

24.8



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

DISEÑO DE UN METODO DE IDENTIFICACION CROMATOGRAFICO Y DOS DE CUANTIFICA- CION PARA CLORHIDRATO DE AMIODARONA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C A
P R E S E N T A :

YOLANDA MARINA VARGAS RODRIGUEZ

Q. F. B. JOSE DE JESUS PEREZ SAAVEDRA
(DIRECTOR DE TESIS)



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

INTRODUCCION

CAPITULO I.- Antecedentes

- A.- Propiedades fisicoquímicas
- B.- Farmacología
- C.- Síntesis
- D.- Métodos analíticos
- E.- Costo en el mercado
- F.- Proveedores nacionales

CAPITULO II.- Desarrollo experimental primera fase:

Preparación de las muestras.

- A.- Purificación de clorhidrato de amioda
rona de referencia.
- B.- Desarrollo analítico de cromatografía
en capa fina para clorhidrato de amio
darona.

CAPITULO III.- Desarrollo experimental segunda fase.

- A.- Ensayo de clorhidrato de amiodarona -
por el método potenciométrico.
- B.- Ensayo de clorhidrato de amiodarona -
por el método espectrofotométrico.

RESULTADOS

DISCUSION Y CONCLUSIONES

ANEXO

BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

El clorhidrato de amioderona es un fármaco antiaritmico que se administra por vía oral en la forma farmacéutica de tabletas, en los laboratorios CCMERTEC S.A. se sintetiza para su futura venta como materia prima.

Debido a que aun no se tienen métodos adecuados para la cromatografía en capa fina, además de que no se cuenta con una técnica de cuantificación, se hizo revisión de la bibliografía encontrándose solamente con métodos de cuantificación por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), estos métodos aun cuando son de alta sensibilidad, exactitud y reproducibilidad, son largos y costosos por la preparación de las columnas, además del equipo y reactivos utilizados.

Por ello el objetivo de este trabajo es encontrar un método, sensible, exacto, preciso, rápido y de bajo costo para cuantificar clorhidrato de amiodarona, así como una cromatografía adecuada.

Para lo cual se proponen el método espectrofotométrico y el potenciométrico en medio no acuoso.

CAPITULO I. ANTECEDENTES

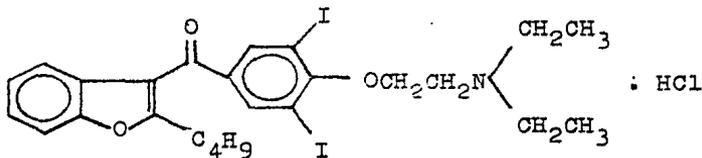
A.- PROPIEDADES FISICOQUIMICAS⁽¹⁾

Nombre común: clorhidrato de amiodarona

Nombre químico: clorhidrato de 3-butil-3-(3,5 diyodo-4-β -diethylamino etoxi-benzoil) benzofurano.
 clorhidrato de 2-butyl-3-benzofuranil 4-[2-(diethylamino) etoxi]-3,5-diyodofenilcetona
 clorhidrato de (2-butyl-3-benzofuranil) [4-[2-(diethylamino) etoxi]-3,5-diyodofenil] metanona.

Fórmula condensada: $C_{25}H_{29}I_2NO_3 \cdot HCl$

Fórmula desarrollada:



| | |
|---|---|
| Peso molecular: | 681.49 g/mol |
| Descripción: | Polvo blanco cristalino. |
| Punto de fusión: | 156°C |
| Solubilidad: | Tabla I |
| Coefficientes de <u>parti</u> ción: | Los coeficientes de partición correctos y aparentes se encuentran graficados en la - fig. I. Presenta una típica- dependencia de coeficientes- de partición en función de - pH, con máxima solubilidad - lipídica en el intervalo de- pH de 3.5-5.5 |
| Constante de disociación aparente ⁽²⁾ : | 6.56 ± 0.06 |
| Espectroscopía I.R. | El espectro en KBr presenta- las bandas características a los grupos funcionales de - clorhidrato de amiodarona. (fig. II). |

| cm ⁻¹ | Grupo funcional |
|------------------|----------------------------|
| 3000-3070 | ArCH |
| 2860-2960 | CH alifático. |
| 2200-2700 | NH ⁺ tert-amina |
| 1635 | C O diAr |
| 1560 y 1015 | C C benzofurano |
| 1380 | CH ₃ alifático |
| 1285 | C C cetónico |
| 1250 y 1075 | C-O-C eter |
| 1225 y 1025 | C-N tert-amina |

Espectro ¹³C:

Fig. III

Espectro ¹H:

Fig. IV

TABLA I.- Porcentaje de solubilidad (W/V)
de clorhidrato de amiodarona en
varios disolventes a 25°C.

| DISOLVENTE | SOLUBILIDAD (g/100ml) |
|---------------------|--------------------------|
| Cloroformo | 44.51282 |
| Cloruro de metileno | 19.20000 |
| Metanol | 9.98400 |
| Etanol | 1.28000 |
| Benceno | 0.64657 |
| Tetrahidrofurano | 0.60377 |
| Acetonitrilo | 0.31889 |
| n-Octanol | 0.29500 |
| Eter | 0.17436 |
| n-Propanol | 0.13435 |
| Agua | 0.07164 |
| Hexano | 0.02559 |
| Eter de petróleo | 0.00137 |

Ref: M. Bonatti. J Pharm. Sci.. 1984, 73(2)

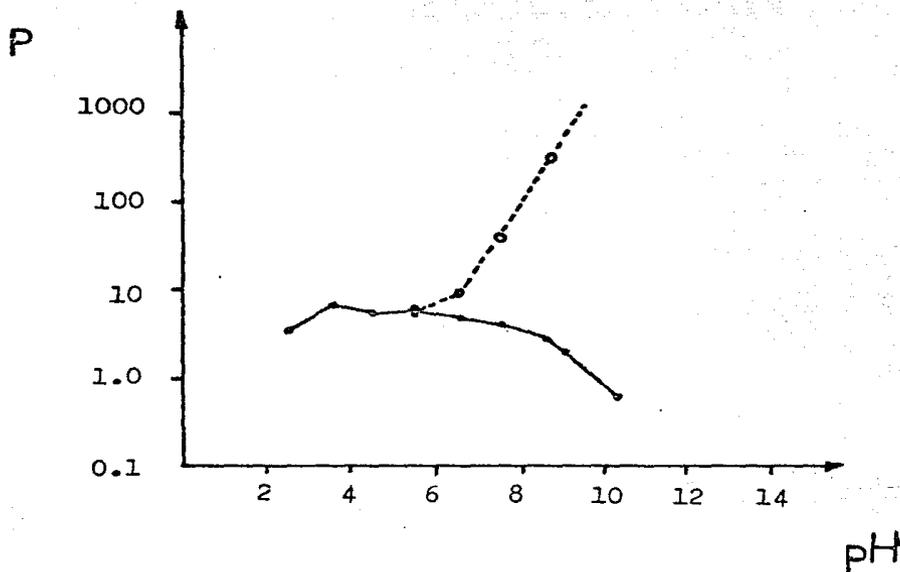
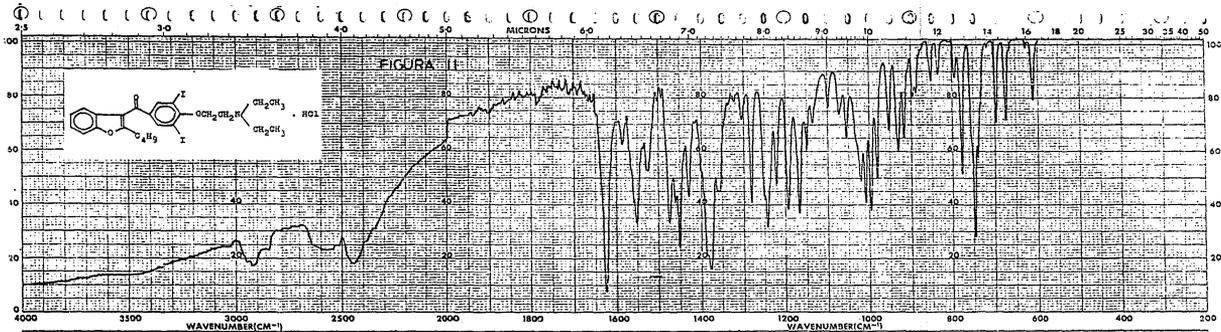
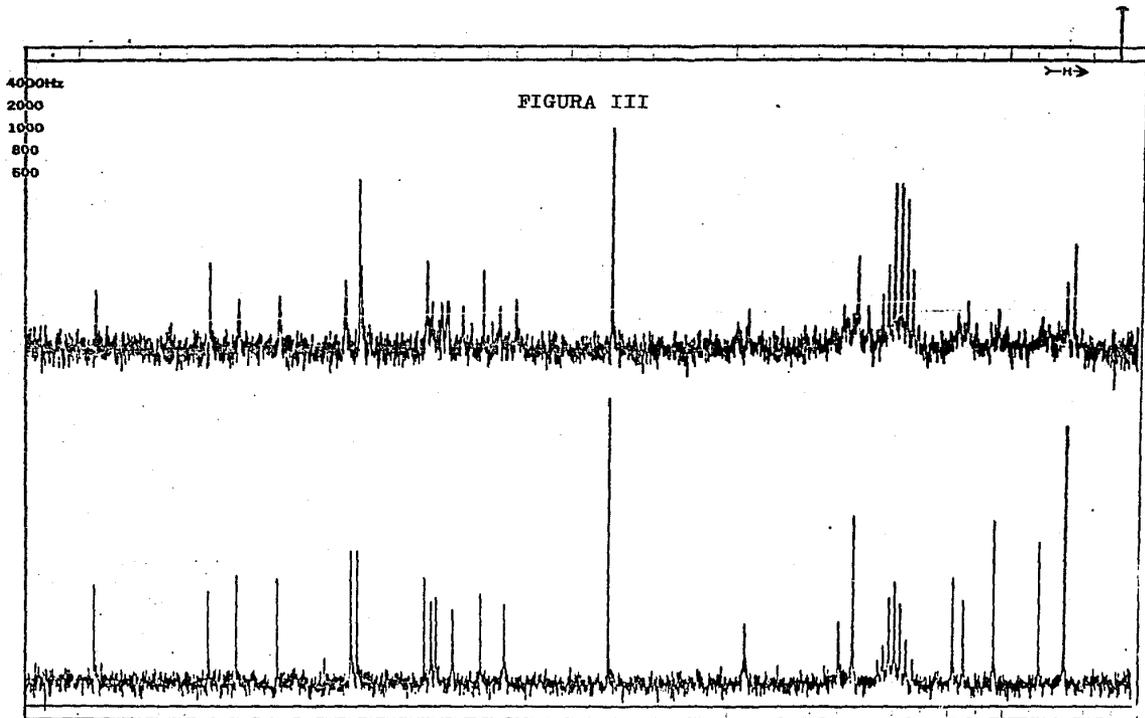


Fig. 1.- Coeficientes de partición aparente (●) y correcto (○) en función del cambio de pH para clorhidrato de amiodarona.

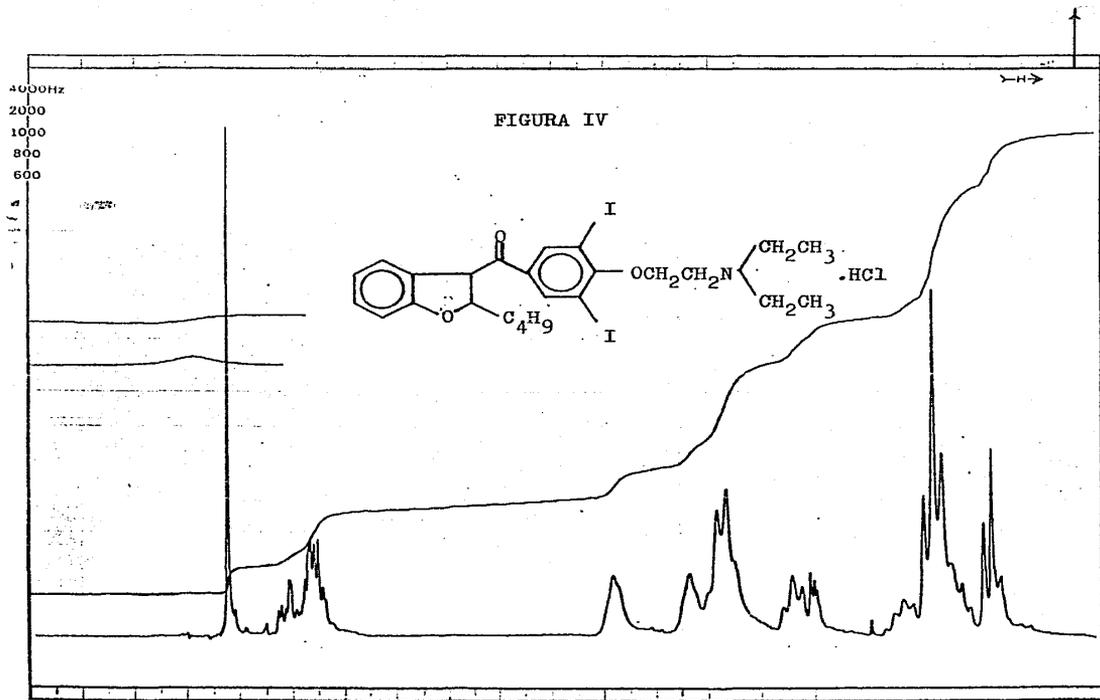
Ref: M, Bonatti. J. Pharm. Sci. 1984, 73 (2).



| | | | | | |
|----------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------------|
| SAMPLE <u>57694E</u> | SOLVENT <u>MeCl</u> | REMARKS <u>ANALOGUE 11-02</u> | SUB PROGRAM _____ | ARTIST <u>ENY</u> | PREP'G BY <u>BILMNER</u> |
| CONCN <u>1.0</u> | CONCENTRATION _____ | | SCAN TIME _____ | TIME <u>20:00</u> | CHART NO. <u>310-1187</u> |
| CELL PATH _____ | CELL PATH _____ | | MULTIPLIER _____ | OPERATOR <u>ENY</u> | DATE _____ |
| REFERENCE <u>11</u> | REFERENCE _____ | | TIME CONSTANT <u>12</u> | DATE _____ | EXP. NO. _____ |



| No. C. | HT | PPM | HZ |
|--------|-------|--------|---------|
| 1 | 22.73 | 186.92 | 3738.63 |
| 2 | 21.32 | 165.30 | 3306.14 |
| 3 | 24.84 | 160.16 | 3203.39 |
| 4 | 24.08 | 152.85 | 3057.29 |
| 5 | 30.28 | 139.50 | 2790.12 |
| 6 | 13.09 | 139.35 | 2787.26 |
| 7 | 30.40 | 138.28 | 2765.79 |
| 8 | 24.30 | 125.84 | 2516.88 |
| 9 | 18.75 | 124.58 | 2491.77 |
| 10 | 19.93 | 123.59 | 2472.04 |
| 11 | 17.14 | 120.57 | 2411.50 |
| 12 | 20.54 | 115.31 | 2306.36 |
| 13 | 18.35 | 110.88 | 2217.81 |
| 14 | 64.99 | 92.05 | 1841.07 |
| 15 | 14.06 | 67.09 | 1341.88 |
| 16 | 14.47 | 49.66 | 993.41 |
| 17 | 38.26 | 47.08 | 941.77 |
| 18 | 19.97 | 40.55 | 811.14 |
| 19 | 23.66 | 39.50 | 790.00 |
| 20 | 18.50 | 38.44 | 769.01 |
| 21 | 24.44 | 29.12 | 582.60 |
| 22 | 19.35 | 27.27 | 545.46 |
| 23 | 37.21 | 21.65 | 433.03 |
| 24 | 32.26 | 13.16 | 263.24 |
| 25 | 58.66 | 8.58 | 171.77 |



B.- FARMACOLOGIA

Aunque las extraordinarias acciones electrofisiológicas de clorhidrato de amiodarona fueron reconocidas hace aproximadamente 25 años⁽³⁾, la droga ha emergido como un potente y extraordinario compuesto con un amplio espectro de efectos antiarrítmicos.⁽⁴⁻⁷⁾

El clorhidrato de amiodarona disminuye el trabajo cardíaco con reducción del consumo de oxígeno por parte del miocardio, con disminución de la frecuencia cardíaca y relajación de la musculatura de los vasos pequeños, principalmente coronarios sin efectos sobre la tensión arterial general. Ofrece además un benéfico efecto adrenoprotector al antagonizar los efectos de las catecolaminas y de la estimulación adrenérgica sin producir bloqueo competitivo de los receptores.⁽⁸⁻¹⁰⁾

Se administra para profilaxis y tratamiento de las arritmias auriculares, nodales y ventriculares.^(4,11) En el tratamiento de la coronariopatía aguda y crónica con las extrasístoles auriculares y/o ventriculares frecuentes,⁽¹²⁻¹⁴⁾ síndrome de Wolff-Parkinson-White⁽¹⁵⁾, angina de pecho aguda o crónica, insuficiencia coronaria y angina de esfuerzo crónica^(4,11).

El clorhidrato de amiodarona no se emplea en pacientes con bradicardias supraventriculares o sinusales, bloqueo aurículo ventricular, sensibles al yodo, con hiper o hipotiroidismo o con embarazo.⁽¹²⁻¹⁵⁾

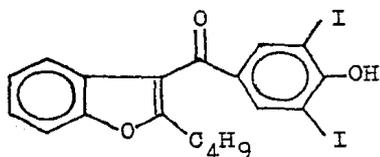
Presenta algunos efectos secundarios, principalmente - microdepósitos de la droga en los ojos⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Sin embargo estos depósitos no afectan la visión, son totalmente - reversibles y pueden evitarse descontinuyendo el medicamento durante 7 días cada mes o cada dos meses⁽¹³⁾.

Pueden presentarse trastornos gastrointestinales y cefealeas, bradicardias principalmente en los ancianos⁽¹³⁾. - El tratamiento con clorhidrato de amiodarona es interminte, 20 días por mes de tratamiento, retirándolo por 7- ó 10 días^(12,14).

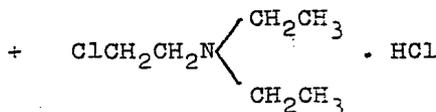
La dosis inicial administrada es de 600 mg/día, con ingestión durante las comidas principales^(11,13). Algunos - investigadores recomiendan administrar una dosis de 1 600 mg/día en una toma única para el tratamiento inicial de arritmias cardíacas postinfarto⁽¹¹⁾. De acuerdo a la respuesta obtenida, la dosis puede reducirse a 200 ó 400 mg-diarios^(11,13).

C.- SINTESIS

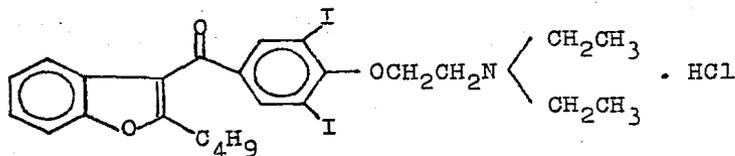
Se sintetiza a partir de precursor diyodo y clorhidrato de dietilamino cloretano (19).



PRECURSOR DIYODO



CLORHIDRATO DE DIETILAMINO
CLORETANO



CLORHIDRATO DE AMIODARONA

D.- METODOS ANALITICOS

Dentro del análisis de calidad de clorhidrato de amiodarona, para la determinación de pureza, se utilizan generalmente los métodos que para tal efecto estan reportados en la literatura.

Flanagan y co., 1982 (20) describen un método por cromatografía de líquidos de alta resolución, utilizando como eluyente metanol o metanol/dietiléter y concentraciones bajas de ácido perclórico, detectando a el clorhidrato de amiodarona por absorción ultravioleta, este método, aún cuando es muy sensible, específico, exacto y reproducible, es muy largo, ya que requiere una columna que se empaca en 24 horas, además de costoso por los disolventes y equipo utilizado.

Cavazzutti, 1983 (21) reporta un método de identificación de clorhidrato de amiodarona por cromatografía en capa fina, utilizando como revalador el ácido yódico, el color de la mancha está dado por la reacción con el anillo, este método es sencillo, reproducible y de bajo costo, pero no es de cuantificación.

Amato y co., 1984 (22) presentan un método por cromatografía de líquidos de alta resolución de fase reversa, -- con fase móvil (pH=3, HClO₄), detectada a 240 nm, en una columna octadecilsilanizada.

Existe otro método reportado recientemente de cromatografía de líquidos de alta resolución por Flanagan y co.

(23) 1985, es similar al reportado por él mismo (20) modi
ficando las concentraciones de ácido perclórico.

Jane y co., 1985 (24) reportan un método por cromato -
grafía de líquidos de alta resolución, este método presen
ta una variedad al utilizar para su detección: luz ultra--
violeta, fluorescencia y oxidación electroquímica.

Estos tres últimos métodos de cromatografía de líqui--
dos de alta resolución (HPLC), son muy sensibles, especí--
cos, exactos y reproducibles, sin embargo de costos muy e
levados.

E.- COSTO EN EL MERCADO⁽¹⁹⁾

COMO MATERIA PRIMA

| | |
|---------------|-----------------------------------|
| Internacional | \$ 186.00 por Kg ^{&} |
| Nacional: | \$ 215,760.00 por Kg |

& Dolares americanos

24 abril 1987

F.- PROVEEDORES NACIONALES

Materia prima: (19)

Organosíntesis en convenio-
con Sanofi.

Tabletas: (25)

Laboratorios Columbia.

Frasco con 20 ó 40 comprimi-
dos. Cada comprimido contie-
ne 200 mg de clorhidrato de
amiodarona.Armstrong Laboratorios de -
México.Caja con 20 ó 100 comprimi-
dos. Cada comprimido contie-
ne 200 mg de clorhidrato de
amiodarona.

CAPITULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL PRIMERA FASE: PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

A.- PURIFICACION DE CLORHIDRATO DE AMIODARONA DE REFERENCIA.

Se tenía un total de 30 muestras de clorhidrato de a miodarona como materia prima, algunas son directas de -- síntesis, denominadas como crudas (CR) y otras están purificadas (RX), de estas muestras se hizo una mezcla.

La mezcla presentó un punto de fusión de 153.7-154.6 °C, la cual se purificó.

METODO:

- 1.- En un matraz de bola de 100 ml de dos bocas, con refrigerante, agitación magnética y termómetro, se agregó 20 g de la mezcla de clorhidrato de amiodarona y 80 ml de acetona.
- 2.- Se llevó a reflujo durante 30 minutos.
- 3.- Después del reflujo, se enfrió con baño de agua hasta 40°C.
- 4.- Al llegar a 40°C, con un baño de hielo se enfrió a 0°C.
- 5.- Se mantuvo la temperatura entre 0-5°C durante una hora (con un baño de agua-hielo).
- 6.- Se filtró con vacío y se lavó con 10 ml de acetona a 0°C

- 7.- Se transfirió el producto seco (a vacío) a un matraz de 100 ml, se adicionó 60 ml de etanol.
(el producto no se disolvió).
- 8.- Se llevó nuevamente a reflujo durante 30 minutos.
- 9.- Al finalizar el tiempo de reflujo el sistema se cambió a destilación, se destiló a presión atmosférica hasta 40 ml de volumen final del residuo.
- 10.-Se enfrió con un baño de agua a 40°C y se adiciono 45 ml de acetona.
- 11.-Con un baño de hielo se enfrió a 0°C, se mantuvo la temperatura entre 0-5°C durante tres horas.
- 12.-Se filtró con vacío y se lavó con 10 ml de mezcla etanol:acetona (1:1) a 0°C.
- 13.-Se secó en la estufa a 100°C durante tres horas.

RESULTADOS:

Se obtuvieron

14 g de producto B/H

% de humedad: 0.2015

Pérdida por secado: 0.8%

$$\% \text{ RENDIMIENTO} = \frac{(\text{gramos obtenidos}) (100 - \text{P.S.})}{(\text{gramos iniciales})}$$

P.S. = Pérdida por secado

% RENDIMIENTO: 69.44 B/S

B.- DESARROLLO ANALITICO DE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA PARA CLORHIDRATO DE AMIODARONA DE REFERENCIA Y MUESTRAS POR ANALIZAR.

METODO:

1.- Preparación de las soluciones de revelado:

Permanganato de potasio: concentración 0.01% p/v

Yodoplatinato de potasio: se pesó 250 mg de cloruro platínico, se disolvió en 10 ml de agua y se adicionó 5 g de yoduro de potasio más dos ml de ácido clorhídrico al 36%, se mezcló y aforó a 100 ml con agua destilada.

2.- Preparación del sistema de elución:

Se preparó una mezcla de tolueno:metanol:diethylamina (4:1:1) y se transfirió a una cámara de cromatografía para su saturación (tiempo mínimo de saturación tres horas).

3.- Preparación de referencias y problemas:

Las referencias son clorhidrato de dietilamino cloretano y precursor yodado que son las materias primas de clorhidrato de amiodarona.

Las muestras problema, son los lotes piloto de clorhidrato de amiodarona crudas y purificadas (como materia prima) más la muestra purificada, denominada como lote de referencia.

- Problema: Se pesó 50 mg de muestra de clorhidrato de amiodarona y disolver en 1 ml de metanol R.A.
- Referencia I: Se pesó 50 mg de clorhidrato de dietilamino cloretano y se disolvió en 1 ml de metanol R.A.
- Referencia II: Se pesó 50 mg de precursor yodado y se disolvió en 1 ml de cloroformo R.A.

4.- Aplicación, elución y revelado:

Se prepararon 11 muestras escogidas al azar -- (muestras problema).

Se cortaron 3 placas de 10 cm de longitud, se marcó a 1 cm de la parte inferior y superior de la placa. Se aplicó a 1 cm de la parte inferior de la placa, se aplicó 2 ul de cada problema y 2 ul de cada referencia. Eluir la placa hasta una longitud total de 9 cm. Secar con aire.

Revelar la primera placa con luz ultravioleta onda corta y yodo, la segunda con luz U.V. y permanganato de potasio y la tercera con luz U.V. y yodoplatinato de potasio.

Se hizo un total de cinco experimentos con este método, utilizando los cuatro reveladores.

De los 11 lotes, se seleccionaron cinco, siendo por cromatografía en capa fina las más representativas de menor a mayor número de impurezas.

Los lotes que se seleccionaron:

DE REFERENCIA

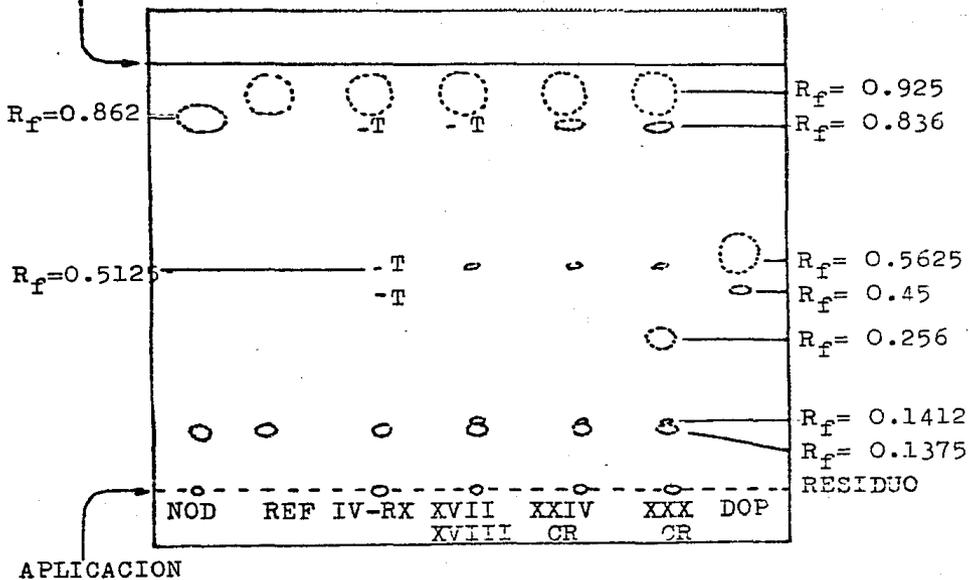
IV-RX

XVII-XVIII-RX

XXIV-CR

XXX-CR

FRENTE DEL ELUYENTE



CLORHIDRATO DE AMIODARONA

NOD: CLORHIDRATO DE DIETILAMINO CLORETANO

DOP: PRECURSOR DIYODO

NAA: CLORHIDRATO DE AMIODARONA

T: TRAZA

RESULTADOS

LOTE

| | |
|---------------|---|
| S/N (NOD) | NOD ($R_f=0.862$), imp ($R_f=0.1375$) y residuo |
| S/N (DOP) | DOP ($R_f=0.5625$), imp ($R_f=0.45$) |
| DE REFERENCIA | NAA ($R_f=0.925$), imp ($R_f=0.1375$) |
| IV-RX | NAA ($R_f=0.925$), 3 T ($R_{f,s}=0.836$, 0.5125 y 0.45), imp ($R_f=0.1375$) y residuo |
| XVII-XVIII-RX | NAA ($R_f=0.925$), T ($R_f=0.836$), 3 imp - ($R_{f,s}=0.5125$, 0.1412 y 0.1375) y residuo. |
| XXIV-CR | NAA ($R_f=0.925$), 4 imp ($R_{f,s}=0.836$, 0.5125 0.1412 y 0.1375) y residuo. |
| XXX-CR | NAA ($R_f=0.925$), 5 imp ($R_{f,s}=0.836$, 0.5125 0.256, 0.1412 y 0.1375) y residuo. |

NOD: CLORHIDRATO DE DIETILAMINO CLORETANO
DOP: PRECURSOR DIYODO
NAA: CLORHIDRATO DE AMIODARONA

CAPITULO III. DESARROLLO EXPERIMENTAL SEGUNDA FASE: DISEÑO DE LOS METODOS ANALITICOS.

A.- ENSAYO DE CLORHIDRATO DE AMIODARONA POR EL METODO POTENCIOMETRICO.

METODO:

- 1.- Se preparó una solución de hidróxido de potasio a proximadamente 0.01 N en etanol R.A. y se valoró.
- 2.- Se valoró el clorhidrato de amiodarona con la solución de hidróxido de potasio en etanol. La valoración se repitió 6 veces para cada muestra de la siguiente manera:

Se pesó 100 mg de muestra de clorhidrato de amiodarona y se disolvieron en 50 ml de etanol - - R.A. con agitación magnética.

Se tomó la primera lectura de potencial, cuando este se observó constante. Se adicionó la solución de hidróxido de potasio en etanol de ml en - ml, se tomaron lecturas de potencial después de - cada adición (cuando el potencial se observó constante). Se adicionaron 30 ml.
- 3.- Se valoró clorhidrato de dietilamino cloretano siguiendo la misma técnica del punto anterior. Se adicionó de 5 en 5 ml de hidróxido de potasio en etanol hasta un total de 125 ml.
- 4.- Se graficó potencial en función de ml adicionados de solución de hidróxido de potasio.

5.- Se determinó pureza con la siguiente fórmula:

$$\text{PUREZA} = \frac{(V) (N) (PM)}{m} \times 100$$

V = Volumen de punto de equivalencia

N = Normalidad de la solución de hidróxido de potasio en etanol.

m = Peso de la muestra en mg.

PM = Peso molecular de clorhidrato de amiodarona o clorhidrato de dietilamino cloretano respectivamente.

6.- Se hizo el análisis estadístico.

7.- Determinación de posible interferencia de clorhidrato de dietilamino cloretano sobre clorhidrato de amiodarona, titulando las siguientes mezclas:

- A. 1.476×10^{-2} M de clorhidrato de amiodarona
 1.476×10^{-2} M de clorhidrato de dietilamino-cloretano.
- B. 1.476×10^{-2} M de clorhidrato de amiodarona
 0.184×10^{-2} M de clorhidrato de dietilamino-cloretano.

TABLA I.- RESULTADOS DE LA VALORACION DE CLORHIDRATO DE A
MIODARONA.

LOTE: DE REFERENCIA

| EVENTO | N | m | V | % PUREZA |
|--------|-----------|-------|-------|----------|
| 1 | 0.0091698 | 100.3 | 16.2 | 100.93 |
| 2 | 0.0091698 | 99.9 | 16.0 | 100.08 |
| 3 | 0.0091698 | 100.0 | 16.3 | 101.86 |
| 4 | 0.0091698 | 100.0 | 16.3 | 101.86 |
| 5 | 0.0076248 | 100.4 | 19.6 | 101.44 |
| 6 | 0.0076248 | 100.4 | 19.65 | 101.69 |

$\bar{X} = 101.31$

N = Normalidad de la solución de hidróxido de potasio en etanol.

m = Peso de la muestra en mg.

V = Volumen de punto de equivalencia en ml.

TABLA II.- RESULTADOS DE LA VALORACION DE CLORHIDRATO DE AMIODARONA.

LOTE: IV-RX

| EVENTO | N | m | V | % PUREZA |
|--------|-----------|-------|------|----------|
| 1 | 0.0091698 | 100.0 | 16.2 | 101.23 |
| 2 | 0.0091698 | 101.1 | 16.1 | 100.61 |
| 3 | 0.0091698 | 100.2 | 16.0 | 99.78 |
| 4 | 0.0091698 | 100.1 | 16.1 | 100.61 |
| 5 | 0.0091698 | 100.2 | 16.0 | 99.78 |

$$\bar{X} = 100.40$$

TABLA III.- RESULTADOS DE LA VALORACION DE CLORHIDRATO DE AMIODARONA.

LOTE: XVII-XVIII-RX

| EVENTO | N | m | V | % PUREZA |
|--------|-----------|-------|------|----------|
| 1 | 0.0091698 | 100.4 | 16.2 | 100.83 |
| 2 | 0.0091698 | 100.1 | 16.3 | 101.75 |
| 3 | 0.0091698 | 100.3 | 16.2 | 100.93 |
| 4 | 0.0091698 | 100.1 | 16.2 | 101.13 |
| 5 | 0.0091698 | 100.0 | 16.2 | 101.23 |

$$\bar{X} = 101.17$$

TABLA IV.- RESULTADOS DE LA VALORACION DE CLORHIDRATO DE -
AMIODARONA .

LOTE: XXIV-CR

| EVENTO | N | m | V | % PUREZA |
|--------|-----------|-------|------|----------|
| 1 | 0.0091698 | 100.1 | 16.3 | 101.75 |
| 2 | 0.0091698 | 100.0 | 16.6 | 103.73 |
| 3 | 0.0091698 | 100.0 | 16.4 | 102.48 |
| 4 | 0.0091698 | 100.1 | 16.7 | 104.25 |
| 5 | 0.0091698 | 99.9 | 16.7 | 104.46 |
| 6 | 0.0076248 | 99.8 | 19.7 | 102.57 |

 $\bar{x} = 103.20$

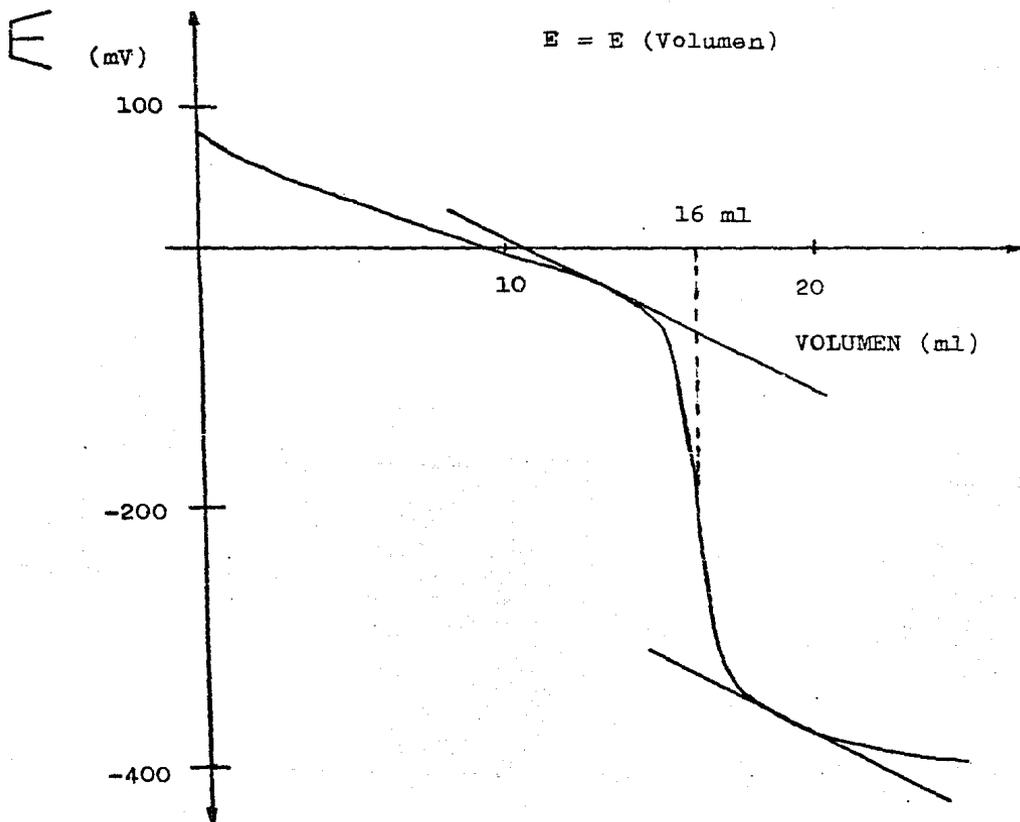
TABLA V.- RESULTADOS DE LA VALORACION DE CLORHIDRATO DE-
AMIODARONA.

LOTE: XXX-CR

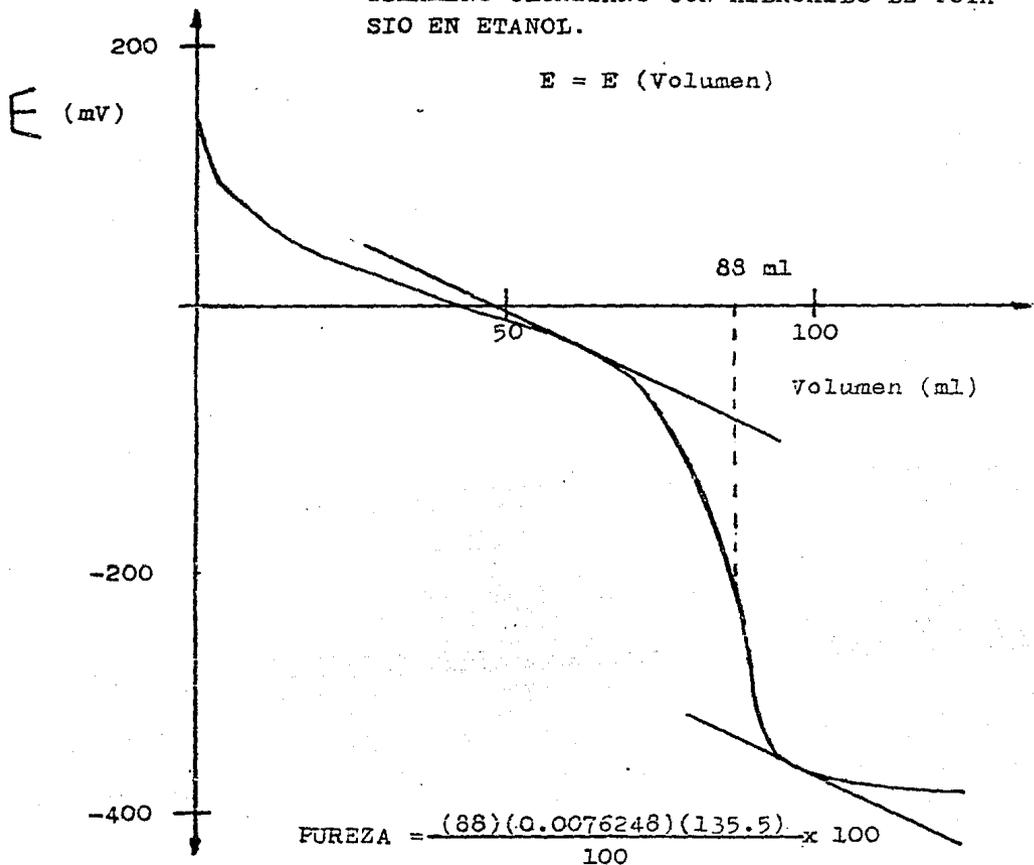
| EVENTO | N | m | V | % PUREZA |
|--------|-----------|-------|------|----------|
| 1 | 0.0091698 | 100.0 | 16.7 | 104.36 |
| 2 | 0.0091698 | 100.2 | 16.8 | 104.77 |
| 3 | 0.0091698 | 99.9 | 16.4 | 102.58 |
| 4 | 0.0091698 | 100.2 | 16.7 | 104.15 |
| 5 | 0.0076248 | 99.8 | 19.6 | 102.05 |

 $\bar{X} = 103.58$

GRAFICA I.- TIPO DE CURVA OBTENIDA EN LA VALORACION DE LAS MUESTRAS DE CLORHIDRATO DE AMIODARONA EN ETANOL.

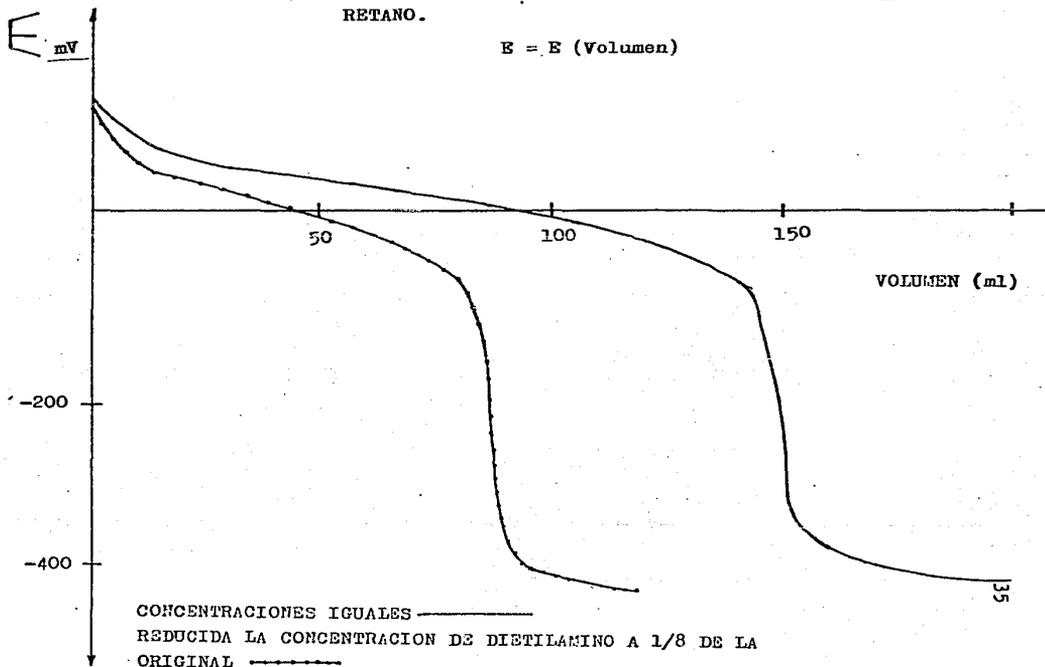


GRAFICA II.- CURVA DE VALORACION DE CLORHIDRATO DE DIETILAMINO CLORETANO CON HIDROXIDO DE POTASIO EN ETANOL.



PUREZA = 90.91%

GRAFICA III.- CURVAS DE VALORACION DE MEZCLAS DE CLORHIDRATO DE AMIODARONA Y CLORHIDRATO DE DIETILAMINO CIO RETANO.



B.- ENSAYO DE CLORHIDRATO DE AMIODARONA POR EL METODO ESPECTROFOTOMETRICO.

METODO:

1.- Determinación de longitud de onda de máxima absorción, utilizando una concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$ en etanol, para:

- clorhidrato de amiodarona (DE REFERENCIA)
- precursor diyodo (S/N)
- clorhidrato de dietilamino cloretano (S/N)

Para obtener una concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$: se pesó 100 mg de muestra y se disolvió en un matraz de 100 ml con etanol, se aforó con etanol, se tomó una alícuota de 1 ml, se transfirió a un matraz de 100 ml y se aforó con etanol.

2.- Determinación de la linealidad en la respuesta al espectrofotómetro (curva de calibración) utilizando clorhidrato de amiodarona DE REFERENCIA en el intervalo de 5-15 $\mu\text{g/ml}$.

Se prepararon las soluciones:

| SOLUCION | CLORHIDRATO DE AMIODARONA (mg) |
|----------|--------------------------------|
| A | 50 |
| B | 60 |
| C | 70 |
| D | 80 |
| E | 90 |
| F | 110 |
| G | 130 |
| H | 150 |

Aforadas a 100 ml con etanol.

Para tener las concentraciones correspondientes - se tomaron las alícuotas indicadas de cada una de las soluciones y se aforó a 100 ml, con etanol.

| SOLUCION | ALICUOTA (ml) | CONCENTRACION FINAL (µg/ml) |
|----------|------------------|--------------------------------|
| A | 1 | 5 |
| B | 1 | 6 |
| C | 1 | 7 |
| D | 1 | 8 |
| E | 1 | 9 |
| A | 2 | 10 |
| F | 1 | 11 |
| B | 2 | 12 |
| G | 1 | 13 |
| C | 2 | 14 |
| H | 1 | 15 |

3.- Determinación de la técnica a seguir.

4.- Determinación de purezas utilizando curva de cali
bración linealizada.

TABLA I.- CURVA DE CALIBRACION DE CLORHIDRATO DE AMIODARO
NA.

| µg/ml | A | | \bar{A} |
|-------|----------------|----------------|-----------|
| | E ₁ | E ₂ | |
| 5 | 0.250 | 0.252 | 0.251 |
| 6 | 0.300 | 0.301 | 0.3005 |
| 7 | 0.354 | 0.355 | 0.3545 |
| 8 | 0.404 | 0.405 | 0.4045 |
| 9 | 0.455 | 0.455 | 0.455 |
| 10 | 0.505 | 0.505 | 0.505 |
| 11 | 0.553 | 0.556 | 0.5545 |
| 12 | 0.603 | 0.605 | 0.604 |
| 13 | 0.657 | 0.655 | 0.656 |
| 14 | 0.703 | 0.705 | 0.704 |
| 15 | 0.753 | 0.755 | 0.754 |

E₁ = Evento 1

E₂ = Evento 2

A = Absorbancia

\bar{A} = Absorbancia promedio

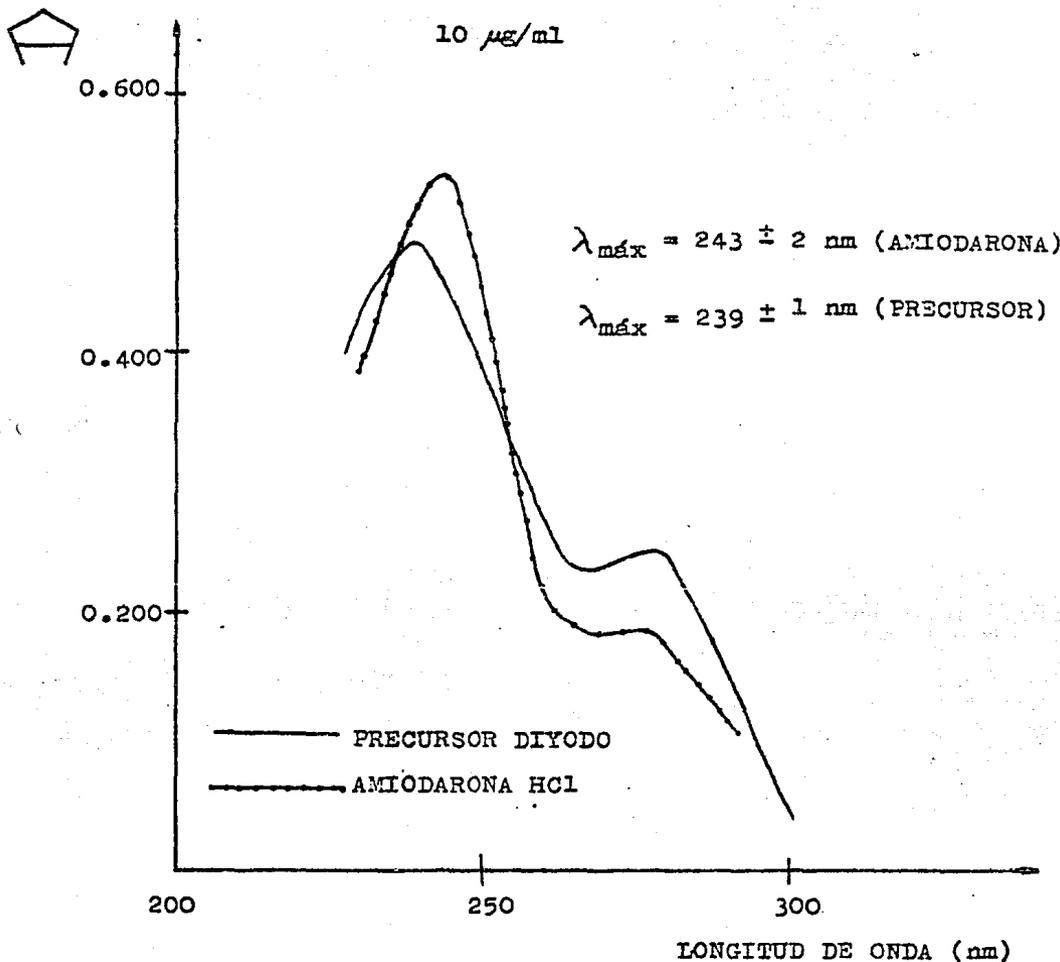
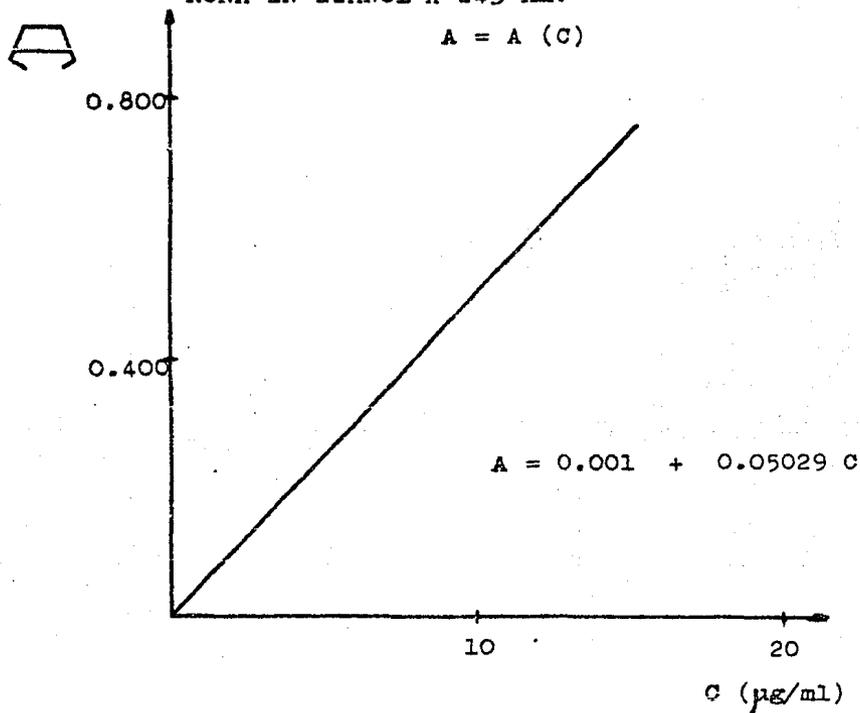


FIGURA I.- ESPECTRO DE CLORHIDRATO DE AMIODARONA Y PRECURSOR DIYODO EN ETANOL.

FIGURA II.-- CURVA DE CALIBRACION DE CLORHIDRATO DE AMIODA
RONA EN ETANOL A 243 nm.



REGRESION LINEAL:

$$Y = a + bX$$

$$a = \frac{\sum Y \sum X^2 - \sum X \sum XY}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$b = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$\sum Y = 5.543$$

$$\sum X = 110$$

$$\sum X^2 = 1210$$

$$\sum XY = 60.962$$

$$a = \frac{(5.543)(1210) - (110)(60.962)}{11(1210) - (110)^2}$$

$$a = \frac{6707.03 - 6705.82}{13310 - 12100}$$

$$a = \frac{1.21}{1210}$$

$$a = 0.001$$

$$b = \frac{11(60.962) - (110)(5.543)}{11(1210) - (110)^2}$$

$$b = \frac{670.582 - 609.728}{13310 - 12100}$$

$$b = \frac{60}{1210}$$

$$b = 0.05029$$

$$r = 0.99996$$

TECNICA A SEGUIR:

Se pesó en una balanza analítica 100 mg de clorhidrato de amiodarona de cada lote y se disolvió en un matraz aforado de 100 ml, se aforó con etanol. Se tomó una alicuota de 1 ml y se transfirió a un matraz de 100 ml, aforando con etanol. Se leyó la absorbancia de la solución, utilizando etanol como blanco. Se repitió tres veces por cada lote.

| RESULTADOS | | |
|---------------|---------|----------|
| LOTE | PUREZA | PROMEDIO |
| DE REFERENCIA | 100.30% | 100.16% |
| | 100.19% | |
| | 100.00% | |
| IV-RX | 99.59% | 99.36% |
| | 99.30% | |
| | 99.20% | |
| XVII-XVIII-RX | 99.39% | 99.16% |
| | 99.11% | |
| | 99.00% | |
| XXIV-CR | 99.00% | 98.77% |
| | 98.71% | |
| | 98.61% | |
| XXX-CR | 98.10% | 97.98% |
| | 97.99% | |
| | 97.82% | |

ANALISIS ESTADISTICO

| PUREZAS | | |
|-----------|----------------|--------------------|
| | POTENCIOMETRIA | ESPECTROFOTOMETRIA |
| | 100.93% | 101.23% |
| | 100.08% | 101.75% |
| | 101.86% | 103.73% |
| | 101.86% | 104.25% |
| | 101.44% | 104.46% |
| | 101.69% | 102.57% |
| | 101.23% | 102.48% |
| | 100.61% | 104.36% |
| | 99.78% | 104.77% |
| | 100.61% | 102.58% |
| | 99.72% | 104.15% |
| | 100.83% | 102.05% |
| | 101.75% | |
| | 100.93% | |
| | 101.13% | |
| | | 100.3% |
| | | 100.19% |
| | | 100.00% |
| | | 99.59% |
| | | 99.30% |
| | | 99.20% |
| | | 99.39% |
| | | 99.11% |
| | | 99.00% |
| | | 99.00% |
| | | 98.71% |
| | | 98.61% |
| | | 98.10% |
| | | 97.99% |
| | | 97.82% |
| \bar{X} | 101.96% | 99.09% |
| s^2 | 1.45 | 0.73 |

Prueba F:

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

Donde:

$$S_1^2 > S_2^2$$

S_1^2 = Varianza de los datos de potenciometría

S_2^2 = Varianza de los datos de espectrofotometría

$$F = \frac{1.45}{0.73}$$

$$F = 1.98$$

De tablas:

$F_{1\%} = 3.43$ Para el nivel de significancia del 1%

$F_{5\%} = 2.35$ Para el nivel de significancia del 5%

$$F < F_{1\%}$$

y

$$F < F_{5\%}$$

RESULTADOS

| LOTE | CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA | PUNTO DE FUSION °C | FUERZA | |
|---------------|--|--------------------|---------|---------|
| | | | E | A |
| ESTANDAR | CORRESPONDE (NAA) $R_F=0.925$ | 156 | 100.00% | 100.00% |
| DE REFERENCIA | CORRESPONDE, imp ($R_F=0.1375$) | 155.6-156.5 | 101.31% | 100.16% |
| IV-RX | CORRESPONDE, T ($R_F=0.836$), T ($R_F=0.5125$) ^{&&} T ($R_F=0.1375$) y residuo. | 155.0-155.3 | 101.40% | 99.36% |
| XVII-XVIII-RX | CORRESPONDE, T ($R_F=0.836$), imp ($R_F=0.5125$) ^{&&} imp ($R_F=0.1412$), imp ($R_F=0.1375$) y residuo. | 154.1-155.3 | 101.17% | 99.16% |
| XXIV-CR | CORRESPONDE, imp ($R_F=0.836$) ^{&} , imp ($R_F=0.5125$) ^{&&} imp ($R_F=0.1412$), imp ($R_F=0.1375$)- y residuo. | 153.5-154.5 | 102.89% | 98.77% |
| XXX-CR | CORRESPONDE, imp ($R_F=0.836$) ^{&} , imp ($R_F=0.5125$) ^{&&} imp ($R_F=0.256$), imp ($R_F=0.1412$),- imp ($R_F=0.1375$) y residuo. | 153.0-154.0 | 103.58% | 97.98% |

NAA: CLORHIDRATO DE AMIODARONA
& CLORHIDRATO DE DIETILAMINO GLORETANO
&& PRECURSOR DIYODO

E: ESPECTROFOTOMETRIA
P: POTENCIOMETRIA

DISCUSION Y CONCLUSIONES:

De acuerdo a la tabla final de resultados podemos observar que en la cromatografía en capa fina del lote y utilizado como referencia hay una impureza de $R_f=0.1375$ - exclusivamente. Asimismo se obtiene un punto de fusión - de 155.6-156.5 que es casi equivalente al teórico (156°)

Al hacer la determinación de pureza en la potenciometría se tiene 101.31% y en la espectrofotometría - 101.16%.

Los lotes XXIV-CR y XXX-CR presentan entre las impurezas detectadas por cromatografía en capa fina una de $R_f=0.836$, que se supone es una de las materias primas -- (clorhidrato de dietilamino cloretano), ya que presenta el mismo R_f .

Este clorhidrato de dietilamino cloretano presenta las mismas propiedades ácido-básicas del clorhidrato de amiodarona, esto se concluye de los resultados de la valoración potenciométrica individual y de mezclas de clorhidrato de amiodarona y clorhidrato de dietilamino cloretano, ya que en las mezclas se observa un sólo punto de equivalencia lo que repercute en un aumento en el resultado de pureza en la valoración potenciométrica de los lotes indicados, 102.89% y 103.58% respectivamente.

El otro contaminante de $R_p=0.5125$ (precursor diyodo) no presenta propiedades ácido básicas, por lo tanto no alteran la titulación potenciométrica, pero si afectan la pureza por el método espectrofotométrico, sin embargo esta impureza se encuentra a nivel de traza.

En el análisis estadístico de los resultados de los métodos potenciométrico y espectrofotométrico, en la comparación de varianzas F tiene un valor de 1.98, este valor es menor que los establecidos en tablas para los niveles de significancia del 1 y 5%. Esto implica que entre los dos métodos no existe una diferencia estadísticamente significativa.

En conclusión para el tipo de materia prima trabajada estadísticamente se puede seleccionar el método potenciométrico o el espectrofotométrico para el ensayo de clorhidrato de amiodarona.

ANEXO

EQUIPO

Parrilla de agitación Corning PC -351
Balanza analítica Mettler Mod. AE 160
Lámpara Ultravioleta Insp. and Meas. Eq. 399 - 1
Jeringa Hamilton 702 - N de 25 ul
Cromatofolios de sílica gel 60 F₂₅₄ Merck (0.2mm)
Potenciómetro Equipar (Conductronic pH 20)
Electrodo de vidrio y calomel
Espectrofotómetro Perkin-Elmer U.V. Visible Mod. 55E
equipado con dos celdas de cuarzo de 1 cm de paso --
óptico.

REACTIVOS

Etanol Industrial
Acetona Industrial
Cloroformo R.A. (BAKER)
Tolueno R.A. (BAKER)
Permanganato de potasio R.A. (MERCK)
Metanol R.A. (MONTERREY)
Cloruro platínico R.A. (MERCK)
Yoduro de potasio R.A. (BAKER)
Acido clorhídrico R.A. (BAKER)
Hidróxido de potasio R.A. (BAKER)
Etanol R.A. (BAKER)

BIBLIOGRAFIA

- 1.- WINDHULE, Marta. The Merck Index: An Encyclopedia of -
chemicals and drugs. 9a. ed. U.S.A. 1976.
- 2.- BONATI, M.; Gaspari F. et. al. "Amiodarone". J. Phar
mac. Sci. 73(6):1984, p. 829-831.
- 3.- SINGH, B.N. and Vaughan Williams. "The effect of Amio-
darone, a new antianginal drug on cardiac mus- -
cle". Br. J. Pharmacol. 39(4):1970, p. 657 -
668.
- 4.- NADEMANEE, K.;Hendrickson I.A.; Cannon D.S. et. al. -
"Control of life-theatenig ventricular arrhyt -
mias by amiodarone". Am. Heart. J. 101(8): -
1981, p. 759-68.
- 5.- SINGH, B.N. and Vaugham Williams E.M. "A fourt class -
of antiarrhythmic action effect of verapamil on -
ovarin toxicity on atrial and ventricular intra-
celular potentials and on other features of car-
diac function". Cardiovasc. Res. 6(1):1972,-
p. 109-119.
- 6.- WINKLE, R.A.; Mason J.W. and Harrison D.C. "Tocainide-
for drug-resistant ventricular arrhythmia: effica
cy side effects and lidocaine responsiveness for
predicting tocaïnide success". Am. Heart J.
100(8):1980, p. 1031-1036.

- 7.- PODRID, P.J. and Lown B. "Mexiletine for ventricular -
arhythmias". Am. J. Cardiol. 47(6):1981, 845-
902.
- 8.- BROEKHUYSEN, J. et Laurel R. "Recherches dans la sé -
rie des benzofurannes XXVIII. Influence de -
L'amiodarone sur les reserves energetiques du -
myocarde chez le rat". Biochem. Pharmacol.
16(11): 1967, p. 2069-2075.
- 9.- CHARLIER, R. and Baudine A. "Recherches dans la série
des benzofurannes XXXII. Mode d'action de L'ami
darone sur le systeme cardiovasculaire". Arch.
Int. Physiol. and Biochim. 75(8): 1967, -
p.787-808.
- 10.-DELTOUR, G.; Broekhuysen et Charlier P. "Étude du me-
canisme biochimique d'action d'un agent antian-
goer: L'amiodarone". J. Pharmacol. 1(1): -
1970, p. 39-51.
- 11.-KASKI, Juan Carlos. "Long-term management of sustai--
ned, recurrent, symptomatic ventricular tachy -
cardia with amiodarone". Circulation. -
64(2):1981, p. 273-279.
- 12.-HEGER, J. James and Prystowky N. Erick. "Amiodarone:-
clinical efficacy and electrophysiology during-
long-term therapy for recurrent ventricular ta-
chycardia or ventricular fibrillation". The -
new England Journal of Medicine. 305(10):1982
p. 539-545.

- 13.--KOONLAWA, Nademane and Eraman N. Singh. "Advances in antiarrhythmic Therapy". J.A.M.A. 247(2): - 1982, p. 217-222.
- 14.--BAUDINE, A.; Chaillet F.; Charlier et Hosslet A. "Recherches dans la série des benzofurannes XXVI: - Effet's pharmacologiques généraux de l'amiodarone". Arch. Int. Pharmacodyn. 169(2):1967, - p. 469-481.
- 15.--ROSENBAUM, M.B.;Chiale P.A. and Halpern M.S. "Clinical efficacy of amiodarone as an antiarrhythmic drug" Am. J. Cardiol. 38(8):1976, p. 934-944.
- 16.--TOSSAINT, D. and Phol. S. "Aspect histologique et ultrastructure des dépôts cornéens dus au chorydrate d'amiodarone". Bull. Soc. Belge. Optique. 153(4):1969, p. 675-86.
- 17.--VERIN, P.; Gendre P.; Barchewitz G.; Laurent B. and Morax S. "The saurismose corneenne par amiodarone" Arch. Ophtalmol. 31(6):1971, p. 581-96.
- 18.--HAFFAJEE, C.; Alpert J.; Lesko I. and Asdouriang G. - "Amiodarone for refractory symptomatic tachyarrhythmias" Circulation. 72(3):1982, p. 320-30.
- 19.--COMERTEC S.A.

- 20.-FLANAGAN, R.J.; Storey G.; Bhanra R. and Jane I. "High performance liquid chromatographic analysis of basic drugs on silica columns using non-aqueous-ionic eluents". J. Chromatogr. 247(1):1982,- p. 15-37
- 21.-CAVAZZUTTI, G.; Gagliardi L.; Amato A. and Tonelli D. - "Colour reactions of iodic acid as reagent for identifying drugs by thin layer chromatography". J. Chromatogr. 268(3):1983. p. 528-534.
- 22.-AMATO, A.; Gagliardi L.; Cavazzutti, G.; Zagarese, V. and Ciranni S. "Determination of amiodarone in pharmaceuticals by reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography". Farmaco. Ed. Prat. 39(3):1984, p. 96-100.
- 23.-FLANAGAN, R. and Jane I. "High performance liquid chromatographic analysis of basic drugs on silica column using non-aqueous ionic eluents: I. Factors influencing retention, peak shape and detector response". J. Chromatogr. 323(2):1985, - p. 173-189.
- 24.-JANE, I. "High performance liquid chromatographic analysis of basic drugs on silica columns using non-aqueous ionic eluents: II. Application of U.V., fluorescence and electrochemical oxidation detection". J. Chromatogr. 323(2):1985, p. 191---225.

25.-ROSENSTEN, Emilio Y Martín del Campo Alfonso. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 29 ed. 1983. México. Editorial PLM.