impregnación de la placa con  
una solución de fluoresceína. (4)

2.5.2. Da una coloración rosa rociándole una solución de ferri-  
cianuro preparada de la siguiente forma, mezclar 1.5 ml de  
solución de nitroferricianuro de sodio al 10%; 1.5 ml de  
solución de ferricianuro de potasio al 10%; 1.5 ml de sosa  
al 10% y 15 ml de agua, cuando la solución se pone de co-  
lor amarilla se agrega 18 ml de acetona. (4)

#### 2.5.3 INTERPRETACION

La Lidamidina muestra una mancha con  $R_f$  cercano a 0.52 con  
el sistema 1 y un  $R_f$  cercano a 0.82 con el sistema 2. (4)

#### 3. DETERMINACION CUANTITATIVA

3.1 Titulación ácido base en medio <sup>no</sup> acuoso.

Pesar exactamente entre 80 - 100 mg. de clorhidrato de Li-  
damidina, disolver en 30 ml de ácido acético glacial, adi-  
cionar 5 ml de solución de acetato mercurico al 6% en áci-  
do acético glacial y titular con ácido perclórico 0.1 N  
usando como indicador cristal violeta, o determinando el  
punto final potenciométricamente.

1 ml de  $\text{HClO}_4$  0.1N equivale a 25.67 mg de  $\text{C}_{11} \text{H}_{17} \text{ClN}_4\text{O}$

Cálculos

$$\% \text{ de clorhidrato de Lidamidina} = \frac{V \text{ N equivalentes}}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

equivalente = 256.79

N ( $\text{HClO}_4$ ) = 0.1 N

V ( $\text{HClO}_4$ ) = mililitros consumidos

Peso muestra = gramos. (4)

### 3.2. TITULACION DE CLORUROS

Una cantidad exactamente pesada de clorhidrato de Lidamidina se disuelve en agua y se titula potenciométricamente con una solución de  $\text{Ag NO}_3$  N/100

### 4. ESTABILIDAD (4)

El clorhidrato de Lidamidina, conservado en contenedores bien cerrados a temperatura ambiente, demuestra ser un producto perfectamente estable, ya que a un tiempo prolongado después de su obtención como materia prima no muestra variación de título ni presencia de productos de degradación.

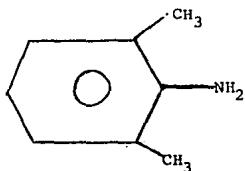
Al estudiar una solución de clorhidrato de Lidamidina a temperaturas de 50°C, 65°C, 80°C y con una variación de pH entre 1 y 13, se demostró que su tiempo de vida media es de 105 meses en un pH comprendido entre 1-5.

El tiempo de vida media disminuye con el aumento de la temperatura y del pH de la solución: a una temperatura de 87°C y a un pH comprendido entre 9-13, el tiempo de vida media disminuye apro

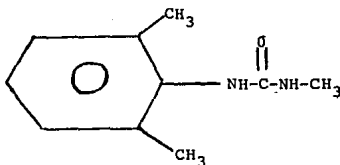
ximadamente a 2.2 meses (4)

Las soluciones de clorhidrato de Lidamidina están sujetas a sufrir hidrólisis ácida y básica, también pueden sufrir hidrólisis en un ambiente de  $\text{NH}_4\text{OH}$  y a temperaturas entre  $80^\circ\text{C}$  y  $90^\circ\text{C}$ . La molécula de clorhidrato de Lidamidina cuando es sometida a éstas hidrólisis se degrada, dando como resultado los siguientes productos:

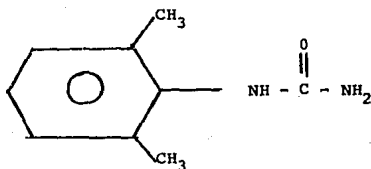
- a) 2,6 Xilidina (I). Este producto de degradación se forma cuando la molécula de clorhidrato de Lidamidina es sometida con soluciones ácidas ( $\text{HCl}$  0.1 N), verificándose una notable descomposición alrededor del 7%.
- b) N-(2,6-dimetilfenil)- $\text{N}^1$ -metilurea. (II). Este producto es el resultado de una hidrólisis básica que se puede llevar a cabo con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N a una temperatura de  $80^\circ - 90^\circ\text{C}$ .
- c) 2,6- dimetilfenilurea (III). Se forma cuando las soluciones de clorhidrato de Lidamidina son atacadas con hidróxido de amonio concentrado y sometidas a una temperatura de  $80^\circ\text{C}$ . (3), (4)



(I)



(II)



(III)

## 5.- FARMACOLOGIA

La diarrea consiste en deposiciones frecuentes de heces de consistencia líquida, Se debe al aumento de la velocidad del tránsito intestinal, lo que impide una adecuada absorción de agua, pudiendo además existir exudación de líquido. (5)

### Diagnóstico de la Diarrea:

Para el diagnóstico de la diarrea es conveniente tomar en cuenta las características del síntoma: frecuencia, abundancia, olor, color, presencia de productos patológicos o restos de alimentos o parásitos, presencia de fenómenos dolorosos que acompañan a las deyecciones y todos los demás aspectos clínicos que presentan el enfermo como son:

- 1.- Edad
- 2.- Características de la alimentación a que a estado sujeto así como valorización de su "capacidad digestiva" hasta la fecha actual.
- 3.- Evaluación del predominio de las alteraciones intestinales según sean "altas" enteritis, o "bajas" colitis, recto-sigmoiditis, o sea propiamente el diagnóstico anatómo-topográfico.
- 4.- Condiciones del estado de nutrición del enfermo.
- 5.- La repercusión del cuadro diarreico sobre el estado general del niño y sobre su equilibrio acuoso electrolítico.
- 6.- Las condiciones patológicas coexistentes o concomitantes, infecciones parenterales, generales o locales.
- 7.- Los resultados de la Coprobacteriología y de los análisis Coproparasitológicos.

8.- Las condiciones Socio-económicas del ambiente familiar y social que rodea al enfermo. (5), (6)

Con el conjunto de los aspectos antes enumerados y juiciosamente valorados se puede establecer el diagnóstico integral de un paciente que padece diarrea y además, se puede emitir el pronóstico y orientar el tratamiento adecuado en cada caso particular.

En otras palabras, nos debe preocupar tanto el síntoma de diarrea en sí como las condiciones integrales del enfermo y de su ambiente.

Las diarreas se pueden clasificar en: 1) Diarreas agudas y 2) Diarreas crónicas. La mayor parte de las diarreas agudas reconocen una etiología infecciosa, en tanto que las crónicas obedecen generalmente a trastornos metabólicos patológicos, ya sean de alimentación o constitucionales.

Se estudiará muy brevemente las diarreas agudas. La mayor parte de las diarreas. Sobre todo las agudas se deben a gérmenes microbianos, de manera que conviene comenzar el estudio con los microorganismos del tubo digestivo.

El trato digestivo contiene una enorme cantidad de bacterias, abundan en la cavidad bucal. El estómago vacío del individuo sano suele estar libre de microorganismos. El gran número de microorganismos que llegan a éste órgano con los alimentos, proceden de la saliva y secreciones nasofaríngeas y son destruidos por la alta acidez del jugo gástrico o por las enzimas digestivas (7). Comienza a abundar en la parte distal del ileón y exis-

ten en cantidades enormes en el intestino grueso. Los principa  
les microorganismos del intestino son: Escherichia coli, Aero -  
bacter acrógenos, Clostridium perfringens, Streptococcus faaco -  
lis y el Lactobacillus bifidus. Estos microorganismos atacan a  
las proteínas e hidratos de carbono y los transforman dando lu-  
gar a los procesos de putrefacción respectivos. Las proteínas  
procedentes de la alimentación y de las secreciones digestivas  
sufren el proceso de putrefacción por los gérmenes anaerobios,  
(por ejemplo el Clostridium perfringens) y originan histamina,  
y escatol que comunica el olor característico de sulfuro de hi-  
drógeno a los heces. Los hidratos de carbono no absorbidos en  
el intestino sufren el proceso de fermentación por los gérmenes  
aerobios, por ejemplo: el Lacto-bacillus bifidus, dando origen  
a ácido láctico, ácido butírico, dióxido de carbono. (8)

#### Causas de la Diarrea

Las diarreas pueden ser funcionales y orgánicas.

Son diarreas funcionales:

- a) Las de fermentación y putrefacción por predominio de una  
de las floras microbianas correspondientes.
- b) La pancreática, debida a una insuficiencia exocrina.
- c) La de origen alérgico.
- d) La de colon irritable, en que pueden alterarse periodos  
de constipación y diarrea.

Son diarreas orgánicas:

- a) La enterocolitis aguda infecciosa, incluida la viral y  
la alimentaria producida por contaminación con la salmonella

paratyphi, Escherichia coli y Staphylococcus aureus.

- b) La enterocolitis crónica infecciosa; incluida la tuberculosis y las disenterias.
- c) La colitis ulcerosa crónica, de etiología desconocida, caracterizada por recaídas y remisiones.
- d) La enterocolitis aguda tóxica, producida por compuestos de mercurio, o de arsénico. (8)

**Síntomas de la Diarrea:**

El número de deposiciones puede variar desde tres o cuatro en las 24 horas hasta una cada cinco minutos; la consistencia de las heces puede ser pastosa, pero generalmente es líquida y aún acuosa pudiendo acompañarse de cólicos; otros datos clínicos fundamentales para valorar la gravedad o no de un cuadro diarréico son: vómitos, fiebre, productos patológicos significativos en las deyecciones. En los casos agudos y graves puede producirse intensa pérdida de agua y electrolitos que lleva a una serie de trastornos por deshidratación hasta llegar al shock. (5)

En todo caso de diarrea, es necesario investigar su causa y tratarla en consecuencia, por ejemplo la de origen pancreático y especialmente la que se debe a agentes microbianos, en cuyo caso deberán emplearse las drogas anti-infecciosas.

Pero no ha de descuidarse en esos casos la medicación anti-diarréica propiamente dicha teniendo en cuenta además que muchas diarreas tienen etiología viral y no poseen tratamiento anti-infecciosos; dicha medicación se efectúa mediante el empleo



de los agentes constipantes o anticatárticos, capaces de retardar el tránsito intestinal y detener así la diarrea al actuar directamente inhibiendo contracciones intestinales.

Los agentes antidiarréicos incluyendo sustancias como anti colinérgicos, opiáceos y antibióticos al ser utilizados producen por lo general y en forma variada efectos secundarios.

El clorhidrato de Lidamidina es un nuevo y potente agente antidiarréico, activo por la vía oral y libre de los efectos secundarios provocados por narcóticos y anticolinérgicos acompañándose de una potente acción anestésica a nivel local. (9)

En estudios "in vitro" e "in vivo", la molécula posee actividad inhibitoria de la motilidad intestinal y también produce disminución de la secreción intestinal alterada por diferentes mecanismos patogénicos.

El efecto de antimotilidad de la droga, ha sido investigado en ratón, ratas y perros en los cuales se ha estudiado la motilidad intestinal alterada, por medio de vaciamiento gástrico y medición de la presión gástrica. (9), (10)

La actividad antidiarréica fué evaluada utilizando aceites, carbacho, serotonina, inductores de la diarrea y finalmente la secreción intestinal fué inducida a base de toxinas del cólera. En general, se puede resumir que la Lidamidina demostró ser más potente que el Difenoxilato y la Loperamina.

#### 5.1 MECANISMO DE ACCION (10)

Los estudios del mecanismo de acción del clorhidrato de Li

damidina han demostrado que este nuevo antidiarréico no tiene efectos narcóticos ni anticolinérgicos y en cambio su actividad se efectúa en forma fisiológica, basándose en tres fases simultáneas.

1.- Disminución de la motilidad intestinal.

Disminuye en forma fisiológica, progresiva y gradualmente, la hipermotilidad intestinal, presente en el proceso diarréico.

2.- Reducción de las secreciones de la patología diarréica.

Evita la estimulación excesiva de la secreción intestinal que se manifiesta principalmente en los procesos diarréicos de etiología infecciosa.

3.- Reabsorción de agua y electrólitos.

Numerosos estudios han demostrado que el mecanismo de acción del clorhidrato de Lidamidina se realiza también a nivel del recambio de agua y electrólitos en la mucosa enteral y colónica, estimulando la absorción de sodio y evitando la pérdida de líquidos y cloruros por el intestino, impidiendo el desbalance hidroelectrolítico, que es una clásica complicación en el síndrome diarréico. (10)

## 5.2 INDICACIONES

El clorhidrato de Lidamidina está particularmente indicado en el tratamiento de los estados diarréicos agudos y crónicos que cursan con pérdida severa de líquidos y electrolitos.

### 5.3 REACCIONES SECUNDARIAS

Las reacciones secundarias que se han reportado en los estudios clínicos, revelan que éstas se han presentado pocas y ocasionalmente, entre las que se incluyen: somnolencia transitoria, dolor abdominal de moderada intensidad y náusea ligera.(11)

### 5.4 PRECAUCIONES

Aunque los estudios clínicos y toxicológicos no han reportado datos de teratogénesis, no se recomienda utilizar éste medicamento durante el embarazo, tampoco se deberá administrar en mujeres en período de lactancia o en niños menores de 6 años.

(11)

En el caso de diarrea infecciosa o amibiana, éste medicamento puede utilizarse concomitantemente con el tratamiento etiológico de cada entidad patológica.

### 5.5 CONTRAINDICACIONES

Hipersensibilidad a la sal.

### 5.6 VIA DE ADMINISTRACION

Oral.

### 5.7 POSOLOGIA

En diarrea aguda se recomienda administrar inicialmente una dosis de 2 comprimidos (4 mg) y posteriormente continuar con un comprimido cada 6 horas hasta que cede el cuadro diarreico. A criterio del médico, se pueden acortar los periodos entre las

dosis sin exceder de 16 mg en 24 hrs.

En el caso de diarrea crónica se recomienda administrar 4 mg cada 6 horas.

#### 6.- METODOS DE VALORACION OFICIALES Y NO OFICIALES.

Un método de valoración oficial es aquel que ya ha sido comprobado, que presenta linealidad, reproducibilidad y confiabilidad por lo que se establece oficialmente pudiendo ser utilizado en el momento que se requiera. Cuando no se cuenta con un método analítico oficial para valorar un determinado producto es necesario proponer y desarrollar un método que cumpla con especificaciones y que a través de un proceso práctico, experimental y de evaluación estadística nos resulte sencillo, específico y reproducible, características que nos conducen a obtener un método de análisis confiable al que se le denomina método de valoración no oficial.

Para fines de este trabajo, los métodos analíticos estudiados son los siguientes:

- 6.1 Determinación volumétrica en medio no acuso.
- 6.2 Determinación espectrofotométrica.
- 6.3 Determinación por cromatografía en capa fina.

## 6.1 DETERMINACION VOLUMETRICA NO ACUOSA

Las reacciones de transferencia de protones en medios no acuosos pueden servir de base para procesos volumétricos, ésta adición a la volumetría ácido-base en algunos casos representa ventajas importantes, entre las cuales se incluyen las siguientes:

1. Los ácidos o bases demasiado débiles para titularse en medio acuoso, pueden resultar más fuertes y, por lo tanto, titulables, en disolventes no acuosos apropiadamente seleccionados. Por ejemplo, el acetato tiene una basicidad intrínseca demasiado baja para que su protólisis con el ion hidronio sea completa. Esto quiere decir que el acetato acuoso es una base demasiado débil para titularse con un ácido, por otra parte, al disolverlo en un medio más ácido, tal como el ácido acético anhidro, el acetato acepta protones más completamente del ion acetonio, que es un ácido más fuerte, por lo que actúa como base de mayor fuerza y puede titularse con un punto final bien definido, empleando una solución de ácido perclórico en ácido acético. Muchas otras bases que no pueden titularse en medio acuoso, se determinan fácilmente en ácido acético u otros disolventes similares.
2. Los ácidos y bases que exhiben idénticas fuerzas en medio acuoso, pueden diferenciarse en un disolvente no acuoso

de acidez o basicidad apropiada.

3. Las sustancias que son insolubles en agua pueden titularse en un disolvente en el que sean solubles. (12)

En éste proceso de titulación, el punto final se puede detectar visualmente empleando indicadores orgánicos que exhiben propiedades ácido-base, y que cambian de color cuando se transforman de la forma ácida a la básica o viceversa. Los indicadores más comunes son: el violeta de metilo, el violeta cristal, el rojo de fenol y el rojo de cresol.

Cuando el sistema disolvente tiene una constante dieléctrica alta también se puede detectar el punto final de la titulación por medios potenciométricos. (13)

#### Elección del Disolvente

En la elección del sistema disolvente para una determinada volumetría se deben tomar en consideración los siguientes factores:

- 1.- Reforzamiento del carácter ácido o básico de la sustancia a valorar.
- 2.- Sensibilidad del viraje del indicador en el punto final.
- 3.- Poder disolvente elevado.
- 4.- Poca volatilidad y baja viscosidad.
- 5.- Que no sea tóxico y que sea de fácil manejo.

En algunos casos da resultado satisfactorio el empleo de mezclas de disolventes. Los disolventes más utilizados para pre

parar soluciones tipo son el ácido acético, los glicoles, dioxano, benceno, tetracloruro de carbono, clorobenceno, cloroformo, éter de petróleo, para disolver las sustancias a valorar. No obstante, el número de medios disolventes es mucho más amplio.

(1)

## 6.2 METODO ESPECTROFOTOMETRICO

El fundamento del análisis fotométrico es la medición de la cantidad de luz absorbida por una solución (espectrofotometría) o por una suspensión (nefelometría) o la medición de intensidad de la luz emitida por un elemento sometido a altas temperaturas (fotometría de flama).

La espectrofotometría de absorción, con frecuencia llamada simplemente espectrofotometría, es la medición de la cantidad de radiación electromagnética absorbida a una longitud de onda en particular o a una serie de longitudes de onda. Si sólo se trata de la medición de radiación visible, recibe el nombre de colorimetría. Los instrumentos que se emplean en la medición de la absorción de radiación visible y/o ultravioleta e infrarroja reciben el nombre de espectrofotómetros; los aparatos en los que sólo puede medirse radiación visible o luz se llaman colorímetros o espectrofotómetros de región visible.

Los intervalos de longitud de onda de acuerdo al tipo de radiación son los siguientes:

Ultravioleta (UV)            ( 185 - 380 nm)

Visible (luz)	( 380 - 750 nm )
Infrarrojo cercano	( 750 - 2500 nm )
Infrarrojo (IR)	( 2500 - 15000 nm ) (14)

Dentro de las determinaciones comprendidas desde la región ultravioleta a la de infrarrojo tenemos las siguientes:

- a).- Valoración espectrofotométrica en la región ultravioleta.
  - b).- Valoraciones espectrofotométricas en la región visible.
  - c).- Valoraciones espectrofotométricas en la región de infrarrojo.
- a).- El fundamento de las determinaciones espectrofotométricas es el siguiente, cuando una radiación monocromática pasa a través de una celdilla que contiene una solución absorbente se observa: (15)
- 1) Puede pasar por la materia habiendo sólo una pequeña absorción y por lo tanto poca pérdida de energía.
  - 2) La dirección de propagación del haz de luz puede ser alterada por reflexión, refracción o difracción; también se puede incluir la dispersión que sufre por alguna materia particular suspendida.
  - 3) La energía radiante puede ser total o parcialmente absorbida, cuando hay absorción que es un fenómeno específico y que está relacionado con las estructuras moleculares, se obtiene una transferencia de energía al medio.
- (15)



La intensidad del haz de radiación está caracterizado por su poder radiante el cual es proporcional al número de fotones por segundo que son propagados en el haz y se puede determinar por medio de detectores tales como fotoceldas ó fototubos.

La velocidad a la cual es transportada la energía en un haz de energía radiante se identificará por el símbolo ( $P_0$ ) para el haz incidente y por ( $P$ ) la cantidad remanente no absorbida después de pasar a través de una muestra o recipiente. La proporción del poder radiante transmitido por una muestra, es la transmitancia ( $T$ ) por lo que:

$$T = P/P_0$$

El logaritmo a la base 10 del recíproco de la transmitancia es la absorbancia:

$$A = \log_{10} (1/T) = \log_{10} (P_0/P)$$

- b) Valoraciones espectrofotométricas en la región visible.  
(Colorimétricas).

Estas determinaciones se basan en la medición de radiación visible o luz.

La absorbancia se mide en longitud de onda dentro de la región visible del espectro.

Generalmente se añade un reactivo a la muestra preparada para producir un color que se compara con el de otra muestra llamada solución patrón, que se prepara en las mismas condiciones que la muestra. (15)

Ambas determinaciones obedecen las leyes de la fotometría.

La Ley de Beer-Lambert rige la relación entre la concentración y la cantidad de luz o radiación absorbida,

Relaciona la absorbancia a la concentración de la especie absorbente y la longitud de la trayectoria de la solución a través de la cual la radiación debe pasar.

Esta ley establece que si aumenta la concentración de la especie absorbente, la absorbancia debe incrementarse. En forma semejante, también establece que si aumenta la longitud de la trayectoria de la solución, la absorbancia debe incrementarse. (14)

El símbolo que suele emplearse para representar la longitud de la trayectoria de una solución es  $b$ . El símbolo habitual para la concentración es  $c$ .

Si la concentración  $c$ , de una solución esta dada en términos de molaridad, la ley de Beer-Lambert proporciona la relación entre  $A$  y  $c$  según.

$$A = \epsilon bc$$

Donde  $b$  se da en  $\text{cm}$  y  $\epsilon$  es una constante de proporcionalidad que se conoce como absorptividad molar. Hipotéticamente hablando,  $\epsilon$  es la absorbancia de una solución  $1 \text{ M}$  en una celda de  $1 \text{ cm}$ .

Si la concentración está dada en otras unidades diferentes de la molaridad, la ley de Beer-Lambert se enuncia en la forma.

$$A = abc$$

Donde la constante de proporcionalidad se simboliza con  $a$  y recibe el nombre de absorptividad. Las unidades de  $a$  dependen de la unidad de concentración empleada.

Si  $A$  se traza en función de  $c$ , el resultado habitual es una recta que pasa por el origen. Se dice que dicho sistema obedece la ley de Beer-Lambert, si la línea se curva hacia arriba en algún punto, se dice que exhibe una desviación positiva de esta ley, si se curva hacia abajo en algún punto, se dice que muestra una desviación negativa de la ley. (14)

c).- Valoraciones espectrofotométricas en la región infrarroja.

La absorción de la radiación en la región del infrarrojo es el resultado de la excitación de la molécula; la cual está formada por átomos que a modo de resortes están en movimiento continuo (moléculas iguales están sujetas a vibraciones iguales).

Los límites del espectro electromagnético que se extienden de 0.8 a 200 micras se consideran como los infrarrojos; sin embargo, generalmente se restringe a regiones de 0.8 a 50 micras que pueden ser explorados con los instrumentos de infrarrojo comerciales, y en donde el espectro se origina principalmente por el alargamiento vibracional y la forma de flexión dentro de las moléculas.

La mayoría de los materiales orgánicos e inorgánicos demuestran una absorción y en todos, excepto en algunos cuantos casos, esta absorción incluye varias longitudes de onda características.

De hecho, el espectro infrarrojo es una de las propiedades más características de un compuesto; provee de una huella para su identificación y una poderosa herramienta para el estudio de la estructura molecular. (16)

Correlaciones empíricas de grupos vibracionales con banda de absorción específicas, ofrecen la posibilidad de una identificación química y acopladas con mediciones de intensidad, de determinaciones cuantitativas.

### 6.3 METODO POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

La cromatografía es esencialmente un método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de ellas es un lecho estacionario, mien-

tras que la otra fluye sobre é a través del lecho estacionario, llamándose éste fase móvil. (17)

Los métodos cromatográficos pueden ser clasificados de acuerdo a la naturaleza de la fase estacionaria, la cual puede ser un sólido o un líquido. Si la fase estacionaria, es un sólido el método es conocido como cromatografía de adsorción, si la fase estacionaria es un líquido se conoce como cromatografía de partición. En cada caso hay cuatro tipos de cromatografía:

- 1) Líquido - sólido
  - Cromatografía de adsorción
  - Cromatografía en capa delgada
  - Cromatografía de intercambio iónico
- 2) Gas - sólido
  - Cromatografía Gas-sólido
- 3) Líquido-líquido
  - Cromatografía de partición
  - Cromatografía en papel
- 4) Gas - líquido
  - Cromatografía Gas-líquido
  - Cromatografía columna capilar

La variable central en la teoría cromatográfica, en el caso de ser adsorción o partición es el coeficiente de distribución de una sustancia en las dos fases del sistema bajo Prueba. (18)

En sistemas de adsorción este coeficiente varía considerablemente con la concentración de la sustancia distribuida y con la temperatura.

Refiriéndonos a la cromatografía de capa fina, podemos decir: la capa fina se compone de material granular colocado sobre un soporte adecuado de vidrio, de metal o una película (fase estacionaria).

La muestra a separar, en forma de solución, es aplicada en gotas o bandas. Después la placa es colocada dentro de una cámara cerrada conteniendo un disolvente (Fase móvil).

La separación se realiza por migración capilar.

La adsorción de un compuesto en solución sobre una superficie, toma lugar principalmente en la interfase sólido líquido. En el equilibrio cuando el número de moléculas ha sido absorbido en una unidad de tiempo toda la situación puede ser expresada por la ecuación.

$$a = \frac{C_a}{C_d}$$

$C_a$  = Concentración en el adsorbente

$C_d$  = Concentración en el disolvente

Donde "a" es igual a la constante de adsorción. El equilibrio es afectado como dijimos anteriormente por la temperatura y la concentración de la solución. Si mantenemos constante la temperatura durante el proceso, entonces la concentración es el único factor al que se le debe prestar el mayor

interés o importancia. (19)

Un valor obtenido de la cromatografía en capa delgada y de vital importancia es el  $R_f$  (relación entre la distancia que se ha movido dividida por la distancia que se ha desplazado al frente del disolvente).

Es un valor relativo que se emplea para caracterizar la separación de cada compuesto en un sistema cromatográfico específico.

Cuando se varíe cualquiera de los componentes del sistema, el valor de  $R_f$  se puede calcular para cada compuesto por medio de la siguiente igualdad:

$$R_f = \frac{a}{b}$$

a = distancia en mm de la línea de aplicación, al centro del compuesto separado.

b = distancia en mm de la línea de aplicación a la altura alcanzada por el disolvente (frente).

Relacionando la constante de adsorción mencionada anteriormente con el valor  $R_f$ , encontraremos que el valor  $R_f$  queda definido por la constante. Mientras mayor sea la atracción del adsorbente sobre el compuesto, mayor será "Ca y éste no será eluido tan fácilmente. El coeficiente de adsorción "a" será mayor y el valor  $R_f$  será menor. Ahora si el grado de atracción electrostática que posee el adsorbente sobre el compues-

to es muy bajo, éste será fácilmente eluido y su concentración en el disolvente "Cd" será mayor que en el adsorbente. El coeficiente de adsorción será menor y consecuentemente el valor de  $R_f$  será mayor. Existen dos casos extremos para los valores de  $R_f$ , a) cuando la sustancia es disuelta completamente en el eluyente y es arrastrada por él ( $R_f=1$ ), b) cuando la sustancia se absorbe completamente al adsorbente no siendo modificada su situación por el paso del eluyente y se queda en el origen ( $R_f=0$ ). (17) (18)

Para obtener valores de  $R_f$  reproducibles debe tenerse en cuenta las siguientes variables:

- a) Calidad de los adsorbentes
- b) Grado de actividad de la capa
- c) Espesor de la capa
- d) Calidad del eluyente
- e) Saturación de la cámara
- f) Técnica
- g) Trayecto y distancia desde el punto de origen
- h) Cantidad de muestra
- i) Sustancias acompañantes
- j) Temperatura
- k) Angulo de la placa con respecto a la vertical
- l) Cantidad de eluyente en el fondo de la cámara

Adsorbentes y Disolventes para Cromatografía en Capa Fi-



Un adsorbente ideal debe poseer un cierto número de cualidades.

Su poder adsorbente debe ser extendido a un gran número de sustancias y su capacidad de adsorción debe ser elevada, para evitar la saturación provocada por las soluciones poco diluídas, es deseable que la fuerza de adsorción del adsorbente sea reproducible y controlable o sea que el grado de activación o desactivación sea siempre el mismo. La adsorción irreversible debe ser la excepción, lo mismo que la formación de sales, lacas, complejos o la catálisis de transformación indeseable de ellos. El adsorbente no debe ser soluble en el disolvente ni tener impurezas que contaminen a la solución.(18)

Es recomendable que el adsorbente sea blanco o un poco coloreado a fin de que la observación visual de las zonas o de los revelados no sean contrarios a un color propio de la sustancia.

Para poder elegir un adsorbente se deben considerar las características de las sustancias que se desean separar: Acidez, basicidad, carácter iónico, solubilidad, posibilidades de reacción con el adsorbente o con el disolvente.

Se considera que la unión entre el adsorbente y la sustancia adsorbida se realiza por fuerzas electrostáticas, las cuales también son responsables de la red cristalina. Por las tensiones eléctricas superficiales se inducen momentos

dipolares ya existentes en combinaciones polares. Así pues, la unión del adsorbente a la superficie del medio de adsorción, esta producida por fuerzas ión-dipolo o dipolo-dipolo respectivamente. Los puentes de hidrógeno participan a menudo de la unión adsorbente - adsorbato.

El contenido de agua que posee un adsorbente tiene un significado decisivo, ya que las moléculas de agua fácilmente adsorbidas bloquean los puntos activos de la superficie. El poder adsorbente varía dentro de grandes límites dependiendo del tratamiento que puedan sufrir. Siendo estos tratamientos activantes o desactivantes.

La activación de los adsorbentes resulta de la disminución de la cantidad de agua adsorbida por el adsorbente, y la desactivación es la operación inversa, es decir el aumento de la cantidad de agua fijada en los centros activos. El agua libre es aquella que se puede fijar o eliminar reversiblemente, por oposición al agua de constitución ya que la eliminación irreversible de ésta ocasiona una modificación progresiva de la estructura del adsorbente con desaparición de sus propiedades adsorbentes. (15)

Con respecto a los disolventes, su poder eluente depende de los siguientes factores.

- 1.- La naturaleza y concentración del disolvente
- 2.- El adsorbente
- 3.- El soluto
- 4.- La temperatura

Manteniendo constantes los tres últimos factores se pueden comparar los disolventes entre si utilizando la velocidad relativa  $R_f$  y estudiar de este modo la variación del  $R_f$  con respecto a la concentración del agente eluente. (19)

Le Rosen ha estudiado de la cromatografía en capa fina las mezclas binarias y terciarias. La variación del  $R_f$  con respecto a estas mezclas no es siempre lineal y frecuentemente al contrario de la fuerza de elución, ya que el  $R_f$  es exaltado por la mezcla de dos disolventes, la elución es más pronunciada para una mezcla de disolventes que con cada uno de los componentes de la mezcla. La clasificación de los disolventes según su poder eluyente depende del método experimental utilizado por el investigador. Esta clasificación se hace por series. (19)

Numerosos trabajos tienen dependencia entre sí, esto se remarca por el hecho de que su forma de clasificación no manifiesta diferencias significativas, teniendo en cuenta los criterios bajo los cuales cada serie tiene su fundamento. Estos criterios pueden incluir propiedades tales como:

- 1.- La solubilidad en el agua
- 2.- El calor específico de humectación de diversos adsorbentes
- 3.- Las tensiones superficiales
- 4.- Las constantes dieléctricas
- 5.- Los momentos dipolares. (18)

Sin entrar en detalle de las consideraciones que tienen motivo para el establecimiento de las series, ni de aquellas interacciones que pueden ser responsables de la elución, aquí únicamente se reproduce la serie de Wohlleben, él relaciona el poder eluyente a la polaridad de los disolventes de tal for-

ma que de acuerdo a su carácter polar es posible darles un orden determinado.

Serie Eluotrópica de acuerdo a Wohlleben

E - 20°C

n-pentano	
Eter de petróleo	
n-hexano	1.89
n-heptano	1.92
Ciclohexano	2.02
Tetracloruro	
de Carbono	2.24
Tricloro etileno	2.26
Benceno	2.28
Diclorometano	3.14
Cloroformo (libre	
de alcohol)	4.34
Eter dietílico	4.80
Acetato de etilo	6.02
Piridina	12.03
n-butanol	19.20
Acetona	20.70
n-propanol	22.30
Etanol	24.30
Metanol	33.62
Agua	80.37
Acidos orgánicos	
Mezclas de ácidos-bases en agua	
Alcoholes o piridina (17)	

La extrema sensibilidad de la cromatografía con toda la variación de condiciones experimentales, nos obliga a utilizar los disolventes purificados. Una impureza, en pequeñas trazas, por ejemplo: etanol presente en cloroformo como estabilizador, puede conducir a resultados erróneos en los valores de  $R_f$ . Con lo anterior debemos considerar dos puntos con respecto a los disolventes. En primer lugar los disolventes, deben ser anhidros o contener una cantidad de agua controlada; el agua siendo un agente eluyente poderoso, presente en trazas variables puede perturbar los cromatogramas. En segundo lugar el disponer de un disolvente recuperado, debe ser obtenido de un tratamiento especial para eliminar cuidadosamente las trazas o impurezas que pudieron haber quedado en el disolvente utilizado. Los componentes de una mezcla de disolventes no tienen la misma afinidad de adsorción para un adsorbente. Este fenómeno se observa durante el desarrollo de una cromatoplaca, donde se utiliza un sistema con diferente constante dieléctrica. (17)

Los disolventes menos polares penetran en el adsorbente rápidamente y constituyen una fase estacionaria. Los disolventes más polares corren lentamente como una fase móvil y forman un segundo frente visible.

## 7.- ANALISIS ESTADISTICO

La relación que existe entre investigación científica y la estadística es la siguiente:

Por la estadística se entenderá "el conjunto de métodos para captar, elaborar, e interpretar datos numéricos", por lo que se considera que es el suministro de un conjunto de herramientas sumamente útiles en la investigación. (20)

En base a esto, se puede deducir que la estadística tiene importante aplicación en las investigaciones, prácticamente en todos los campos del saber humano y en éste caso particular el área farmacéutica.

Por otra parte, la investigación científica es "la búsqueda sistematizada y objetiva de hechos ó explicaciones de fenómenos" y como tal puede realizarse de muy diversas maneras, se han adoptado clasificaciones que permitan un estudio ordenado en términos de complejidad ó de metodología y con la misma finalidad, se propone un agrupamiento de las investigaciones.

Así tenemos que la investigación experimental por medio de la cual se analizan los efectos de la exposición o privación intencionada de un factor bien definido, es una parte de los elementos del conjunto en estudio. (21)

En este caso la estadística es considerablemente importante ya que los problemas de captación, elaboración, análisis e interpretación de información adquieren en general mayor complejidad.

Cuando se conoce que parámetros usar, como usarlos y como

interpretar los resultados se podrá decir que la investigación es productiva.

Los parámetros que se utilizarán en este estudio para determinar el valor real, el coeficiente de variación y el error de la técnica de cada uno de los métodos de valoración, y así especificar cual es el método de elección, son los siguientes:

(20), (22)

Media Aritmética

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Desviación estándar

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

Varianza

$$v = s^2$$

Coeficiente de variación  
o precisión

$$cv = (s/\bar{x}) \quad (100)$$

Rango

$$R = (X \text{ mayor} - X \text{ menor})$$

Error estándar

$$e = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

Límites de confianza

$$Lc = \bar{x} \pm t_{ce}$$

### CAPITULO III

#### PARTE EXPERIMENTAL

La parte experimental de éste trabajo se desarrolló llevando a cabo un plan de trabajo basado en los siguientes métodos analíticos.

- 1.- Determinación volumétrica en medio no acuoso
- 2.- Determinación espectofotométrica
- 3.- Determinación por cromatografía en capa fina

Debido a que con el método establecido por el fabricante del fármaco que es la determinación volumétrica en medio no acuoso se tenían ciertos problemas en cuanto a la reproducibilidad de los resultados, se desarrolló el método espectofotométrico basándonos en las propiedades físicas y químicas del fármaco, éste método se probó utilizando placebos y añadiendo concentraciones conocidas del activo y también en producto terminado, posteriormente se pensó reforzar éste método con la cromatografía en capa fina para comprobar si existían productos de degradación.

De esta manera se elaboraron 5 lotes piloto de 10,000 tabletas cada uno con la siguiente formulación.

Cada tableta contiene:

Clorhidrato de Lidamidina.....	2	mg
Lactosa.....	45	mg
Almidón de maíz .....	45	mg



pladone .....	3	mg
primojel .....	3	mg
talco .....	2	mg

Con ésta formulación se prosiguió a su tableteo obteniendo los siguientes resultados en pruebas físicas.

	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
Peso promedio	0.1015g	0.1008g	0.1018g	0.1003g	0.1022g
Friabilidad	0.25%	0.32%	0.26%	0.30%	0.27%
Desintegración	1'	2'	1,5'	1'	2'
Dureza	5kg/cm <sup>2</sup>	4.5kg/cm <sup>2</sup>	4kg/cm <sup>2</sup>	4,5kg/cm <sup>2</sup>	4kg/cm <sup>2</sup>

Se elaboraron 5 lotes piloto con el objeto de comparar los resultados de lote a lote.

**METODO No. 1**

**1.1 DETERMINACION VOLUMETRICA EN MEDIO NO ACUOSO**

**MATERIAL:**

Bureta de 10 ml  
Balanza analítica  
Soporte universal  
Mortero con pistilo  
Vasos de precipitado de 150 ml  
Matraces Erlenmeyer de 125 ml  
Agitador mecánico  
Parrilla  
Probeta  
Pipeta volumétrica de 5 ml  
Papel Whatman No. 41

**REACTIVOS:**

Acido acético glacial  
Acido perclórico 0.1 N  
Acetato mercurico al 6% en ácido acético  
Indicador cristal violeta

**SOLUCION PROBLEMA**

Pesar 30 tabletas, pulverizar y pesar una cantidad de polvo equivalente a 50 mg de clorhidrato de Lidamidina, transferir dicho polvo a un vaso de precipitado de 150 ml y adicionar 70 ml de ácido acético glacial y 5 ml de acetato mercurico al 6% en ácido acético, agitar 20 minutos con calentamientos y filtrar por papel Whatman No. 41, recibir el filtrado en un matraz Erlenmeyer de 125 ml, lavar con 10 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0.1 N usando como indicador cristal violeta.

**CALCULOS**

$$\text{mg clorhidrato de Lidamidina/tab} = \frac{V \times N \times \text{meq} \times \bar{W}}{W_m}$$

donde:

V = ml consumidos por el ácido perclórico

N = Normalidad del ácido perclórico

meq = Miliequivalente (0.2567)

$\bar{W}$  = Peso promedio de las tabletas expresado en mg

$W_m$  = Peso de la muestra expresado en g

$$\% \text{ Clorhidrato de Lidamidina} = \frac{V \times N \times \text{meq} \times \bar{W} \times 100}{W_m \times \text{ct}}$$

donde:

V = ml consumidos por el ácido perclórico

N = Normalidad

meq = Miliequivalente (0.2567)

$\bar{W}$  = Peso promedio de las tabletas expresado en g

$W_m$  = Peso de la muestra expresado en g

Ct = Contenido teórico de clorhidrato de Lidamidina por  
tableta expresado en g

**METODO No. 2**

**2.1 DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA**

**MATERIAL Y EQUIPO:**

Espectrofotómetro Beckman A.B.  
Celdillas de cuarzo de 1 cm de espesor  
Balanza analítica  
Embudos de separación de 125 ml  
Soporte para embudos de separación  
Mortero con pistilo  
Vasos de precipitado de 125 ml  
Embudos de filtración rápida  
Matraces volumétricos de 25 ml  
Pipeta graduada de 1 ml  
Pipeta volumétrica de 5 ml  
Papel Whatman No. 41

**REACTIVOS:**

Hidróxido de sodio al 10%  
Eter etílico R A  
Acido clorhídrico 0.1 N

**SOLUCION ESTANDAR**

Pesar aproximadamente 10 mg de clorhidrato de Lidamidina es  
tándar. Colocarlos en un embudo de separación de 125 ml, adicio-  
nar 50 ml de agua destilada, agitar 1 minuto y adicionar aproxi-  
madamente 0.5 ml de hidróxido de sodio al 10% para ajustar a un  
pH entre 12-14 agitar 1 minuto y extraer con tres porciones de

30 ml c/u de éter agitando 2 minutos entre cada extracción, co-  
lectar los extractos etéreos en un embudo de separación, lavar -  
los con 15 ml de agua y posteriormente extraer con 2 porciones  
de 10 ml cada una de ácido clorhídrico 0.1 N, coleccionar los ex-  
tractos ácidos en un matraz volumétrico de 25 ml y llevar el  
aforo con HCl 0.1.N

Concentración ( 400  $\mu$ g/ml)

#### SOLUCION PROBLEMA

Pesar 20 tabletas, colocarlas en un mortero y pulverizar--  
las . Pesar la cantidad de polvo equivalente a 10 mg de clorhi-  
drato de Lidamidina, transferirla a un vaso de precipitado de  
150 ml adicionar 50 ml de agua destilada y agitar 10 minutos,  
filtrar con papel Whatman No. 41 y recibir el filtrado en un em-  
budo de separación de 125 ml, adicionar aproximadamente 0.5 ml  
de hidróxido de sodio al 10% para ajustar a un pH entre 12-14,  
agitar 2 minutos y extraer con tres porciones de 30 ml c/u de  
éter agitando 2 minutos entre cada extracción, coleccionar los ex-  
tractos etéreos y lavarlos con 15 ml de agua destilada, poste-  
riormente extraer con 2 porciones de 10 ml c/u de ácido clorhi-  
drico 0.1 N, coleccionar los extractos ácidos en un matraz volumé-  
trico de 25 ml y llevar el aforo con ácido clorhídrico 0.1 N

Concentración teórica ( 400  $\mu$ g/ml).

#### PROCEDIMIENTO

Calibrar el espectrofotómetro a  $263 \pm 2$ nm y 0% de absorban-  
cia y leer tanto la solución estándar como la solución problema  
utilizando como blanco ácido clorhídrico 0.1 N

### CALCULOS

$$\text{mg clorhidrato de Lidamidina/tab} = \frac{A_p}{A_{st}} \times Cst \times \frac{25}{W_p} \times \bar{W}$$

$$\% \text{ Clorhidrato de Lidamidina} = \frac{A_p}{A_{st}} \times Cst \times \frac{25}{W_p} \times \frac{\bar{W}}{CE} \times 100$$

donde:

$A_p$  = absorbancia del problema

$A_{st}$  = absorbancia del estándar

$Cst$  = concentración del estándar en la solución final expresado en mg

$W_p$  = peso de la muestra expresado en mg

$\bar{W}$  = peso promedio de las tabletas expresado en mg

$Ct$  = contenido teórico de clorhidrato de Lidamidina por tableta expresado en mg

**METODO No. 3**

**3.1 DETERMINACION POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA**

**MATERIAL Y EQUIPO:**

Espectrofotómetro Beckman, A.B.  
Celdillas de Cuarzo de 1 cm de espesor  
Balanza analítica  
Cámara cromatográfica  
Gabinete obscuro equipado con fuente de luz UV  
Centrífuga  
Placas de vidrio de 20 x 20 cm con capa de gel de sílica tipo 60 F 254  
Microjeringa de 50 ml  
Embudos de separación de 125 ml  
Soporte para embudos de separación  
Vasos de precipitado de 100 ml  
Tubos de centrifuga  
Pipeta graduada de 1 ml  
Mortero con pistilo

**REACTIVOS:**

Hidróxido de sodio al 10%  
Eter etílico R A  
Cloroformo R A  
Acido clorhídrico 0.1 N  
Metanol R A  
Amoniacó R A

Preparar una cámara cromatográfica utilizando papel filtro colocado en forma de U dentro de la cámara; adicionar una mezcla de metanol, cloroformo, amoniacó (30:20:0.5) tapar y saturar la cámara durante 1 hora, posteriormente preparar la solución estándar y la solución problema.

#### SOLUCION ESTANDAR

Pesar aproximadamente 40 mg de clorhidrato de Lidamidina estándar, transferirlo a un embudo de separación de 125 ml, adicionar 50 ml de agua destilada y agitar 1 minuto, ajustar a un pH entre 12-14 con hidróxido de sodio al 10%, extraer con tres porciones de 30 ml de éter, coleccionar los extractos etéreos en un vaso de precipitado de 100 ml evaporar a sequedad y recuperar el residuo en 2 ml de cloroformo, aplicar 200  $\mu$ l en una placa cromatográfica previamente activada durante media hora a 100°C. Introducir la placa en la cámara cromatográfica y dejar eluir 15 cm aproximadamente, sacar la placa y observar mediante luz ultravioleta la presencia de la mancha, rasparla cuidadosamente y extraerla con 10 ml de ácido clorhídrico 0.1 N, agitar y centrifugar 10 minutos.

Concentración ( 400  $\mu$ g/ml ).

#### SOLUCION PROBLEMA

Pesar 30 tabletas pulverizarlas y pesar la cantidad de polvo equivalente a 40 mg de clorhidrato de Lidamidina, transferirla a un vaso de precipitado de 150 ml, adicionar 50 ml de agua y agitar 2 minutos, filtrar con papel Whatman en un embudo de separación de 125 ml, ajustar a un pH entre 12-14 con hidróxido de sodio al 10% y extraer con tres porciones de 30 ml c/u de éter, coleccionar los extractos etéreos en un vaso de precipitado de 100 ml y evaporar a sequedad, recupe



rar en 2 ml de cloroformo y aplicar en una placa cromatográfica previamente activada durante media hora a 100°C. 200 del problema, introducir la placa en la cámara cromatográfica y dejar eluir 15 cm aproximadamente, sacar la placa y observar mediante luz ultravioleta la presencia de la mancha, rasparla cuidadosamente y extraerla con 10 ml de ácido clorhídrico 0.1 N agitar y centrifugar 10 minutos.

Concentración teórica ( 400  $\mu\text{g/ml}$ )

#### PREPARACION DEL BLANCO

Extraer de la placa cromatográfica una zona que corresponda a la mancha de la solución estándar y de la solución problema, adicionar 10 ml de ácido clorhídrico 0.1 N agitar y centrifugar.

#### PROCEDIMIENTO

Calibrar el espectrofotómetro con el blanco a 263 nm y 0% de absorbancia y leer el estándar y el problema.

**CALCULOS**

$$\text{mg clorhidrato de Lidamidina/tab} = \frac{A_p}{A_{st}} \times \frac{W_{st}}{W_p} \times \bar{W}$$

$$\% \text{ clorhidrato de Lidamidina} = \frac{A_p}{A_{st}} \times \frac{W_{st}}{W_p} \times \frac{\bar{W}}{C_t} \times 100$$

$A_p$  = absorbancia del problema

$A_{st}$  = absorbancia del estándar

$W_{st}$  = peso del estándar expresado en mg

$W_p$  = peso de la muestra expresado en mg

$\bar{W}$  = peso promedio de las tabletas expresado en mg

$C_t$  = contenido teórico de clorhidrato de Lidamidina  
por tableta expresado en mg

#### CAPITULO IV

##### **RESULTADOS.**

Se efectuaron 10 determinaciones por lote empleando tanto el método propuesto por el fabricante del fármaco, como el método espectrofotométrico y por cromatografía en capa fina ya indicados en la parte experimental, éstos dos últimos métodos se probaron primeramente en placebos adicionando concentraciones conocidas de activo y posteriormente en producto terminado realizando las determinaciones anteriormente descritas, obteniéndose los siguientes resultados.

I. VALORES OBTENIDOS EN EL METODO No. 1

DETERMINACION VOLUMETRICA EN MEDIO NO ACUOSO

No. de deter.	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		LOTE 4		LOTE 5	
	mg/tab	%	mg/tab	%	mg/tab	%	mg/tab	%	mg/tab	%
1	1.91	95.83	2.07	103.71	1.96	98.03	1.91	95.46	1.86	93.35
2	1.95	97.85	1.94	97.02	2.03	101.64	1.92	96.36	1.96	98.42
3	1.97	98.72	1.89	94.76	1.94	97.28	1.98	99.28	2.04	102.3
4	1.93	96.50	1.96	98.45	1.86	93.25	2.02	101.25	1.91	95.85
5	2.03	101.64	1.93	96.50	1.94	97.12	2.06	103.36	2.09	104.52
6	1.89	94.85	1.87	93.53	2.12	106.32	1.95	97.53	1.95	97.72
7	1.92	95.89	2.0	100.26	2.07	103.15	1.91	95.85	1.93	96.62
8	2.04	102.12	1.90	95.03	1.89	94.93	1.96	98.32	2.04	102.23
9	1.98	98.81	2.1	105.85	1.95	97.42	1.95	97.70	1.96	98.03
10	1.94	96.78	1.92	96.35	2.08	104.28	2.06	103.35	1.91	95.81

TABLA No. 1

1.1 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación volumétrica en medio no acuoso.

LOTE 1

No. determinaciones	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	95.83	- 2.06	4.2436
2	97.85	- 0.04	0.0016
3	98.72	0.83	0.6889
4	96.50	- 1.39	1.9321
5	101.64	3.75	14.0625
6	94.85	- 3.04	9.2416
7	95.89	- 2.0	4.0
8	102.12	4.23	17.8929
9	98.81	0.92	0.8464
10	96.78	- 1.11	1.2321
	$\Sigma 978.99$		$\Sigma 54.1417$

$$X = \frac{978.99}{10} = 97.89$$

$$s = \sqrt{\frac{54.1417}{9}} = 2.45$$

$$v = (2.45)^2 = 6.0$$

$$CV = (2.45/97.89) (100) = 2.50$$

$$R = 102.12 - 94.85 = 7.27$$

$$e = \sqrt{\frac{54.1417}{90}} = 0.7756$$

$$Lc = 97.89 \pm 2.26 (0.7766)$$

$$Lc = 97.89 \pm 1.75$$

1.2 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación volumétrica en medio no acuoso.

LOTE 2

No. de determinacion	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	103.71	5.57	31.02
2	97.02	- 1.12	1.2544
3	94.76	- 3.38	11.4244
4	98.45	0.31	0.0961
5	96.50	- 1.64	2.6896
6	93.53	- 4.61	21.2521
7	100.26	2.12	4.4944
8	95.03	- 3.11	9.6721
9	105.85	7.71	59.4441
10	<u>96.36</u>	- 1.78	<u>3.1684</u>
	$\Sigma$ 981.47		$\Sigma$ 144.5156

$$\bar{X} = \frac{981.47}{10} = 98.14$$

$$s = \sqrt{\frac{144.5156}{9}} = 4.0$$

$$v = (4)^2 = 16$$

$$CV = (4.0/98.14) (100) = 4.075$$

$$R = 105.85 - 93.56 = 12.29$$

$$e = \sqrt{\frac{144.5156}{90}} = 1.26$$

$$Lc = 98.14 \pm 2.26 (1.26)$$

$$Lc = 98.14 \pm 2.84$$

1.3. Análisis estadístico de los valores obtenidos en la deter-  
minación volumétrica en medio no acuoso.

LOTE 3

No. de determinacion	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	98.03	- 1.31	1.7161
2	101.64	2.30	5.29
3	97.28	- 2.06	4.2436
4	93.25	- 6.09	37.0881
5	97.12	- 2.22	4.92
6	106.32	6.98	48.7204
7	103.15	3.81	14.5161
8	94.93	- 4.41	19.4481
9	97.42	- 1.92	3.6864
10	<u>104.28</u>	4.94	<u>24.4036</u>
	<u>993.42</u>		<u>164.0324</u>

$$\bar{X} = \frac{993.42}{10} = 99.34$$

$$s = \sqrt{\frac{164.0324}{9}} = 4.26$$

$$v = (4.26)^2 = 18.14$$

$$CV = (4.26/99.34) (100) = 4.28$$

$$R = 106.32 - 93.25 = 13.07$$

$$e = \sqrt{\frac{164.0324}{90}} = 1.82$$

$$Lc = 99.34 \pm 2.26 (1.82)$$

$$Lc = 99.34 \pm 4.11$$

1.4 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la detección volumétrica en medio no acusado.

LOTE 4

No. de determinación	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	95.46	- 3.37	11.3569
2	96.36	- 2.47	6.1009
3	99.15	0.32	0.1024
4	101.25	2.42	5.8564
5	103.36	4.53	20.5209
6	97.53	- 1.3	1.69
7	95.85	- 2.98	8.88
8	98.32	- 0.51	0.2601
9	97.70	- 1.13	1.2769
10	<u>103.35</u>	4.52	<u>20.4304</u>
	$\Sigma$ 988.33		$\Sigma$ 76.4749

$$\bar{X} = \frac{988.33}{10} = 98.83$$

$$s = \sqrt{\frac{76.4749}{9}} = 2.91$$

$$v = (2.91)^2 = 8.46$$

$$CV = (2.91/98.83) (100) = 2.94$$

$$R = 103.36 - 95.46 = 7.9$$

$$e = \sqrt{\frac{76.4749}{90}} = 0.9218$$

$$Lc = 98.83 \pm 2.26 (0.9218)$$

$$Lc = 98.83 \pm 2.08$$



1.5 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la deter  
minación volumétrica en medio no acuoso.

LOTE 5

No. de determinación	$x_i$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$
1	93.35	- 5.13	26.3169
2	98.42	- 0.06	0.0036
3	102.30	3.82	14.5924
4	95.85	- 2.63	6.9169
5	104.52	6.04	36.4816
6	97.72	- 0.76	0.5776
7	96.62	- 1.86	3.4596
8	102.23	3.75	14.0625
9	98.03	- 0.45	0.2025
10	<u>95.81</u>	- 2.67	<u>7.1289</u>
	$\Sigma$ 984.85		$\Sigma$ 109.7425

$$\bar{x} = \frac{984.85}{10} = 98.48$$

$$s = \sqrt{\frac{109.7425}{9}} = 3.49$$

$$v = (3.49)^2 = 12.1801$$

$$CV = (3.49/98.48) (100) = 3.54$$

$$R = 104.52 - 93.35 = 11.17$$

$$e = \sqrt{\frac{109.7425}{90}} = 1.10$$

$$Lc = 98.48 \pm 2.26 (1.10)$$

$$Lc = 98.48 \pm 2.48$$

## 2. VALIDACION DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO

Con el objeto de determinar la linealidad del método espectrofotométrico, así como la precisión y exactitud, se realizaron 15 determinaciones utilizando placebos a los que se le adicionaron diferentes concentraciones de clorhidrato de Lidina estándar y se determinó el % de recuperación.

No. de determinación	mg adicionados	mg encontrados	% recuperado
1	8	7.95	99.37
2	8	7.92	99.00
3	8	7.90	98.75
4	8	7.88	98.5
5	8	7.98	99.75
6	10	10.05	100.50
7	10	9.88	98.80
8	10	9.95	99.50
9	10	9.97	99.70
10	10	9.95	99.50
11	12	11.90	99.16
12	12	11.88	99.0
13	12	11.80	98.33
14	12	11.95	99.58
15	12	12.05	100.41

Validación del Método

Análisis estadístico adicionando 8 mg de clorhidrato de Lidamidina.

$X_i$ (% recuperado)	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
99.37	0.296	0.08761
99.00	- 0.074	0.00547
98.75	- 0.324	0.10497
98.50	- 0.574	0.32947
99.75	0.676	0.45697
$\Sigma$ 495.37		$\Sigma$ 0.98449

$$\bar{X} = \frac{495.37}{5} = 99.07$$

$$s = \sqrt{\frac{0.98449}{4}} = 0.4961$$

$$v = (0.4961)^2 = 0.2461$$

$$CV = (0.4961/99.074) (100) = 0.50073$$

$$R = 99.75 - 98.50 = 1.25$$

$$e = \sqrt{\frac{0.98449}{20}} = 0.2218$$

$$Lc = 99.074 \pm 2.78 (0.2218)$$

$$Lc = 99.07 \pm 0.62$$

Análisis estadístico adicionando 10 mg de clorhidrato de Lidamidina.

$X_i$ (% recuperado)	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
100.50	0.9	0.81
98.80	- 0.8	0.64
99.50	- 0.1	0.01
99.70	0.1	0.01
<u>99.50</u>	<u>- 0.1</u>	<u>0.01</u>
$\Sigma$ 498.0		$\Sigma$ 1.48

$$\bar{X} = \frac{498.0}{5} = 99.6$$

$$s = \sqrt{\frac{1.48}{4}} = 0.6082$$

$$v = (0.6082)^2 = 0.3699$$

$$CV = (0.6082/99.6) (100) = 0.6106$$

$$R = 100.50 - 98.80 = 1.7$$

$$e = \sqrt{\frac{1.48}{20}} = 0.2720$$

$$Lc = 99.6 \pm 2.78 (0.2720)$$

$$Lc = 99.60 \pm 0.76$$

Análisis estadístico adicionando 12 mg de clorhidrato de Lidamidina.

$X_i$ (% recuperado)	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
99.16	- 0.13	0.0169
99.0	- 0.29	0.0841
98.33	- 0.96	0.9216
99.58	0.29	0.0841
<u>100.41</u>	<u>1.12</u>	<u>1.2544</u>
$\Sigma$ 496.48		$\Sigma$ 2.3611

$$\bar{X} = \frac{496.48}{5} = 99.29$$

$$S = \sqrt{\frac{2.3611}{4}} = 0.7682$$

$$V = (0.7682)^2 = 0.59013$$

$$CV = (0.7682/99.29) (100) = 0.7736$$

$$R = 100.41 - 98.33 = 2.08$$

$$e = \sqrt{\frac{2.3611}{20}} = 0.3435$$

$$Lc = 99.29 \pm 2.78 (0.3435)$$

$$Lc = 99.29 \pm 0.95$$

2.1 LINEARIDAD DEL METODO ESPECTROFOTOMETRICO (22)

mg recuperados	mg adicionados
$\bar{X} = 7.926$	8
$\bar{X} = 9.96$	10
$\bar{X} = 11.91$	12

Determinación del Factor de Correlación  $r^2$

X	Y	$X^2$	$Y^2$	XY
7.926	8	62.82	64	63.408
9.96	10	99.20	100	99.60
<u>11.91</u>	<u>12</u>	<u>141.84</u>	<u>144</u>	<u>142.92</u>
Sumas 29.796	30	303.86	308	305.92
medias 9.93	10			

$$\frac{(\sum X)^2}{n} = 295.93$$

$$\frac{(\sum Y)^2}{n} = 300$$

$$\frac{(\sum X) \cdot (\sum Y)}{n} = 297.96$$

$$SCD_x = 303.86 - 295.93 = 7.93$$

$$SCD_y = 308 - 300 = 8$$

$$SCD_{xy} = 305.92 - 297.96 = 7.96$$

SCDx = Sumatoria de los cuadrados de las diferencias de x.

SCDy = Sumatoria de los cuadrados de las diferencias de y.

SCDxy = Sumatoria de los cuadrados de las diferencias de xy.

$$r^2 = \frac{(SCDxy)^2}{(SCDx) (SCDy)}$$

$$r^2 = \frac{(7.96)^2}{(7.93) (8)}$$

$$r^2 = 0.9987$$

Ecuación de la recta

$$Y = a_0 + a_1 x$$

$$\text{Pendiente} = a_1 = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1}$$

$$a_1 = \frac{12 - 8}{11.91 - 7.926} = 1.004$$

Para el punto 1

$$Y = a_0 + a_1 X$$

$$Y = a_0 + 1.004 (x)$$

$$8 = a_0 + 1.004 (7.926)$$

$$a_0 = 8 - 7.926 (1.004)$$

$$a_0 = 0.0422$$

Para el punto 2

$$12 = a_0 + 1.004(11.91)$$

$$12 = a_0 + 11.9576$$

$$a_0 = 12 - 11.9576$$

$$a_0 = 12 - 11.9576$$

$$a_0 = 0.0424$$

Determinación del intercepto cuando  $x = 0$

$$Y = 0.0422 + 1.004 X$$

$$Y = 0.0422 + 1.004 (0)$$

$$Y = 0.0422$$

LINEARIDAD DEL METODO

ESPECTROFOTOMETRICO

mg recuperados

mg recuperados

$\bar{X} = 7.926$

8

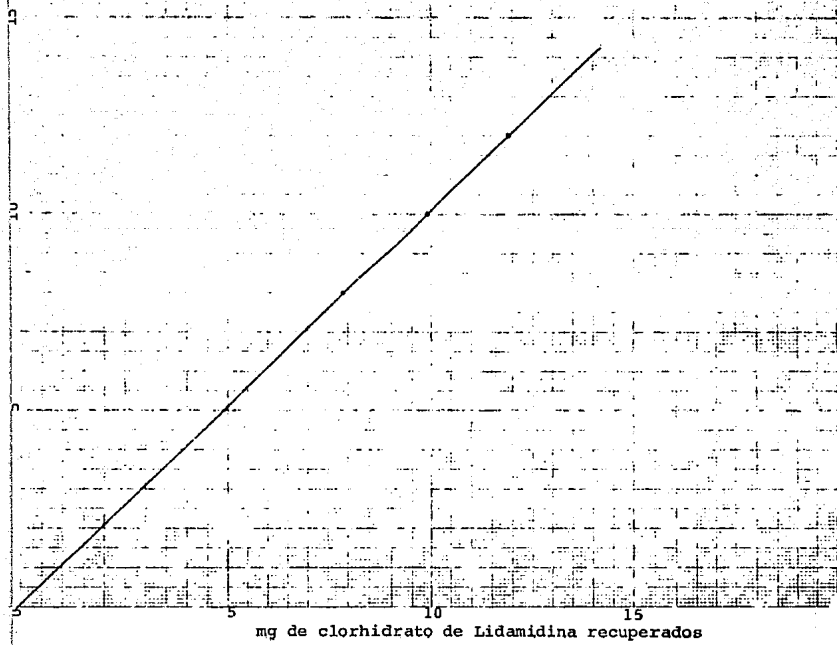
$\bar{X} = 9.96$

10

$\bar{X} = 11.91$

12

$r = 0.99934$





2.2 VALORES OBTENIDOS EN EL METODO No. 2

DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA.

No. de deter.	L O T E 1		L O T E 2		L O T E 3		L O T E 4		L O T E 5	
	mg/tab	%	mg/tab	%	mg/tab	%	mg/tab	%	mg/tab	%
1	1.98	99.4	2.03	101.9	2.03	101.6	2.05	102.7	2.04	102.2
2	2.0	100.0	2.00	100.27	2.04	102.2	2.04	102.4	2.06	103.0
3	1.99	99.89	1.97	98.89	1.98	99.17	2.01	100.8	2.01	100.8
4	1.99	99.70	2.02	101.38	1.99	99.72	1.97	98.6	1.97	98.6
5	2.00	100.27	1.94	97.23	1.97	98.89	1.98	99.17	1.96	98.3
6	2.05	102.76	2.00	100.27	2.02	101.10	2.0	100.0	1.98	99.4
7	1.97	98.79	1.98	99.17	2.03	101.9	2.01	100.5	1.97	98.68
8	2.01	100.5	2.0	100.0	1.98	99.17	1.97	98.61	2.04	102.2
9	2.04	102.2	2.02	101.38	2.0	100.0	1.96	98.06	2.06	103.3
10	2.02	101.10	1.99	99.44	2.01	100.8	2.00	100.2	1.97	98.61

TABLA No. 2

2.3 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación espectrofotométrica.

LOTE 1

No. de determinación	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	99.40	-1.06	1.1236
2	100.00	-0.46	0.2116
3	99.89	-0.57	0.3249
4	99.70	-0.76	0.5776
5	100.27	-0.19	0.0361
6	102.76	2.3	5.29
7	98.79	-1.67	2.78
8	100.50	0.04	0.0016
9	102.20	1.74	3.0276
10	<u>101.10</u>	0.64	<u>0.4096</u>
	1002,61		13.7826

$$\bar{X} = \frac{1004.61}{10} = 100.46$$

$$s = \sqrt{\frac{13.7826}{9}} = 1.23$$

$$v = (1.23)^2 = 1.513$$

$$Cv = 1.23/100.46 (100) = 1.22$$

$$R = 102.76 - 98.79 = 3.97$$

$$e = \sqrt{\frac{13.7826}{90}} = 0.3914$$

$$Lc = 100.46 \pm 2.26 (0.3914)$$

$$Lc = 100.46 \pm 0.884$$

2.4 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación espectrofotométrica.

LOTE 2

No. de determinación	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	101.9	1.97	3.8809
2	100.27	0.34	0.1156
3	98.89	- 1.04	1.0816
4	101.38	1.45	2.1025
5	97.23	- 2.70	7.29
6	100.27	0.34	0.1156
7	99.17	- 0.76	0.5776
8	100.0	0.07	0.0049
9	101.38	1.45	2.1025
10	99.44	- 0.49	0.2401
	<u>999.93</u>		<u>17.5113</u>

$$\bar{X} = \frac{999.93}{10} = 99.93$$

$$s = \sqrt{\frac{17.5113}{9}} = 1.39$$

$$v = (1.39)^2 = 1.9321$$

$$cv = (1.39/99.93) (100) = 1.3909$$

$$R = 101.9 - 97.23 = 4.67$$

$$e = \sqrt{\frac{17.5113}{90}} = 0.4411$$

$$Lc = 99.93 \pm 2.26 (0.4411)$$

$$Lc = 99.93 \pm 0.997$$

2.5 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación espectrofotométrica.

LOTE 3

No. de determinación	$x_i$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$
1	101.6	1.15	1.3225
2	102.2	1.75	3.0625
3	99.17	- 1.28	1.6384
4	99.72	- 0.73	0.5329
5	98.89	- 1.56	2.4336
6	101.10	0.65	0.4225
7	101.9	1.45	2.1025
8	99.17	- 1.28	1.6384
9	100.0	- 0.45	0.2025
10	100.8	0.35	0.1225
	$\Sigma 1004.55$		$\Sigma 13.4783$

$$\bar{x} = \frac{1004.55}{10} = 100.45$$

$$s = \sqrt{\frac{13.4783}{9}} = 1.22$$

$$v = (1.22)^2 = 1.48$$

$$CV = (1.22/100.45) (100) = 1.21$$

$$R = 102.2 - 98.89 = 3.31$$

$$e = \sqrt{\frac{13.4783}{90}} = 0.3869$$

$$Lc = 100.45 \pm 2.26 (0.3869)$$

$$Lc = 100.45 \pm 0.874$$

2.6 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación espectrofotométrica,

LOTE 4

No. de determinación	$x_i$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$
1	102.7	2.6	6.76
2	102.4	2.3	5.29
3	100.8	0.7	0.49
4	98.6	- 1.5	2.25
5	99.17	- 0.93	0.8649
6	100.0	- 0.1	0.01
7	100.5	0.4	0.16
8	98.6	- 1.49	2.22
9	98.06	- 2.04	4.16
10	100.2	0.1	0.01
	$\Sigma 1001.04$		$\Sigma 20.21$

$$\bar{x} = \frac{1001.04}{10} = 100.10$$

$$s = \sqrt{\frac{20.21}{9}} = 1.49$$

$$v = (1.49)^2 = 2.22$$

$$CV = (1.49/100.10) (100) = 1.48$$

$$R = 102.7 - 98.06 = 4.64$$

$$e = \sqrt{\frac{20.21}{90}} = 0.4738$$

$$Lc = 100.10 \pm 2.26 (0.4738)$$

$$Lc = 100.10 \pm 1.07$$

2.7 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación espectrofotométrica.

LOTE 5

No. de determinación	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	102.2	1.7	2.89
2	103.0	2.5	6.25
3	100.8	0.3	0.09
4	98.6	- 1.9	3.61
5	98.3	- 2.2	4.84
6	99.4	- 1.1	1.21
7	98.68	- 1.82	3.31
8	102.2	1.7	2.89
9	103.3	2.5	6.25
10	98.61	- 1.89	3.57
	$\Sigma 1005.09$		$\Sigma 34.91$

$$\bar{X} = \frac{1005.09}{10} = 100.50$$

$$s = \sqrt{\frac{34.91}{9}} = 1.9$$

$$v = (1.9)^2 = 3.61$$

$$CV = (1.9/100.50) (100) = 1.89$$

$$R = 103.3 - 98.3 = 5$$

$$e = \sqrt{\frac{34.91}{90}} = 0,6228$$

$$Lc = 100,50 \pm 2.26 (0,6228)$$

$$Lc = 100,50 \pm 1,40$$

Una vez que se validó el método espectrofotométrico se hizo lo mismo con la cromatografía en capa fina ya que aunque la técnica de uno y otro método es similar sólo con ligeros cambios para ajustarse a la cromatografía en capa fina, era necesario observar su comportamiento en placebos con concentraciones conocidas de activo y en producto terminado.

### 3. VALIDACION DEL METODO CROMATOGRAFICO

Con el objeto de determinar la linealidad del método por cromatografía en capa fina así como la precisión y exactitud, se realizaron 15 determinaciones utilizando placebos a los que se le adicionaron diferentes concentraciones de clorhidrato de lidamidina estándar y se determinó el % de recuperación.

No. de determinación    mg adicionados    mg encontrados    % recuperado

1	32	31.80	99.37
2	32	31.0	96.87
3	32	32.05	100.15
4	32	30.65	95.78
5	32	31.60	98.75
6	40	39.70	90.25
7	40	38.60	96.50
8	40	38.80	97.0
9	40	39.85	99.62
10	40	39.70	99.25
11	48	45.80	95.41
12	48	47.10	98.12
13	48	47.00	97.91
14	48	47.75	99.47
15	48	46.30	96.45



Validación del método.

Análisis estadístico adicionando 32 mg de clorhidrato de Lidamidina.

$x_i$ (% recuperado)	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$
99.37	1.19	1.4161
96.87	- 1.31	1.7161
100.15	1.97	3.8809
95.78	- 2.4	5.760
98.75	0.57	0.3249
$\Sigma$ 490.92		$\Sigma$ 13.098

$$\bar{x} = \frac{490.92}{5} = 98.18$$

$$s = \sqrt{\frac{13.098}{4}} = 1.8095$$

$$v = (1.8095)^2 = 3.2742$$

$$cv = (1.8095/98.18) (100) = 1.8430$$

$$R = 100.15 - 95.78 = 4.37$$

$$e = \sqrt{\frac{13.098}{20}} = 0.8092$$

$$Lc = 98.18 \pm 2.78 (0.8092)$$

$$Lc = 98.18 \pm 2.25$$

Análisis estadístico adicionando 40 mg de clorhidrato de Lidamidina.

$X_i$ (% recuperado)	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
99.25	0.93	0.8649
96.50	- 1.82	3.3124
97.0	- 1.32	1.7424
99.62	1.30	1.69
<u>99.25</u>	<u>0.93</u>	<u>0.8649</u>
<u>Σ 491.62</u>		<u>Σ 8.4746</u>

$$\bar{X} = \frac{491.62}{5} = 98.32$$

$$s = \sqrt{\frac{8.4746}{4}} = 1.455$$

$$v = (1.455)^2 = 2.1170$$

$$CV = (1.455/98.32) (100) = 1.4798$$

$$R = 99.62 - 96.50 = 3.12$$

$$e = \sqrt{\frac{8.4746}{20}} = 0.6509$$

$$Lc = 98.32 \pm 2.78 (0.6509)$$

$$Lc = 98.32 \pm 1.81$$

Análisis estadístico adicionando 48 mg de clorhidrato de Lidamidina.

$X_i$ (% recuperado)	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
95.41	- 2.06	4.2436
98.12	0.65	0.4225
97.91	0.44	0.1936
99.47	2.0	4.00
$\Sigma$ 96.45	<u>- 1.02</u>	<u>1.040</u>
$\Sigma$ 487.36		$\Sigma$ 9.8997

$$\bar{X} = \frac{487.36}{5} = 97.47$$

$$s = \sqrt{\frac{9.8997}{4}} = 1.5731$$

$$v = (1.5731)^2 = 2.4746$$

$$CV = (1.5731/97.47) (100) = 1.6139$$

$$R = 99.47 - 95.41 = 4.06$$

$$e = \sqrt{\frac{9.8997}{20}} = 0.7035$$

$$Lc = 97.47 \pm 2.78 (0.7035)$$

$$Lc = 97.47 \pm 1.96$$

3.1 LINEARIDAD DEL METODO DE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

mg recuperados	mg adicionados
$\bar{X} = 31.42$	32
$\bar{X} = 39.32$	40
$\bar{X} = 46.79$	48

Determinación del factor de correlación  $r^2$

	X	Y	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	XY
	31.42	32	987.21	1024	1005.44
	39.33	40	1546.84	1600	1573.20
	46.79	48	2189.30	2304	2245.92
Sumas	<u>117.54</u>	<u>120</u>	<u>4723.35</u>	<u>4928</u>	<u>4824.56</u>

medias      39.18    40

$$\frac{(\sum X)^2}{n} \qquad 4605.217$$

$$\frac{(\sum Y)^2}{n} \qquad 4800$$

$$\frac{(\sum X)(\sum Y)}{n} \qquad 4701.6$$

$$SCD_x = 4723.35 - 4605.217 = 118.133$$

$$SCD_y = 4928 - 4800 = 128$$

$$SCD_{xy} = 4824.56 - 4701.6 = 122.96$$

SCDx = Sumatoria de los cuadrados de las diferencias de x.

SCDy = Sumatoria de los cuadrados de las diferencias de y.

SCDxy = Sumatoria de los cuadrados de las diferencias de xy.

$$r^2 = \frac{(SCDxy)^2}{(SCDx)(SCDy)}$$

$$r^2 = \frac{(122.96)^2}{(118.133)(128)}$$

$$r^2 = 0.9998$$

Ecuación de la recta

$$Y = a_0 + a_1x$$

$$\text{Pendiente} = a_1 = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1}$$

$$a_1 = \frac{48 - 32}{46.79 - 31.42} = 1.040$$

Para el punto 1

$$Y = a_0 + a_1x$$

$$Y = a_0 + 1.040 (X)$$

$$32 = a_0 + 1.040 (31.42)$$

$$a_0 = 32 - 31.42 (1.040)$$

$$a_0 = -0.6768$$

Para el punto 2

$$48 = a_0 + 1.040 (46.79)$$

$$48 = a_0 + 48.6616$$

$$a_0 = 48 - 48.6616$$

$$a_0 = -0.6616$$

Determinación del intercepto cuando X = 0

$$Y = -0.6768 + 1.040X$$

$$Y = 0.6768 + 1.040 (0)$$

$$Y = -0.6768$$

DE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

mg recuperados

$\bar{X}$  = 31.42

$\bar{X}$  = 39.33

$\bar{X}$  = 46.79

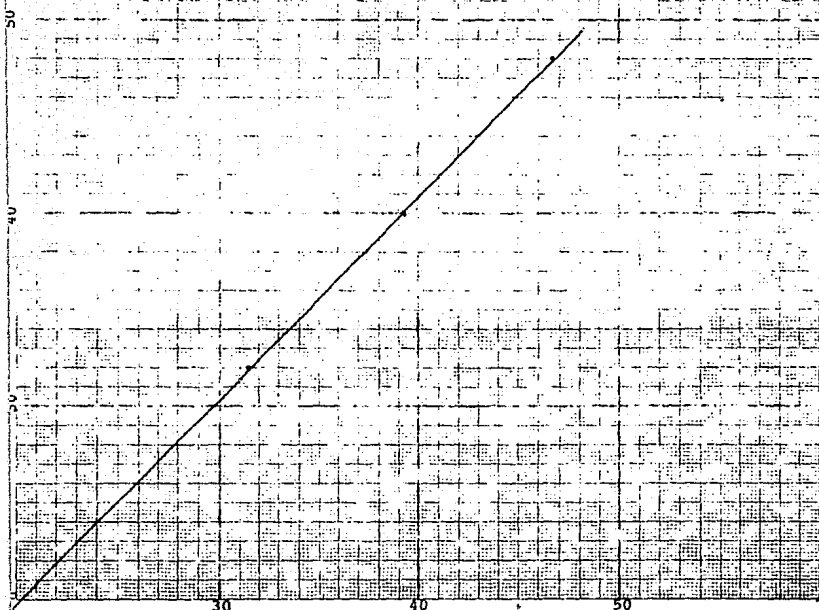
mg adicionados

32

40

48

$r = 0.99989$



mg de clorhidrato de Lidamidina recuperados

3.2. VALORES OBTENIDOS EN EL METODO No. 3  
 DETERMINACION POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

No. de deter.	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		LOTE 4		LOTE 5	
	mg/tab	%	mg/tab	%	mg/tab	%	mg/tab	%	mg/tab	%
1	1.96	98.21	1.95	97.85	1.97	98.92	1.95	97.5	1.90	95.35
2	1.95	97.85	1.93	96.42	2.08	104.28	1.91	95.71	1.94	97.14
3	1.97	98.57	2.00	100.35	2.01	100.7	1.97	98.57	1.96	98.21
4	2.01	100.71	1.96	98.21	1.96	98.21	1.98	99.28	2.01	100.71
5	1.98	99.28	1.97	98.92	1.93	96.42	2.02	101.42	1.93	98.12
6	1.97	98.92	1.99	99.64	1.95	97.5	2.05	102.50	2.03	101.78
7	1.94	97.14	1.95	97.5	1.96	98.21	1.98	99.28	2.05	102.85
8	1.99	99.64	1.93	96.45	2.00	100.35	1.95	97.5	1.93	96.42
9	2.03	101.78	2.04	102.14	1.93	96.42	1.96	98.21	2.07	103.57
10	1.93	96.41	2.00	100.35	1.98	99.28	2.02	101.28	1.95	97.5

TABLA No. 3

3.3 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la deter  
minación por cromatografía en capa fina.

LOTE 1

No. de determinación	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	98.21	- 0.64	0.4096
2	97.85	- 1.0	1.0
3	98.57	- 0.28	0.0784
4	100.7	1.85	3.4225
5	99.28	0.43	0.1849
6	98.92	0.07	0.0049
7	97.14	- 1.71	2.9241
8	99.64	0.79	0.6241
9	101.78	2.93	8.5849
10	<u>96.41</u>	2.44	<u>5.9536</u>
	$\Sigma$ 988.51		$\Sigma$ 23.187

$$\bar{X} = \frac{988.51}{10} = 98.85$$

$$s = \sqrt{\frac{23.187}{9}} = 1.60$$

$$v = (1.60)^2 = 2.56$$

$$Cv = (1.60/98.85) (100) = 1.62$$

$$R = 101.78 - 96.41 = 5.37$$

$$e = \sqrt{\frac{23.187}{90}} = 0.5075$$

$$Lc = 98.85 \pm 2.26 (0.5075)$$

$$Lc = 98.85 \pm 1.15$$



3.4 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la deter  
minación por cromatografía en capa fina.

LOTE 2

No. de determinación	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	97.85	- 0.93	0.8649
2	96.42	- 2.36	5.5696
3	100.35	1.57	2.4649
4	98.21	- 0.51	0.2601
5	98.92	0.14	0.0196
6	99.64	0.86	0.7396
7	97.5	- 1.28	1.6384
8	96.45	- 2.33	5.4289
9	102.14	3.36	11.2896
10	<u>100.35</u>	1.57	<u>2.4649</u>
	$\Sigma$ 987.83		$\Sigma$ 30.7405

$$\bar{X} = \frac{987.83}{10} = 98.78$$

$$s = \sqrt{\frac{30.7405}{9}} = 1.848$$

$$V = (1.84)^2 = 3.3856$$

$$CV = (1.84/98.78) (100) = 1.8627$$

$$R = 102.14 - 96.42 = 5.72$$

$$e = \sqrt{\frac{30.7405}{90}} = 0.5844$$

$$Lc = 98.78 \pm 2.26 (0.5844)$$

$$Lc = 98.78 \pm 1.32$$

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

3.5 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación por cromatografía en capa fina.

LOTE 3

No. de determinación	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	98.92	- 0.1	0.01
2	104.28	5.26	27.6676
3	100.7	1.68	2.8224
4	98.21	0.74	0.5476
5	96.42	2.6	6.76
6	97.5	1.52	2.3104
7	98.21	0.81	0.6561
8	100.35	1.33	1.7689
9	96.42	- 2.6	6.76
10	99.28	0.26	0.0676
	<u>Σ 990.29</u>		<u>Σ 49.3706</u>

$$\bar{X} = \frac{990.19}{10} = 99.02$$

$$s = \sqrt{\frac{49.3706}{9}} = 2.34$$

$$V = (2.34)^2 = 5.47$$

$$CV = (2.34/99.02) (100) = 2.3631$$

$$R = 104.28 - 96.42 = 7.86$$

$$e = \sqrt{\frac{49.3706}{90}} = 0.7406$$

$$Lc = 99.02 \pm 2.26 (0.7406)$$

$$Lc = 99.02 \pm 1.67$$

3.6 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación por cromatografía en capa fina.

LOTE 4

No. de determinación	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	97.5	- 1.62	2.6244
2	95.71	- 3.41	11.6281
3	98.57	- 0.55	0.3025
4	99.28	0.16	0.0256
5	101.42	2.3	5.29
6	102.50	3.38	11.4244
7	99.28	0.16	0.0256
8	97.5	- 1.62	2.6244
9	98.21	- 0.91	0.8281
10	101.28	2.16	4.6656
	<u>991.25</u>		<u>39.4387</u>

$$\bar{X} = \frac{991.25}{10} = 99.12$$

$$s = \sqrt{\frac{39.4387}{9}} = 2.09$$

$$v = (2.09)^2 = 4.36$$

$$CV = (2.09/99.12) (100) = 2.10$$

$$R = 102.50 - 95.71 = 6.79$$

$$e = \sqrt{\frac{39.4387}{90}} = 0.6619$$

$$Lc = 99.12 \pm 2.26 (0.6619)$$

$$Lc = 99.12 \pm 1.49$$

3.7 Análisis estadístico de los valores obtenidos en la determinación por cromatografía en capa fina.

LOTE 5

No. de determinación	$X_i$	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
1	95.35	- 3.81	14.5161
2	97.14	- 2.02	4.0804
3	98.21	- 0.95	0.9025
4	100.71	1.55	2.4025
5	98.12	- 1.04	1.0816
6	101.78	2.62	6.8644
7	102.85	3.69	13.6161
8	96.42	- 2.74	7.5076
9	103.57	4.41	19.4481
10	97.5	- 1.66	2.7556
	<u>Σ 991.65</u>		<u>Σ 73.1749</u>

$$\bar{X} = \frac{991.65}{10} = 99.16$$

$$s = \sqrt{\frac{73.1749}{9}} = 2.85$$

$$v = (2.85)^2 = 8.12$$

$$CV = (2.85/99.16) (100) = 2.87$$

$$R = 103.57 - 95.35 = 8.22$$

$$e = \sqrt{\frac{73.1749}{90}} = 0.9016$$

$$Lc = 99.16 \pm 2.26 (0.9016)$$

$$Lc = 99.16 \pm 2.04$$

#### 4. COMPARACION ESTADISTICA DE RESULTADOS

La comparación se llevó a cabo utilizando los resultados obtenidos del lote 1.

METODO 1      METODO 2      METODO 3

Media Aritmética	97.89	100.46	98.85
Desviación Estándar	2.45	1.23	1.60
Varianza	6.0	1.51	2.56
Coficiente de Variación	2.50	1.22	1.62
Error Estándar	0.775	0.391	0.507
Límites de confianza	97.89±1.75	100.46±0.884	98.85±1.146
Rango	7.27	3.97	5.37

TABLA No. 4

## Evaluación del costo de cada uno de los métodos estudiados

METODO # 1					
Determinación Unitaria		Por 50 Determinaciones	Costo Reactivo	Costo por 50 Determ.	Costo Directo
Peso de la muestra	50 mg	2500 mg			
Acido acético g	85 ml	4250 ml	\$ 7,700 (gal)	\$ 9,350	
Acetato mercurio	300 mg	15000 mg	\$ 54,160 (250g)	\$ 3,249	
Acido Perclórico	2 ml	100 ml	\$ 3,570 (1 )	\$ 357	\$ 12,956
METODO # 2					
Peso de la muestra	10 mg	500 mg			
Hidróxido de sodio	50 mg	2500 mg	\$ 6,710 (500g)	\$ 33.5	
Eter	90 ml	4500 ml	\$ 9,370 (gal)	\$ 12,047	
Acido Clorhídrico	0.2 ml	10 ml	\$ 4,550 (gal)	\$ 45.5	\$ 12,126
METODO # 3					
Peso de la muestra	40 mg	2000 mg			
Hidróxido de Sodio	50 mg	2500 mg	\$ 6,710 (500g)	\$ 33.5	
Eter	90 ml	4500 ml	\$ 9,370 (gal)	\$ 12,047	
Cloroformo	7 ml	350 ml	\$ 8,260 (gal)	\$ 826	
Metanol	7.5 ml	375 ml	\$ 3,970 (gal)	\$ 425.3	\$ 13,331

## CAPITULO V

### COMENTARIOS

Este estudio se realizó con el objeto de desarrollar un método de análisis para la determinación de clorhidrato de Lidamida en tabletas que resultara reproducible, específico, exacto y confiable.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla No. 4 donde se muestran los valores promedios de los datos estadísticos de cada uno de los tres métodos estudiados se puede observar lo siguiente:

- 1.- Respecto a la desviación estándar ( $S$ ), que es un índice conveniente para expresar el grado de dispersión que existe entre cada uno de nuestros valores obtenidos ( $X_i$ ), de los tres métodos, la menor dispersión se observa en el método # 2.
- 2.- Respecto a la varianza ( $V$ ) que se define como el cuadrado de la desviación estándar, observamos que de los tres métodos la menor varianza es la que se obtiene en el método # 2.
- 3.- El coeficiente de variación ( $CV$ ), que no es más que la desviación estándar expresada como porcentaje del valor medio, lo que da una idea más inmediata del grado de dispersión de la media. De los resultados obtenidos la menor dispersión se observa en el método # 2.
- 4.- El error promedio ( $e$ ) observado en cada uno de los tres métodos es menor en el método # 2.
- 5.- Lo mismo sucede con el rango que es otra medida de dispersión si bien menos exacta que la desviación estándar no obs-

tante es de mayor facilidad para su determinación. De los tres métodos, el menor rango es el que se observa en el método # 2.

6.- De acuerdo a la comparación de los métodos de análisis tomando los valores promedio de error y los valores promedio de las medias de dispersión de la tabla 4 se puede observar cuanta diferencia significativa existe o no entre la "t" de Student y la relación de varianzas "F" de cada uno de los métodos estudiados.

Comparación de los Métodos 1 y 2

Fórmulas utilizadas (23), (24).

$$t = \frac{M - M_1}{\sqrt{e^2 + e_1^2}}$$

Grados de libertad

$$2n - 2 = 2(10) - 2 = 18$$

$$\frac{t_{teoría} = 2.10}{\text{Con 95\% de probabilidad}}$$

$$F = \frac{v^1}{v}$$

v = Varianza

$$v = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

$$v^1 = \frac{\sum (x_{i1} - \bar{x})^2 + \sum (x_{i2} - \bar{x})^2}{2n - 2}$$

$$\frac{F_{teórica} = 2.77}{\text{Con 95\% de probabilidad}}$$

	$\bar{x}$	$\bar{e}$	$\bar{v}$
M <sub>1</sub>	97.89	0.775	6.0
M <sub>2</sub>	100.46	0.391	1.51



$$t = \frac{100.46 - 97.89}{\sqrt{(0.391)^2 + (0.775)^2}}$$

$$t = 2.96$$

$$t_{\text{teo.}} < t_{\text{exp.}}$$

Por lo tanto la diferencia es significativa.

$$V = \frac{54.1417}{9} = 6.01$$

$$V_1 = \frac{13.7826}{9} = 1.53$$

$$V^1 = \frac{67.92}{18} = 3.77$$

$$F = \frac{3.77}{6.01} = 0.6274$$

$F_{\text{teo.}} > F_{\text{exp.}}$   
Por lo tanto la diferencia no es significativa.

Comparación de los Métodos 2 y 3

	$\bar{x}$	$\bar{e}$	$\bar{v}$
$M_2$	100.46	0.391	1.51
$M_3$	98.85	0.5075	2.56

$$t = \frac{100.46 - 98.85}{\sqrt{(0.391)^2 + (0.5075)^2}}$$

$$t = 2.51$$

$$t_{\text{teo.}} < t_{\text{exp.}}$$

Por lo tanto la diferencia es significativa

$$V = \frac{13.7826}{9} = 1.49$$

$$V_1 = \frac{23.187}{9} = 2.57$$

$$V^1 = \frac{36.9696}{18} = 2.05$$

$$F = \frac{2.05}{1.49} = 1.37$$

$$F_{\text{teo.}} > F_{\text{exp.}}$$

Por lo tanto la diferencia no es significativa

Comparación de los Métodos 1 y 3

	$\bar{x}$	$\bar{e}$	$\bar{v}$
$M_1$	97.89	0.775	6.0
$M_2$	98.85	0.5075	2.56

$$t = \frac{98.85 - 97.89}{\sqrt{(0.5075)^2 + (0.775)^2}}$$

$$t = 1.036$$

$$t_{\text{teo.}} > t_{\text{exp.}}$$

Por lo tanto la diferencia  
no es significativa

$$V = \frac{54.1417}{9} = 6.01$$

$$V_1 = \frac{23.187}{9} = 2.57$$

$$V^1 = \frac{77.3287}{18} = 4.29$$

$$F = \frac{4.29}{6.01} = 0.7138$$

$$F_{\text{teo.}} > F_{\text{exp.}}$$

Por lo tanto la diferencia no  
es significativa.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

Una vez analizados los tres métodos analíticos estudiados y en base a los resultados obtenidos se concluye que el método # 2, que es la determinación espectrofotométrica al ultravioleta es el método de elección ya que de acuerdo a la validación realizada del mismo se determina como lineal y exacto, y en base al resultado del análisis estadístico descrito en los comentarios se establece como reproducible y confiable, por otra parte conforme a la comparación estadística de métodos en donde se observa que no existe diferencia significativa en las medias de dispersión de cada uno de los tres métodos, sin embargo hay diferencia significativa en los valores promedios, es en el método # 2, en donde se encuentran valores promedio menores con lo que se puede afirmar que es reproducible.

Además es específico pues se obtiene similitud de absorción en soluciones problema frente al estándar de clorhidrato de Lidamidina.

Al realizar la comparación de costos se obtiene que es mínima la diferencia que existe entre los tres métodos, siendo un poco menor en el método # 2.

Todo método analítico para poder ser aplicable tanto en

la práctica rutinaria como en la investigación debe cumplir con los requisitos de confiabilidad, reproducibilidad, linealidad, exactitud y especificidad, siendo el método # 2, el que mejor cumple con dichos requisitos por lo que resulta el óptimo para la valoración de clorhidrato de Lidamidina en tabletas.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Del Pozo A. Gastón de Iriarte E.  
Enciclopedia Farmacéutica  
Métodos Analíticos de Identificación y Valoración  
Tomo III  
Editorial Científico-Médica  
Barcelona 1963  
Págs. 678-679, 687.
  
- 2) Ylla-Catalá M.  
Noticias técnicas  
La Validación: Un reto actual - normas para una correcta  
validación.  
Vol. 2 Núm. 1  
1983.  
Págs. 25-28.
  
- 3) Mir G.N. e Coll  
Mechanism of action Studies of Lidamide hydrochloride,  
a novel antidiarrheal agent.  
Arzneim. Forsch-Durg Res., 28, 1454  
1978.

- 4) Información proporcionada por el fabricante del fármaco  
Resfar Italia  
Apoyada en:  
Zalipsky J.J. e Coll.  
Analytical - Physical profile of Lidamide hydrochloride  
a novel antidiarrheal agent.  
Arzneim. Forsch. Drug Res., 28, 1441,  
1978.
  
- 5) Litter, M.  
Farmacología Experimental y Clínica  
Editorial El ateneo  
5a. edición  
Buenos Aires 1977.  
Págs. 329-331-332.
  
- 6) Gilman Alfred, Goodman Lovis S.  
Bases Farmacológicas de la Terapéutica  
Quinta edición  
Editorial Interamericana  
1978  
Págs. 817-818

- 7) Zinsser  
Bacteriología  
Unión tipográfica  
Editorial hispanoamericana  
1978  
Págs. 136-137.
  
- 8) Hernández Valenzuela Rogelio  
Manual de Pediatría  
8a. edición  
1985.
  
- 9) Mir G.C. e Coll  
Pharmacological properties of Lidamide hydrochloride,  
a novel antidiarrheal agent.  
Arzneim, Forsch. Drug Res., 28, 1466  
1978.
  
- 10) Mir G.N. e Coll  
Mechanism of action Studies of Lidamide hydrochloride,  
a novel antidiarrheal agent.  
Arzneim.Fosch. Drug Res., 28, 1454.  
1978.

- 11) Diccionario de especialidades farmacéuticas

PLM

32a. edición Mexicana

1986

Pág. 449

- 12) Flashka H.A.; Barnard A.J.; Sturrock P.E.

Química Analítica Cuantitativa

Editorial Continental

Novena impresión

1984.

Págs. 211-213.

- 13) Orozco D. Fernando

Análisis Químico Cuantitativo

Editorial Porrúa

Décimo Sexta edición

1985.

Págs. 238-239

- 14) H. Schenk George", B. Hahn Richard

Quantitative Analytical Chemistry

1984.

Págs. 307-308-316-317.



- 15) Willard H. Merritt L. Dean J.  
Métodos instrumentales de análisis  
tercera edición  
Editorial Continental  
1978.  
Págs. 61-62-67.
  
- 16) Galen W. Ewing.  
Métodos instrumentales de análisis químicos  
Libros Mc Graw-Hill de México  
1978.  
Págs. 133-135
  
- 17) Curso teórico-práctico de Cromatografía en capa fina apli-  
cado a la Industria (Química, farmacéutica, cosmética y -  
alimentaria).  
1981  
Merck - México, S.A.
  
- 18) Merck Darmstadt E. (R.R. de Alemania)  
Información sobre cromatografía en capa fina  
1981.  
Merck Reactivos.

- 19) S. Fritz James; H. Schenk George  
Química Analítica  
Editorial Limusa  
1979.  
Págs. 472-475
- 20) Krayszing Erwin  
Introducción a la estadística Matemática  
Editorial Limusa  
1a. edición  
México, 1974  
Págs. 17-20-100-219
- 21) Resano Isabel  
Diseño de Experimentos  
(Seminario)  
1984.
- 22) Spiegel Murray R.  
Estadística  
Serie de compendios Schaum  
Libros Mc Graw-Hill  
México, 1973  
Págs. 218-219.

- 23) C. Montgomery Douglas  
Desing and analysis of experiments  
Second edition  
Págs. 21-22-23.  
1983
- 24) Dick  
Química Analítica  
Editorial El manual moderno  
Págs. 56-57-60-61  
1979