Facultad de Ciencias Químicas Carrera de Farmacia.

TEMA:

DESARROLLO Y *VALIDACIÓN DE UN MÉTODO DE ANÁLISIS CUANTITATIVO DE TABLETA DE NIMODIPINA, NITRENDIPINA Y NICARDIPINA POR HPLC ,REALIZADO EN EL I I SEMESTRE 2002.*

Autores : ***Septiembre Patricia Vargas Rivera***

Margine Ruiz Romero

Tutor : ***Lic. Kelvin J. Núñez Martínez***

Leon , Nicaragua Enero 2003

INTRODUCCION

INTRODUCCION

El farmacéutico se gobierna cada vez más por regulaciones que controlan la validez y calidad de los datos a producirse. Para obtener la confianza máxima en los resultados, debe prestarse la atención al desarrollo del método analítico, aprobación y procedimientos de la calibración del equipo.

Se deberá evaluar cuidadosamente la información sobre la validación de los métodos para comprobar que sean completos, precisos y confiables. En particular, si existe un método del compendio, pero la empresa opta por usar un método alternativo en su lugar, deberá comparar los dos y demostrar que el método interno es equivalente o superior al procedimiento oficial.

Para los métodos del compendio las empresas deberán demostrar que el método funciona bajo las condiciones de uso reales. Se puede validar los métodos de varias maneras. Se considera que los métodos que figuran en la USP están validados. La empresa también puede realizar un estudio de validación para su método.

Los datos de adecuación del sistema solos son insuficientes y no constituyen un método de validación. Al examinar los datos de validación de los métodos, se espera que los datos para las pruebas repetitivas sean coherentes y que las diversas concentraciones de las soluciones de prueba provean resultados lineales.

Considerando que las industrias farmacéuticas se ven obligados a desarrollar procedimientos de ensayos interno ante la falta de algunos métodos no establecidos en la farmacopea ,que permiten velar por la calidad de los productos farmacéuticos nos proponemos desarrollar un método analítico por HPLC.

El propósito del estudio es desarrollar un método analítico para tabletas de nitrendipina , nicardipinana , nimodipina HPLC con el grado de seguridad y confianza así como el conocimiento de las características del funcionamiento del método que brindan la validación.

En la obtención de los resultado de este ensayo esperamos contribuir con a la industria farmacéutica para tener métodos alternativos del grupo farmacológico propuesto y un modelo de validación de métodos analíticos aplicable a otros fármacos y / o productos farmacéuticos cuando los que ya se conocen presenten algún obstáculo .De ahí la importancia de poder optar por un método u otro cuando se precise .Así mismo para controlar la calidad y demostrar la seguridad del producto en los pacientes que requieran del tratamiento de este medicamento.

JUSTIFICACION

JUSTIFICACIÓN

El presente estudio justifica su realización por la falta de existencia en la Farmacopea Americana USP XXVI , Mexicana VI , Bristish de un método de análisis para molécula de un mismo grupo Farmacológico (vasodilatadores) como: Nimodipina, Nitrendipina, Nicardipina así mismo tomando en cuenta la similitud existente entre las moléculas las que difieren entre si por la presencia o posición de grupos funcionales pertinentes.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Desarrollar y Validar un método analítico para el análisis de tableta de nimodipina, nitrendipina, nicardipina por HPLC.

OBJETIVO ESPECÍFICO:

- Seleccionar los criterios estadísticos para obtención del resultados.
- Demostrar las ventajas del método aplicando criterios de validación
- Interpretar los resultados obtenidos y elaborar la correspondiente conclusión acerca del método.

MARCO TEORICO

MARCO TEORICO

La cromatografía: de líquidos se define como Una técnica de Separación así como un método para la separación de productos multicomponentes .
Es necesario tomar en cuenta ciertas propiedades los cuales son de importancia para el éxito del ensayo como :

SOLUBILIDAD*:* La tendencia de una molécula a ser disuelta en un medio líquido.

ABSORCIÓN*:* La tendencia de una molécula a ser atraída por un medio sólido.

FASE MOVIBLE*:* Se refiere a la fase líquida en C . L.

FASE ESTACIONARIA*:* La fase estacionaria puede ser líquida o un compuesto sólido finamente dividido .

CASIFICACION DE LAS CROMATOGRAFIAS

I. CROMATOGRAFÍA LIQUIDO SÓLIDO (L . S).

Básicamente la separación cromatográfica depende de la interacción entre la muestra, el empaque de la columna y el solvente que empuja la muestra a través de todo el sistema.

La separación ocurre según la afinidad de la muestra hacia la fase sólida o la fase líquida. También influye el grado de retención, o sea cuanto tiempo está la muestra dentro de la columna.

Este método cromatográfico de interacción entre líquido-sólido se divide en dos formas: "Fase Normal" y "Fase Reversa".

FASE NORMAL.

Fase estacionaria "polar" para separar compuestos polares, fase movible, o sea el solvente es no polar.

FASE REVERSA.

Fase estacionaria no polar y la fase móvil es polar

FASE NORMAL VS FASE REVERSA.

	FASE NORMAL	FASE REVERSA
Polaridad Empaque	Alta	Baja
Polaridad Solvente	Baja o Mediana	Mediana o Alta
Orden de Elusión de la muestra	Menos Polar Primero	Mas Polar Primero
Efecto de aumentar Polaridad del solvente	Reduce tiempo de la Elusión	Aumenta tiempo de Elusión

II. CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN (EC).

Cromatografía de gel es el método más reciente de los cuatro métodos de CL. Otros nombres que identifican a la cromatografía de Gel son: Cromatografía de Exclusión: Filtración de Gel; y Permeación de Gel .

Es el método mas reciente , el mas fácil de controlar ya que se técnica se basa en el tamaño de las partículas.

C . EX

(G P C) (G F C)

III. CROMATOGRAFÍA DE SUPERFICIE IMPREGNADA (SIC).

Impregnada porque algunas de las moléculas han sido introducidas en la superficie de la sílica sin que conviene con la sílica.

La idea es hacer la sílica no-polar. Los grupos más popularmente impregnados en la sílica son los hidrocarbónicos C_2 , C6, y C_{18}

Entre más larga la cadena hidrocarbónica mayor será el tiempo de retención de la muestra en la columna. Debido a que la muestra es retenida más tiempo según aumenta la cadena de hidrocarbones usados.

IV. CROMATOGRAFÍA POR INTERCAMBIO IÓNICO (IEC)

El modo de Cromatografía más difícil de controlar es la Cromatografía de Intercambio Iónico. Esto se debe a las variables tan complejas como: fortaleza iónica; factores de carga; y p H. Las separaciones son difíciles y las condiciones óptimas son alcanzadas a través de varias pruebas.

En el intercambio iónico la fase estacionaria presenta una cadena polimérica de un ácido o una base. Normalmente constituyendo un grupo funcional acídico (tal como ácido carboxílico o ácido sulfónico). Quizás, constituyendo un grupo funcional básico. (Un amino o un amino cuaternario de hidróxido).

Esta cromatografía se utiliza para separar amino ácidos muy importantes en muestras biológicas.

LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS.

La preparación de muestras comprende la disolución completa y la liberación de partículas antes de realizar una inyección en el cromatógrafo. Se recomienda la filtración de la muestra a través de un filtro de 0.5 micrones y también centrifugación, si es posible .Esto evita el alargamiento de los picos o cromatogramas. Evita también que se tupan las columnas o células de los detectores y de que se recuperen muestras incompletas.

Por ejemplo, si la muestra es insoluble pero los compuestos que deseamos analizar son solubles. Entonces pulverizamos la muestra se solubiliza el analito de interés y se extrae. Es preferible utilizar un solvente volátil de manera que se evapore y podamos recuperar la parte que se desea analizar. Proceder entonces a disolver la parte de interés en un solvente mas adecuado.

TIPOS DE EMPAQUE

SEPARACIONES DE CROMATOGRAFÍA PREPARATIVA.

La estructura de este tipo de empaque presenta las características de alta porosidad y alta capacidad . El tamaño común es de 50 micrones tienen una superficie altamente porosa de 300-500 mc2.

PARA SEPARACIONES DE INDOLE ANALITICA

La estructura es de forma pelicular y de alta eficiencia. Aun cuando el empaque de forma pelicular tiene la misma área en la superficie, este empaque tiene menos retención, ya que la superficie es solamente 10 a 30 C2/g comparada con el empaque de preparación que es 300 – 500 m C2B/g. También el área de difusión es menor porque solo la película brinda porosidad.

PARA SEPARCIONES PREPARATIVAS Y ANALITICAS.

Este empaque ofrece mayor porosidad porque tiene partículas mas pequeñas. También brinda mas platos teóricas, mejor difusión y por consiguiente brinda mas eficacia. Las partículas más pequeñas ofrecen menos mezcla de la muestra con el solvente y mejor eficiencia en la separación.

De estas tres categorías emerge una enorme variedad de columnas y empaques que cubren un amplio rango.

Básicamente la composición puede ser de acuerdo con la necesidad del usuario. Por ejemplo: Para separar proteínas, usemos una columna que contiene silica unida. Para el análisis de carbohidratos, grasas, o triglicéridos se utiliza una columna especial para esta separación. Lo mismo sucede para análisis de intercambio iónico, etc.

Cada manufacturados nombra la columna de acuerdo a los características y uso. Los manufacturadotes de columna usan nombres que son difíciles de asociar. "Es mejor seleccionar la columna de acuerdo al uso que se le va a dar".

El tipo de columna que utilizamos en nuestro ensayo es : C-18 que posee un empaque no polar o de baja polaridad lo cual presenta ventajas para el orden de elusión de la muestra saliendo primero la parte mas polar

SOLVENTES Y POLARIDAD.

El solvente es parte esencial en la separación cromatografica Por consiguiente el solvente debe ser seleccionado y preparado cuidadosamente. He aquí algunas sugerencias:

- El solvente debe de estar libre de partículas antes de entrar en el sistema. Usando un filtro micro poroso de 0.2 micrones y añadiendo un adaptador "guarda columna".

- Esto evita que se tupan las bombas, las columnas, y se elimina reparaciones del sistema. Ej.: Etilendiamina se degradan.

- Antes de poner el solvente en el sistema se deben eliminar los gases. Claro que debido a la alta presión ce C . L. los gases se comprimen y presentan menos problemas, pero frecuentemente estas burbujas causan señales erráticas en la célula del detector.

- Las burbujas se evitan calentando ligeramente el solvente o colocando el solvente en un baño ultrasónico por unos 5 minutos.

- Al usar agua como solvente debe limpiarse de compuestos orgánicos. El agua debe re-destilarse ocasionalmente para evitar el crecimiento de bacteria. El agua también absorbe dióxidos de carbono del aire y esto altera el pH. Asegurase que el agua es de calidad antes de usarla.

ALARGAMIENTO DE LOS PICOS.

Muchas inquietudes surgen con respecto al alargamiento de los picos. Básicamente los picos se alargan porque alguno de los siguientes factores no se ha observado cuidadosamente:

- **Sobrecargar la Columna**. Simplemente, disminuir la cantidad de muestra. Los picos se harán mas simétricos a medida que reduce el volumen de inyección. Si es necesario, retener el volumen de muestra, proceda a utilizar una columna mas grande, disminuya el flujo o cambie la fortaleza del solvente. Esto tomara un poco mas de tiempo para la separación.

- **Columna mal Empacada***:* Si la columna tiene un empaque de densidad variable también variaran los picos. La única solución es cambiar los empaques de la columna.

- **Empaque Desigual***:* A veces la columna tiene áreas mas activas que otras y por consecuencia los picos demostraran alargamiento. La solución es reemplazar la columna o tratar de limpiar la columna con un agente desactivador

- **Viscosidad***:* Los problemas de viscosidad fueron mencionados con anterioridad. Pero la distorsión de picos es el resultado de usar una muestra que no se mueve uniformemente a través de la columna. Para evitar la distorsión de picos proceda a diluir la muestra.

- **Mala Resolución***:* Ocasionalmente, parece que hay alargamiento de picos; pero sin embargo mas de un pico debe aparecer en la registradora. Reduzca el flujo y vera mayor eficiencia del sistema.

.

OTRAS CONSIDERACIONES EN EL SISTEMA CROMATOGRAFICO SON:

- Obtener un solvente puro a bajo costo.
- Obtener un solvente lo menos viscoso posible.
- Obtener solventes que sean capaces de disolver la muestra.
- En formas comparativas usar un solvente que se pueda separar de la muestra.
- La diferencia de absorbancia entre los solventes A y B no debe ser mucha en el UV para que la base no cambie. Si es necesario use un antioxidante como BHT y resuelto el problema.
- Puede colectar una fracción de la muestra y separar por un sistema de gradiente separado.

¿ QUE ES VALIDACIÓN ?

Es el proceso establecido para la obtención de pruebas convenientes, documentadas y demostrativas de que un proceso de fabricación o método de controles lo suficientemente fiable para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos .

La validación es importante porque proporciona un alto grado de confianza y seguridad del proceso productivo o del método analítico así como también en la calidad de los resultados.

Es un programa documentado que debe incluir evidencia documentada al mismo tiempo interpretar adecuadamente los datos recogidos en suficiente numero de ensayos para obtener una medida estadística .

El proceso de la validación de métodos de análisis consiste en demostrar experimentalmente la funcionalidad del método para las aplicaciones analíticas propuestas así como la evidencia documentada del procedimiento, el diseño experimental , un tratamiento estadístico apropiado y un criterio de aceptación.

La validación del método para el análisis de una muestra o para el seguimiento de un proceso particular no garantiza que el método puede utilizarse indiscriminadamente para cualquier clase de muestra o proceso .

Su aplicación permite obtener información estadística confiable lo cual constituye una evidencia para tomar decisiones respecto a la adecuación de una operación o procedimiento dentro del proceso que se esta validando es por esto que se considera un paso esencial en la validación de un proceso.

CRITERIOS A TOMAR EN CUENTA

LINEARIDAD DEL SISTEMA :

Se determina, construyendo una curva de calibración concentración vs respuesta medida utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo análisis cuando menos por duplicado para cada dilución.

CRITERIO : CV $\leq$ 1.5 % , r $\geq$ 0.99 , r^2 $\geq$ 0.98

LINEARIDAD DEL METODO :

Se determina a partir de al menos 3 diferentes cantidades de la sustancia de interés ,cada uno de manera independiente, haciendo los análisis por triplicado.

CRITERIO *:* Cantidad adicionada vs cantidad recuperada : m = 1, b = 0 , $r^2 \geq 0.98$.Los por cientos recuperados 98-102 % y los CV $\leq$ 2 %

EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100 % :

Se determina de, cuando menos, 6 muestras independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés para obtener la concentración del 100 % , utilizando el método propuesto. Haciendo el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

CRITERIO :

El por ciento recuperado deberán de estar 98 - 102 %y el CV $\leq$ 2%

FÓRMULAS

Linearidad del sistema:

1) Tabular los resultados con base al siguiente formato:

Concentración de la Dilución de la solución patrón (X)	Propiedad medida (Y)
X1	Y11, Y12,....Y1n
X2	Y21, Y22,.... Y2n
.	. . .
Xt	Yt1, Yt2,.....,Ytn

t= número de diluciones
n= número de replicaciones (propiedad medida) de cada dilución de la solución patrón.

Para proceder a los siguientes cálculos, es necesario que el número de replicaciones por dilución, sea equivalente.

2) Cálculos preliminares para coeficientes de correlación y coeficientes de determinación:

$$\sum X = n(X1 + X2.....Xt)$$

$$\sum y = Y11 + Y12 + ... + Y1n + Y21 + 22 + ... + Y2n + ... +$$

$$Yt1 + ... + Yt2 + ... + Ytn$$

$$\sum X^2 = n(X1^2 + X2^2 + ...Xt\ )$$

$$\sum y^2 = Y11^2 + Y12^2 + ... + Y1n^2 + Y21^2 + 22^2 + ... + Y2n^2 +$$

$$+ Yt1^2 + Yt^2 + ... + Ytn^2.$$

$$\sum XY = X1(y11 + Y12 + Y1n) + X2(y21 + y22 + ...y2) + ... +$$

3) Cálculos finales para coeficientes de correlación y coeficiente de determinación.

$$r = \left(\frac{\left[nt(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)\right]}{\left[nt(\sum X^2) - (\sum X^2\right] - nt(\sum Y^2) - (\sum Y)^2} \right)^{1/2}$$

$$r^2 = \frac{\left[nt(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)^2\right]}{\left[nt(\sum X^2)\right] - \left[nt(\sum Y^2) - (\sum Y)^2\right]}$$

4) Cálculos preliminares para el coeficiente variación.

4.1 Calcular para cada punto de la linearidad del sistema el siguiente factor.

$$F = \frac{\text{Propiedad medida (Y)}}{\text{Concentración de la dilución de la solución patrón (X)}}$$

$$F_{11} = \frac{Y_{11}}{X_1}$$

$$F_{12} = \frac{Y_{12}}{X_1}$$

$$F_{1n} = \frac{Y_{1n}}{X_1}$$

$$Ft_1 = \frac{Yt_1}{Xt}$$

$$Ft_2 = \frac{Yt_2}{Xt}$$

$$Ftn = \frac{Ytn}{Xt}$$

4.2 Calcular la suma de los factores , la suma de cuadrados de factores y la media del factor.

$\Sigma F = F_{11} + F_{12} + F_{1n} + \ldots\ldots + Ft_1 + Ft_2 + Ftn +$

$\Sigma F^2 = F_{11}^2 + F_{12}^2 + F_1n^2 + \ldots\ldots + Ft_1^2 + Ft_2^2 + Ftn^2 +$

$$\overline{F} = \frac{\sum F}{N}$$

Donde:

N = Número de puntos de la linearidad del sistema.

5) Cálculos finales para el coeficiente de variación.

$$\Sigma \qquad DE = \left(\frac{N(\Sigma F^2) - (\Sigma F)^2}{N\,(N-1)} \right)^{1/2}$$

$$CV = \frac{DE}{\overline{F}} \times 100$$

Precisión del sistema

1) Tabular los resultados

$Y_1, Y_2, Y_3, ..., Yn$

2) Cálculos preliminares

$\Sigma Y = Y_1 + Y_2 + Y_3 + ... + Yn$

$\Sigma Y^2 = Y_1^2 + Y_2^2 + Y_3^2 + ... + Yn^2$

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y}{N}$$

$$DE = \left(\frac{N(\Sigma F^2) - (\Sigma F)^2}{N\,(N-1)} \right)^{1/2}$$

3) Cálculos finales

$$CV = \frac{DE}{Y} \times 100$$

Linearidad del método

a) Cantidad adicionada – cantidad recuperada.

1) Tabular los resultados con base al siguiente formato:

T = Número de cantidad adicionada

n = Número de replicaciones (Cantidad recuperada) por cada cantidad adicionada.

Para proceder a los siguientes cálculos es necesario que el número de recuperados (replicaciones) De cada cantidad adicionada, sean equivalentes

2) Cálculos preliminares.

$\Sigma X = X_{11} + X_{12} + \ldots + X_1n + X_{21} + X_{22} + \ldots + X_2n + \ldots + Xt_1 + Xt_2 + Xtn$

$\Sigma X = Y_{11} + Y_{12} + \ldots + Y_1n + Y_{21} + X_{22} + \ldots + Y_2n + \ldots + Yt_1 + Yt_2 + Ytn$

$\Sigma X^2 = X_{11}^2 + X_{12}^2 + \ldots + X_1n^2 + X_{21}^2 + X_{22}^2 + \ldots + X_2n^2 + \ldots + Xt_1^2 + Xt_2^2 + Xtn^2 + \ldots Xtn^2$

$\Sigma Y^2 = Y_{11}^2 + Y_{12}^2 + \ldots + Y_1n^2 + Y_{21}^2 + Y_{22}^2 + \ldots + Y_2n^2 + \ldots + Yt_1^2 + Yt_2^2 + Ytn^2 + \ldots Ytn^2$

$\Sigma XY = Y_{11}Y_{11} + Y_{12}Y_{12} + \ldots + X_1Y_1n + X_{21}Y_{21} + X_{22}Y_{22} + \ldots + X_2nY_2n + \ldots + X_2nY_2n + \ldots + Xt_1Yt_1 +$
$\Sigma Xt_2Yt_2 + \ldots +$
$XtnYn$

3) Cálculos finales

$$m = \frac{nt(\sum XY) - (\sum X)Y)}{nt(\sum X^2) - (\sum X)^2}$$

$$b = \frac{y - m(X)}{nt}$$

$$r^2 = \frac{\left[nt(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)\right]^2}{\left[nt(\sum X^2) - (\sum X)^2\right]\left[nt(\sum Y^2) - (\sum Y)^2\right]}$$

b) Por ciento recuperado

Calcular el por ciento recuperado (R) para cada cantidad recuperada, con la siguiente ecuación.

$$R = \frac{Y}{X} X100$$

1) Tabular los resultados

R_1, R_2, R_3, ..., Rn

2) Cálculos preliminares.

$\sum$ R_1, R_2, R_3, ..., Rn

$$\overline{R} = \frac{\sum R}{N}$$

$$DE = \left(\frac{N(\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{N\,(N-1)} \right)^{1/2}$$

4) Cálculos finales

$$CV = \frac{DE}{\overline{R}} X100$$

Exactitud y Repetibilidad al 100%

1) Tabular los resultados del por ciento recuperado R con base al siguiente formato:

R_1, R_2, R_3, ... Rn

2) Cálculos preliminares

$\sum R = R_1 + R_2 + R_3 + ... + Rn$

$\sum R^2 = R^1 + R^2 + R^3 + ... + Rn^2$

$$\overline{R} = \frac{\sum R}{N}$$

$$DE = \left(\frac{N(\Sigma R^2) - (\Sigma R)^2}{N\,(N-1)} \right)^{1/2}$$

5) Cálculos finales

$$CV = \frac{DE}{\overline{R}} X 100$$

Precisión (Reproducibilidad)

El siguiente procedimiento es aplicable únicamente cuando se utilicen dos días, dos analistas y tres determinaciones

MATERIAL Y METODO

MATERIAL Y METODO .

Tipo de estudio: Prospectivo de corte transversal

Área de Estudio: Nuestro estudio se realizo en el departamento de análisis de drogas , tóxicos y de medicamento perteneciente a la facultad de ciencias químicas carrera de farmacia ubicada en el complejo docente de la salud campus medico.

Universo: Lo constituyen6 productos pertenecientes al mismo grupo farmacológico como son: NIFEDIPINA ,NICARDIPINA ,NIMODIPINA ,AMLODIPINA Y NITRENDIPINA

Muestra: Representa el 50% del universo correspondiente a 3 productos como son (NIMODIPINA , NITRENDIPINA , NICARDIPINA.) provenientes de diferentes laboratorios.

Método*:* El método aplicado fue el método tradicional estadístico por regresión lineal (linearidad del método, linearidad del sistema, exactitud y repetibilidad al 100%).

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA.

- Estructura con mayor similitud a la nifedipina .
- Presencia del grupo NO_2.
- Baja polaridad.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO A APLICAR

Condiciones Cromatográficas:

- Equipo HPLC- Bomba Isocrática
- Fase Móvil – Metanol / agua (85:15)
- Fase Estacionaria: Columna C-18
- Solvente: Metanol
- Longitud de onda de lectura: 254 NM
- Flujo: 2ml/min.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCION PATRON O SOLUCION DE REFERENCIA (Estándar) DE NITRENDIPINA, NIMODIPINA, NICARDIPINA.

- Se pesó 5mg
- Se disolvió en una pequeña cantidad de metanol.
- Se llevó al sonificador por 5 min.
- Se aforó hasta 25 ml.
- Se tomó una alícuota de 1 ml y se transfirió a un balón aforado de 10 ml y luego se aforó con metanol.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE NITRENDIPINA, NICARDIPINA Y NIMODIPINA.

- Se tomaron individualmente para cada una de ellas.
- Una vez morterizada la tableta se tomaron individualmente de cada una de ellas con equivalente de polvo que contengan 50mg de P.A y luego
- Se disolvió en una pequeña cantidad de metanol.
- Se llevó al sonificador por 5 min.
- Se aforó hasta un volumen de 25 ml con metanol
- Luego se filtró usando un filtro watman No.2
- Luego se tomó 1 alícuota de 1 ml y se transfirió a una balón aforado de 10 ml y se aforó con metanol. Para obtener una concentración de 20 μc/ml, 1.8 ml y se llevó a un balón aforado de 10 ml y se aforó con metanol para obtener una concentración de 15 μc/ml, 1 ml se transfirió a un balón aforado de 100 ml y se aforó con metanol obteniendo así una concentración de 5 μc/ml .

MATERIAL Y EQUIPO A UTILIZAR EN LA VALIDACIÓN DEL METODO APLICADO A :NIMODIPINA , NITRENDIPINA Y NICARDIPINA.

- Equipo HPLC1100 Hewelett Packard Isocratico Modal
- Columna Eclipse XDB-C8 tamaño de partículas 5 µm. 4.6 x 150 mm.
- Sonificador Modelo:B3-R. Marca :Bransonic
- Balones aforados Pirex de 50, 25,100, 10 ml
- Filtro de Nylon Millipor poro 0.45 µc
- Filtro Watman No. 2
- Pipeta de aforadas 1,2, 5, 10, ml
- Probeta Pyrex de 50 ml
- Beaker Pyrex de 250 ml
- Balanza Analítica: Serie 4704233
- Espátula Fisher
- Kit de Filtración al Vacío " SCHOTT " de 1000 ml

RESULTADOS

RESULTADOS

LINEARIDAD DEL METODO

PRODUCTOS	CRITERIOS				
	r	**r^2**	**b**	**m**	**cv**
NITRENDIPINA	0.999643	0.999822	0.04625	0.99787	0.8714
NIMODIPINA	0.99983	0.999916	0.11107	0.99395	1.797
NICARDIPINA	0.999268	0.999634	0.2195	1.0231	1.8785

LINEARIDAD DEL SITEMA

PRODUCTOS	CRITERIOS		
	r	**a**	**b**
NITRENDIPINA	0.999981	-0.1922	6.7019
NIMODIPINA	0.999985	0.11043	5.0859
NICARDIPINA	0.999961	-0.3674	4.8568

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

- Realizar el ensayo posterior a la reciente preparación de las muestras y los Estándares

- Continuar con el estudio de validación de fármacos que posean similitud estructural por la técnica cromatografía desarrollada .

- Asegurar la calidad de los Solventes para el buen desarrollo de la técnica cromatografica

- Al introducir la muestra en el inyector esta deberá hacerse con rapidez para evitar variabilidad en la resolución de los cromatogramas

CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN

Al no existir referencia bibliografica para el análisis de tabletas de NETRENDIPINA , NICARDIPINA Y NIMODIPINA . Con nuestro trabajo hemos logrado desarollar un método de análisis cuantitativo para las mismas ,

Podemos aseverar asu vez que el método analítico desarrollado demuestra ser un método rápido , altamente reproducible y con elevada sensibilidad.

Según los resultados obtenidos muestran que los criterios seleccionados para la linearidad del método y la linearidad del sistema cumplen con sus rangos establecidos lo que confirma que el método es confiable y seguro.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

■ Revista . Procedimiento de análisis cuantitativo mediante cromatografía liquida a alta presión y cromatografía de gas.
Dr . Gerner
Dr . Weber
Pág. : 61-66.

■ Articulo Internet.
Dir: WWW. Alción . es.
Industrias farmacéuticas
Analítica / instrumentación de laboratorio.

■ Revista . Validación de un método de HPLC para "Avaliacao da estabilidade de substancia".
José Manuel Martins.
E . Ascensao Farinha.
Pág. : 77-79.

■ Revista . Articulo de Internet Flamingo pharmaceuticals Ltd.
E. mail: ashf @ giasbmo 1.vsnl . net .in .

■ Articulo Internet : Industria Farmacéutica .
WWW. Alción.es desarrollo y validación de método de análisis por HPLC.

■ The Merck Index
AN Encyclopedia of Chemical Drugs and Biological.
Susan Budavary editor.
Mary Adele S Oneil Asuciate editor
Ann Smith .Assitant editor
Published by.
Merck y CO . INC 1986
Pág. 1036,1026,1031.

- Clarke's . Isolation and Identification of Drugs.
  Ac Moffat.
  2da edición
  Pág. 811.

- Articulo de internet .
  Dir: www.chemindustry.com

- F. D. A.
  Guideline on general principles of process validation
  March, 1983.

- Goewie , Cherie E.
  Op timization of mobile Phase Composition in Liquido Cromatography
  A survey of most commonly used chemometric procedures.
  Journal of liquid Chromatography , 9 (7), 1986.
  Pag. 1434-1461.

- Process validation concepts for drug products.
  PMA S Validation , Advisory Committee.
  Sept.1985.

- Remington s Pharmaceutical Sciences.
  18th .Edition.
  Marck Publishing Co , 1990.
  Pag . 1119.

- Sharp , J.
  Why validation is necessary in Good Pharmaceutical Manufacturing Practece
  Mayo , 1983.

ANEXOS

NIFEDIPINA

GRUPO FARMACOLÓGICO ANTIHIPERTENSIVO

PROPIEDAD FARMACOLÓGICA =VASODILATADOR

dimetil 1.4 dinitro. 2.6 dimetil 4 (2 nitrofenil) piridin 3,5 dicarboxilato.

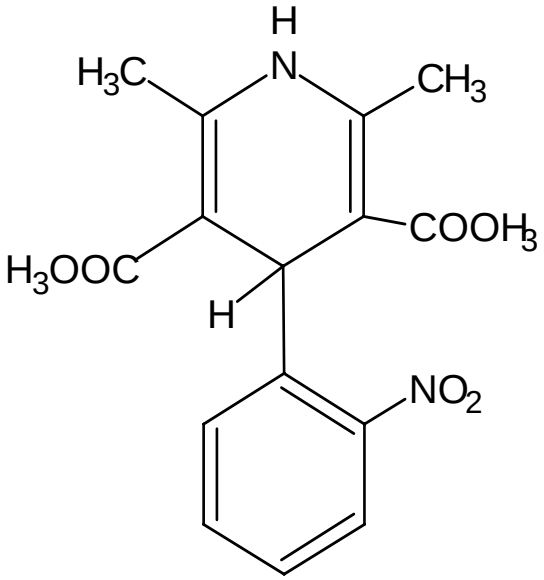
$C_{17}H_{18}N_2O_6$

PM= 346.3

Insoluble en agua

Ligeramente soluble en etanol y metanol

Soluble en acetona y cloroformo.



NIMODIPINA

GRUPO FARMACOLÓGICO.ANTIHIPERTENSIVO.

1.4 dihidro.2.6 dimetil 1-4-(3 nitrofenil)- 3,5 acido pirirdindicarboxilico 2 metoxifenil 1-metiletilester.

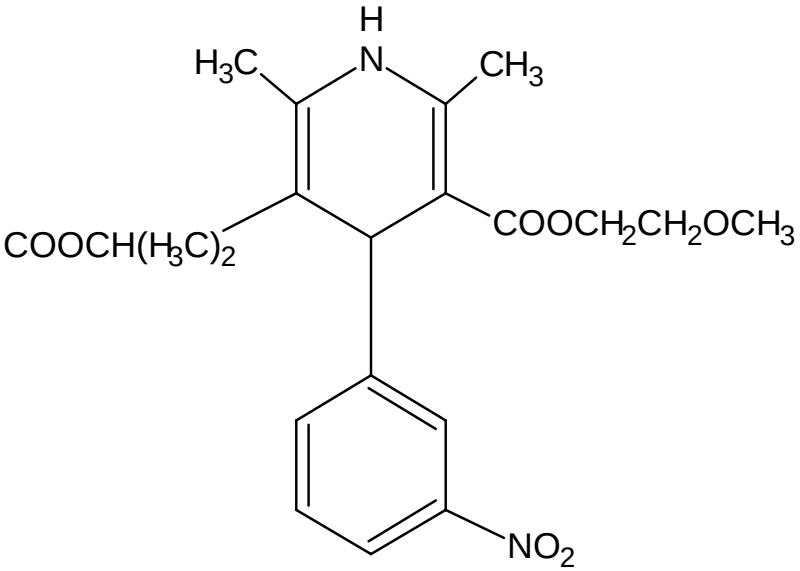
$C_{21}H_{26}N_2O_7$

PM= 418.45

Insoluble en agua .

Ligeramente soluble en etanol y metanol

Muy soluble en cloroformo



NICARDIPINA

GRUPO FARMACOLÓGICO: ANTIHIPERTENSIVO

1.4 dihidro-2.6 dimetil 1-4-(3 nitrofenil)-3.5 acido metil piridin dicarboxilico 2- [metil] (fenilmetil) amino esteretilico.

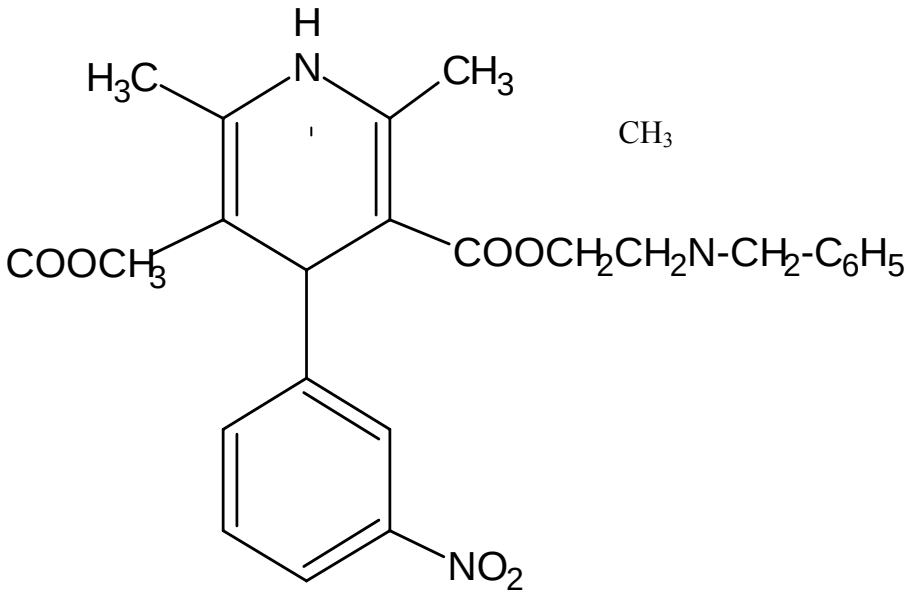
$C_{26}H_{29}N_3O_6$

PM= 479.54

Insoluble en agua

Soluble en etanol

Ligeramente soluble en metanol



NITRENDIPINA

GRUPO FARMACOLÓGICO : ANTIHIPERTENSIVO

Etilmetil –4-dihidro –2,6 dimetil-(nittrofenil)-3,5-piridincarboxilato

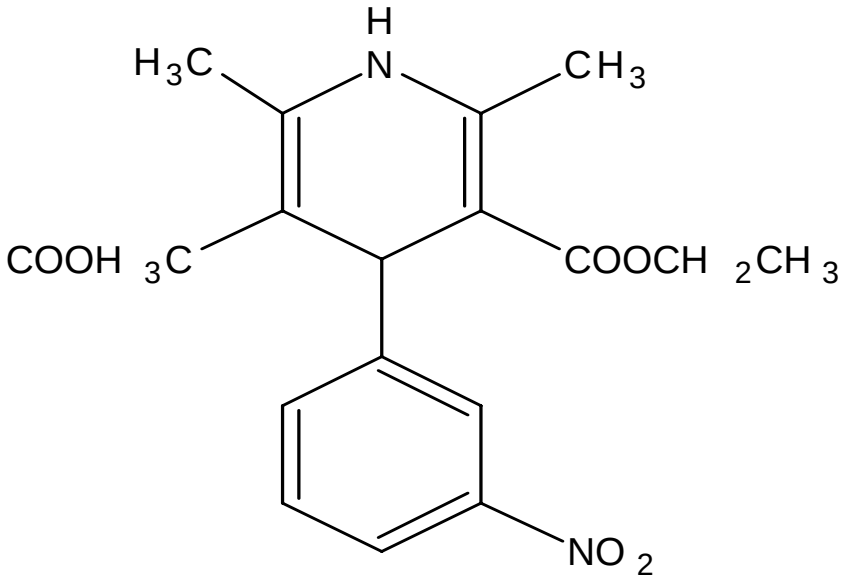
$C_{10}H_{20}N_2O_6$

Insoluble en agua

Poco soluble en etanol

Ligeramente soluble en cloroformo

Soluble en metanol



LINEARIDAD DEL METODO

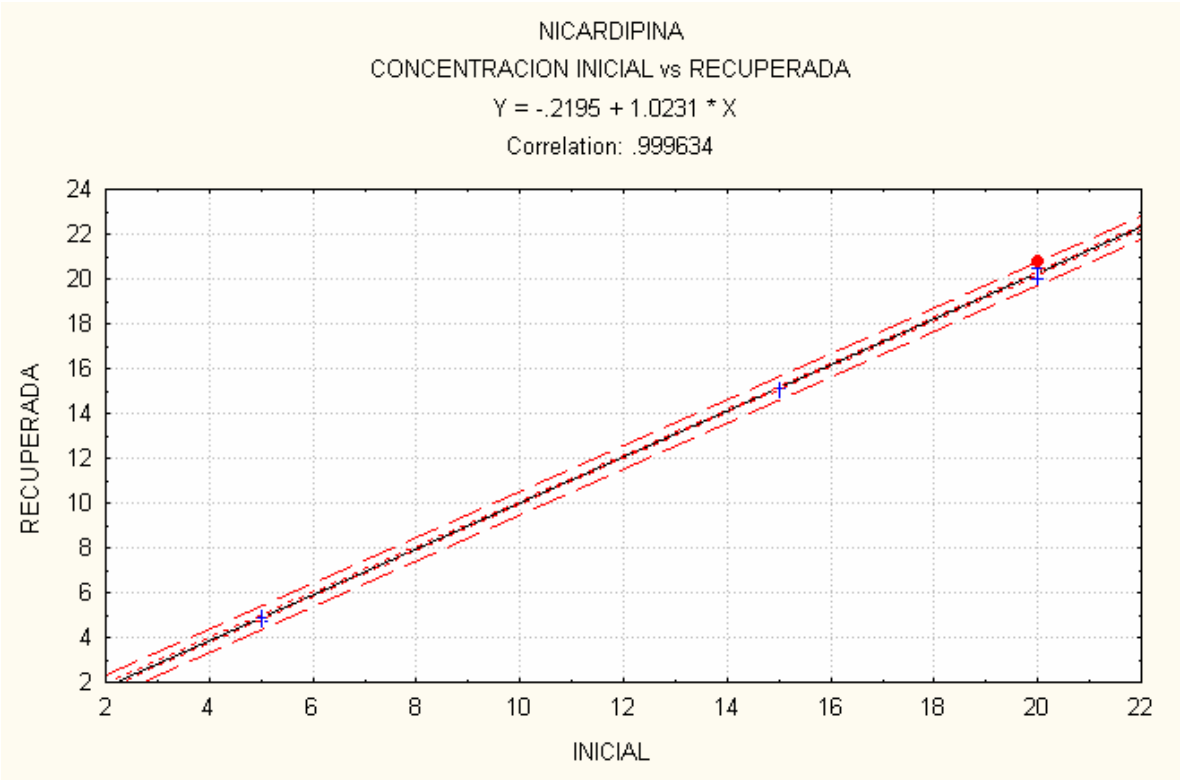
Producto : Nicardipina
Método Analítico HPLC
Procedimiento : Diez determinaciones , tres concentraciones

LINEARIDAD

---

r = 0.999268
r^2 = 0.999634
b=-0.2195
m=1.0231
CV =1.8785

OBSERVACIÓN: $b \approx 0$, $m \approx 1$, $r^2 > 0.98$ CV $< 2\%$



LINEARIDAD DEL METODO : DIEZ DETERMINACIONES , TRES CONCENTRACIONES (NICARDIPINA)

Determinaciones	Cantidad Adicionada	Cantidad Recuperada	Porcentaje Recuperado
1	5	4.9309	98.6180
2	5	4.9461	98.9220
3	5	5.0000	100.0000
4	5	5.0021	100.0420
5	5	4.8210	96.4200
6	5	4.7231	94.4620
7	5	4.9204	98.4080
8	5	4.8766	97.5320
9	5	4.9902	99.8040
10	5	4.8905	97.8100
11	15	15.1579	101.0527
12	15	15.0262	100.1747
13	15	15.0000	100.0000
14	15	15.0252	100.1680
15	15	15.0120	100.0800
16	15	15.1411	100.9407
17	15	15.1578	101.0520
18	15	15.0263	100.1753
19	15	15.1492	100.9947
20	15	15.1589	101.0593
21	20	20.4445	102.2225
22	20	20.0000	100.0000
23	20	20.4441	102.2205
24	20	20.8180	104.0900
25	20	20.4645	102.3225
26	20	20.0002	100.0010
27	20	20.0910	100.4550
28	20	20.4449	102.2245
29	20	20.0015	100.0075
30	20	20.0011	100.0055

LINEARIDAD DEL METODO

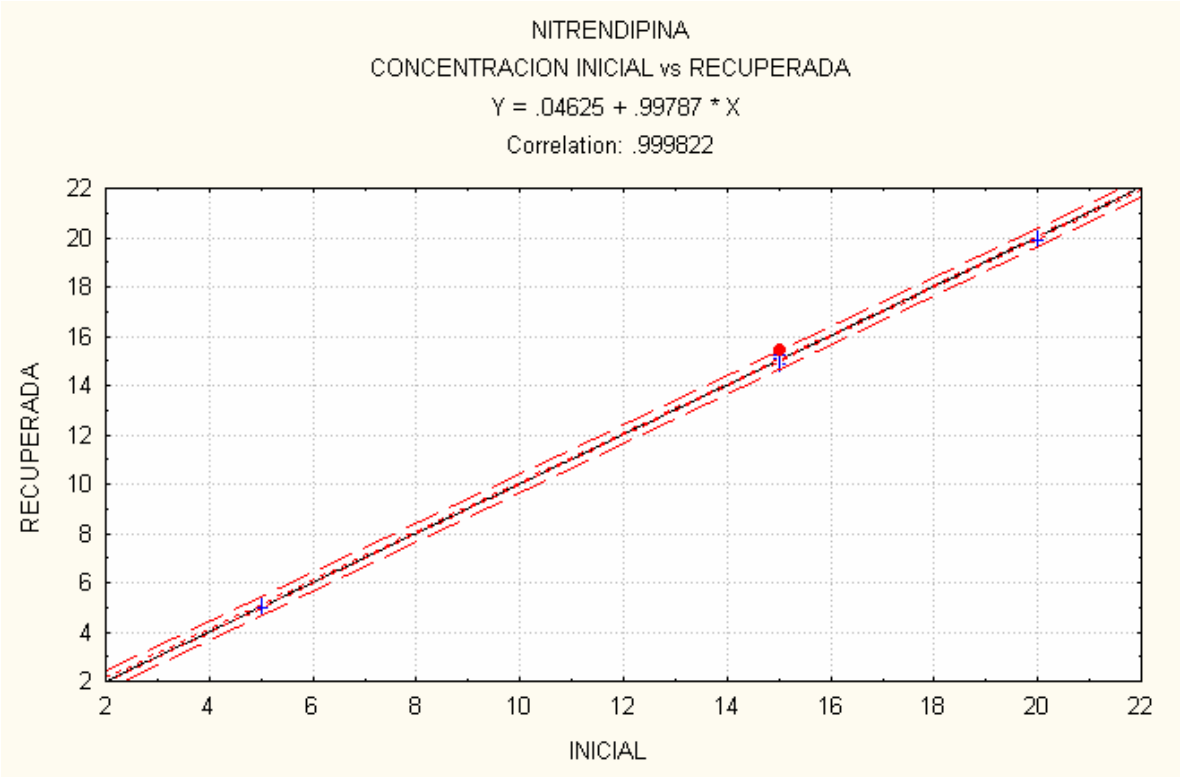
Producto : Nitrendipina
Método Analítico HPLC
Procedimiento : Diez determinaciones , tres concentraciones

LINEARIDAD

---

r = 0.999643
r^2 = 0.999822
b =0.04625
m =0.99787
CV =0.8714

OBSERVACIÓN: $b \approx 0$, $m \approx 1$, $r^2 > 0.98$ CV $< 2\%$



LINEARIDAD DEL METODO : DIEZ DETERMINACIONES , TRES CONCENTRACIONES (NITRENDIPINA)

Determinacion	Cantidad Adicionada	Cantidad Recuperada	Porcentaje Recuperado
1	5	5.1177	102.3540
2	5	5.0000	100.0000
3	5	5.0012	100.0240
4	5	5.0032	100.0640
5	5	5.0210	100.4200
6	5	5.0025	100.0500
7	5	5.0214	100.4280
8	5	5.0011	100.0220
9	5	5.0124	100.2480
10	5	5.0022	100.0440
11	15	15.4564	103.0427
12	15	15.0000	100.0000
13	15	14.9612	99.7413
14	15	14.9878	99.9187
15	15	15.2013	101.3420
16	15	14.7998	98.6653
17	15	14.9023	99.3487
18	15	14.9961	99.9740
19	15	15.1243	100.8287
20	15	15.2340	101.5600
21	20	20.0222	100.1110
22	20	19.8881	99.4405
23	20	20.0012	100.0060
24	20	20.0011	100.0055
25	20	20.0104	100.0520
26	20	19.8579	99.2895
27	20	20.0000	100.0000
28	20	20.0124	100.0620
29	20	20.0012	100.0060
30	20	19.8956	99.4780

LINEARIDAD DEL METODO

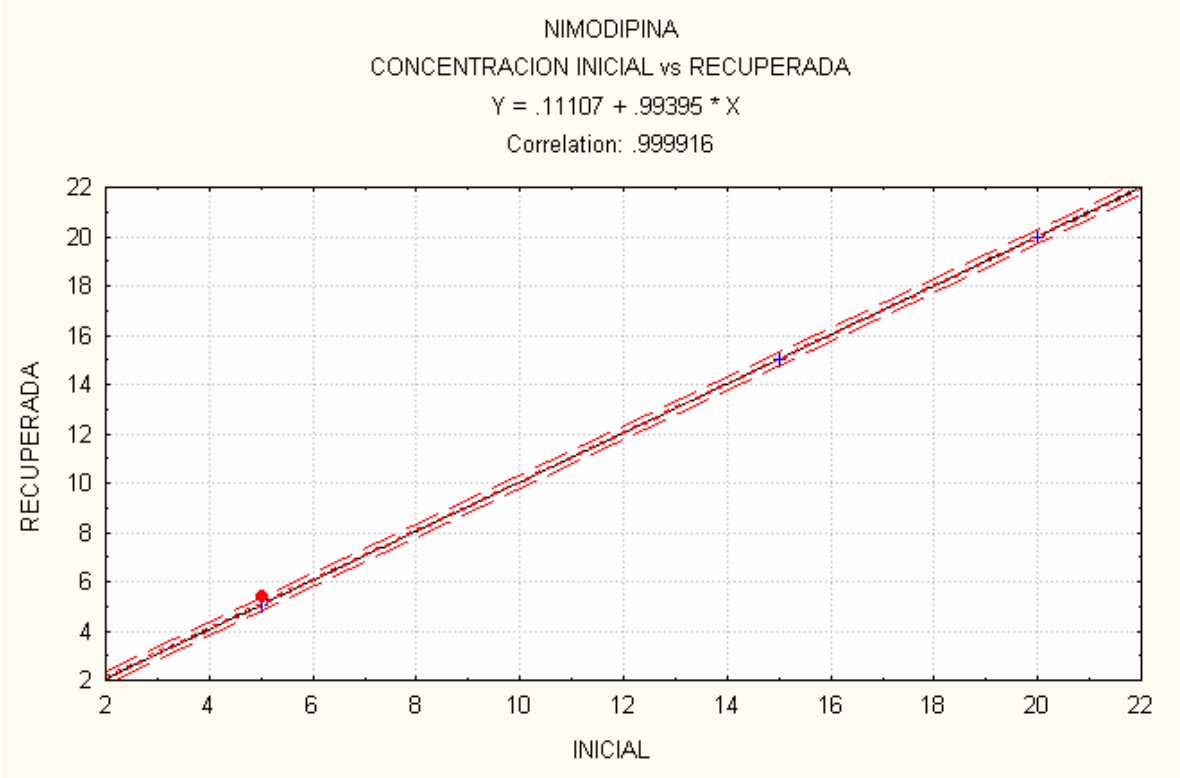
Producto : Nimodipina
Método Analítico HPLC
Procedimiento : Diez determinaciones , tres concentraciones

LINEARIDAD

---

r = 0.99983
r^2 =0.999916
b =0.11107
m =0.99395
CV = 1.797

OBSERVACIÓN: $b \approx 0$, $m \approx 1$, $r^2 > 0.98$ CV $< 2\%$



LINERARIDAD DEL METODO : DIEZ DETERMINACIONES , TRES CONCENTRACIONES (NIMODIPINA)

Determinaciones	Cantidad Adicionada	Cantidad Recuperada	Porcentaje Recuperado
1	5	4.963	99.2600
2	5	5.0714	101.4280
3	5	5.0082	100.1640
4	5	5.0079	100.1580
5	5	5.0033	100.0660
6	5	5.0603	101.2060
7	5	5.4002	108.0040
8	5	5.0302	100.6040
9	5	5.0231	100.4620
10	5	5.3016	106.0320
11	15	15.0022	100.0147
12	15	15.0011	100.0073
13	15	15.0011	100.0073
14	15	15.0036	100.0240
15	15	15.0012	100.0080
16	15	15.0020	100.0133
17	15	15.0025	100.0167
18	15	15.0032	100.0213
19	15	15.0010	100.0067
20	15	15.0031	100.0207
21	20	20.0004	100.0020
22	20	20.0000	100.0000
23	20	20.0000	100.0000
24	20	20.0004	100.0020
25	20	20.0090	100.0450
26	20	20.0008	100.0040
27	20	20.0030	100.0150
28	20	20.0050	100.0250
29	20	20.0032	100.0160
30	20	20.0011	100.0055

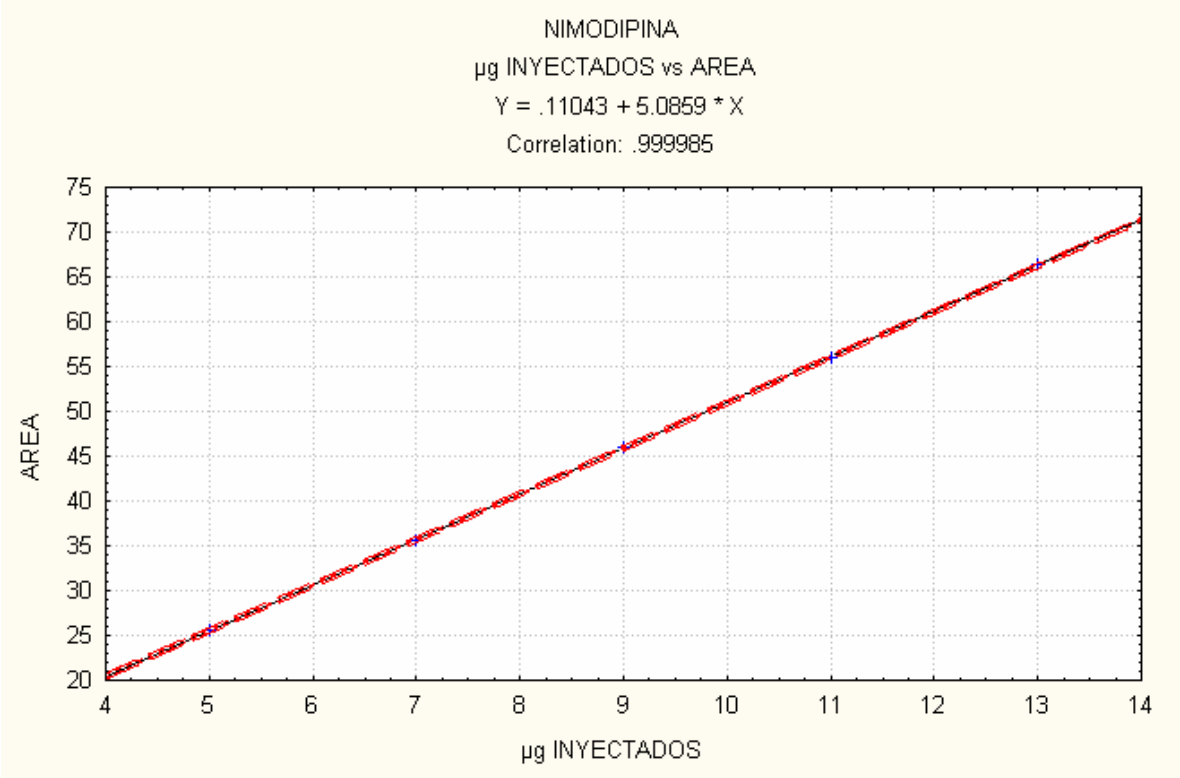
LINEARIDAD DEL SISTEMA

Producto : Nimodipina
Método Analítico HPLC
Procedimiento : Cinco Determinaciones , Una Muestra

LINEARIDAD

r = 0.999985
a =0.11043
b = 5.0859

OBSERVACIÓN:



LINEARIDAD DEL SISTEMA : CINCO DETERMINACIONES , UNA MUESTRA (NIMODIPINA)

Determinaciones	Cantidad Adicionada	Cantidad Recuperada	Área	Porcentaje Recuperado
1	5	4.963	25.3116	99.2600
2	5	5.0714	25.8645	101.4280
3	5	5.0082	25.5419	100.1640
4	7	6.9904	35.6512	99.8629
5	7	7.0013	35.7067	100.0186
6	7	7.0001	35.7006	100.0014
7	9	9.0148	45.9756	100.1644
8	9	9.0012	45.9063	100.0133
9	9	8.9998	45.8991	99.9978
10	11	11.0016	56.1083	100.0145
11	11	10.8894	55.5361	98.9945
12	11	11.0012	56.1063	100.0109
13	13	12.9985	66.2926	99.9885
14	13	13.0112	66.3573	100.0862
15	13	13	66.3002	100.0000

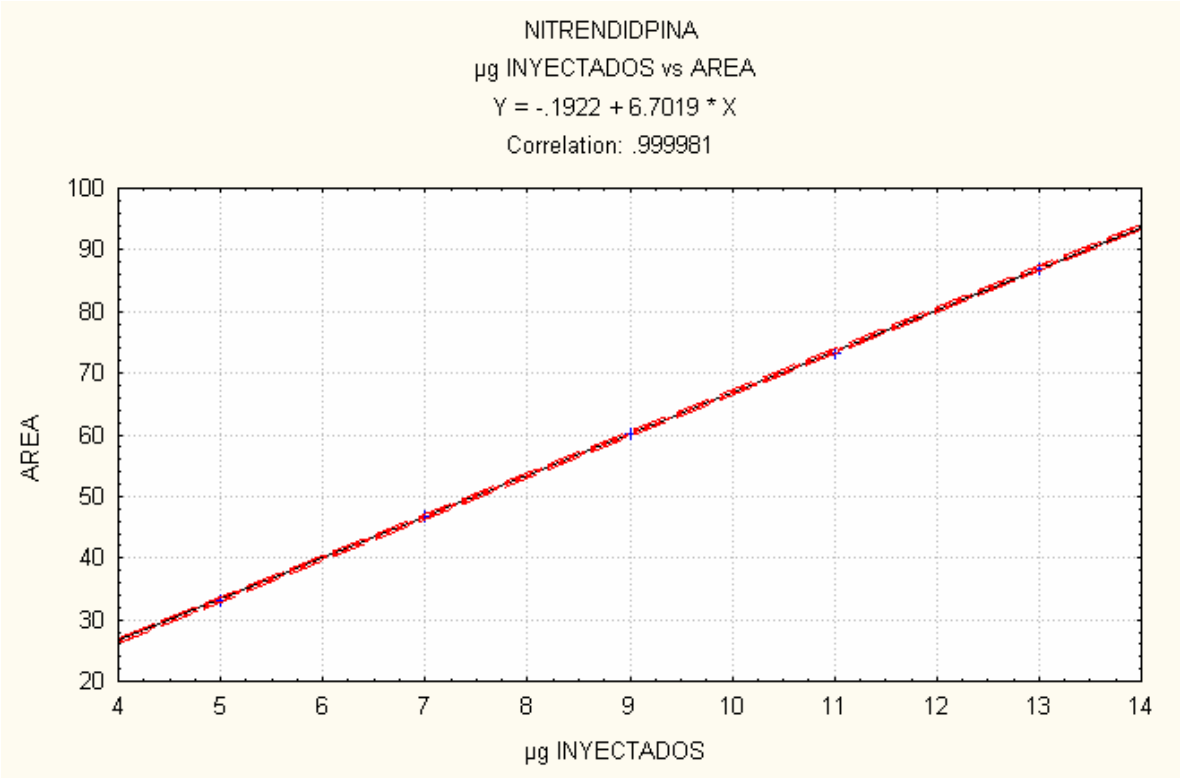
LINEARIDAD DEL SISTEMA

Producto : Nitrendipina
Método Analítico HPLC
Procedimiento : Cinco Determinaciones , Una Muestra

LINEARIDAD

r = 0.999981
a = -0.1922
b = 6.7019

OBSERVACIÓN:



LINEARIDAD DEL SISTEMA : CINCO DETERMINACIONES , UNA MUESTRA (NITRENDIPINA)

Determinaciones	*Cantidad Adicionada*	Cantidad Recuperada	Area	Porcentaje Recuperado
1	5	5.1177	33.4915	102.3540
2	5	5.0000	32.7212	100.0000
3	5	5.0012	33.4612	100.0240
4	7	7.0045	46.8645	100.0643
5	7	6.9987	46.8257	99.9814
6	7	7.0001	46.8351	100.0014
7	9	9.0006	60.2197	100.0067
8	9	8.9997	60.2137	99.9967
9	9	9.0013	60.2244	100.0144
10	11	11.0004	73.5997	100.0036
11	11	10.8895	72.8577	98.9955
12	11	11	73.5970	100.0000
13	13	12.9997	86.9762	99.9977
14	13	13.0006	86.9823	100.0046
15	13	13.0046	87.0090	100.0354

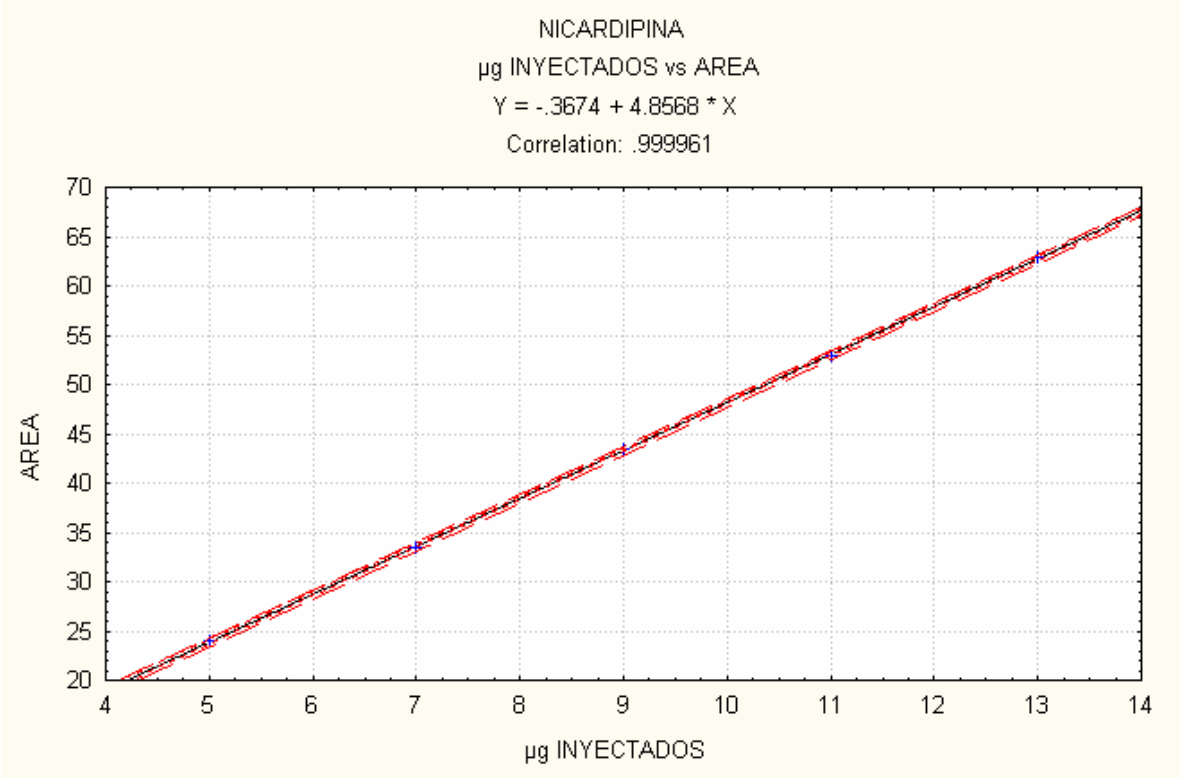
LINEARIDAD DEL SISTEMA

Producto : Nicardipina
Método Analítico HPLC
Procedimiento : Cinco Determinaciones , Una Muestra

LINEARIDAD

r = 0.999961
a = -0.3674
b = 4.8568

OBSERVACIÓN:



LINEARIDAD DEL SISTEMA : CINCO DETERMINACIONES , UNA MUESTRA (NICARDIPINA)

Determinaciones	Cantidad Adiconada	Cantidad Recuperada	Área	Porcentaje Recuperado
1	5	4.9309	23.8076	98.6180
2	5	4.9461	23.8813	98.9220
3	5	5.0000	24.1412	100.0000
4	7	6.9988	33.7918	99.9829
5	7	6.8997	33.3132	98.5671
6	7	7.0012	33.8032	100.0171
7	9	9	43.4538	100.0000
8	9	8.9976	43.4422	99.9733
9	9	9.0312	43.6044	100.3467
10	11	11	53.1102	100.0000
11	11	10.7895	52.0938	98.0864
12	11	11.0601	53.4003	100.5464
13	13	12.9974	62.754	99.9800
14	13	13.0563	63.0384	100.4331
15	13	13.0001	62.767	100.0008

EXACTITUD DEL METODO

Producto: NICARDIPINA
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

EXACTITUD

Valor medio: 100.042
Desviación Estándar: 1.8792
CV = 1.8785

Observación: Como CV < 2% se cumple con el criterio.

PRECISION DEL METODO

Producto: NICARDIPINA
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

PRECISION (Reproductibilidad)

Valor medio: 100.042
Desviación Estándar: 1.8782
CV = 1.8785

Observación: Como CV < 2% se cumple con el criterio.

EXACTITUD DEL METODO

Producto: NITRENDIPINA
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

EXACTITUD

Valor medio: 100.2175
Desviación Estándar: 0.8733
CV = 0.8714

Observación: Como CV < 2% se cumple con el criterio.

PRECISION DEL METODO

Producto: NITRENDIPINA
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

PRECISION (Reproductibilidad)

Valor medio:100.2175
Desviación Estándar: 0.8733
CV = 0.8714

Observación: Como CV < 2% se cumple con el criterio.

EXACTITUD DEL METODO

Producto: NIMODIPINA
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

EXACTITUD

Valor medio: 100.5880
Desviación Estándar: 1.8076
CV = 1.7970

Observación: Como CV < 2% se cumple con el criterio.

PRECISION DEL METODO

Producto: NIMODIPINA
Forma: Producto Terminado
Método Analítico: HPLC
Procedimiento: Diez determinaciones, tres muestras.

PRECISION (Reproductibilidad)

Valor medio: 100.041
Desviación Estándar: 1.8076
CV = 1.7970

Observación: Como CV < 2% se cumple con el criterio.

CUADRO No. 1.

LINEARIDAD DEL METODO

PRINCIPIOS ACTIVOS	**CRITERIOS**				
	r	**r^2**	**b**	**m**	**cv**
NITRENDIPINA	0.999643	0.999822	0.04625	0.99787	0.8714
NIMODIPINA	0.99983	0.999916	0.11107	0.99395	1.797
NICARDIPINA	0.999268	0.999634	0.2195	1.0231	1.8785

CUADRO No. 2.

LINEARIDAD DEL SISTEMA

PRINCIPIOS ACTIVOS	CRITERIOS		
	r	**a**	**b**
NITRENDIPINA	0.999981	-0.1922	6.7019
NIMODIPINA	0.999985	0.11043	5.0859
NICARDIPINA	0.999961	-0.3674	4.8568

GLOSARIO

VALIDAR :Es verificar documentalmente que un método o proceso hace lo que tiene que hacer .

CALIBRAR: Es una parte de la cualificacion y consiste en el ajuste interno del equipo maquina o instrumento .

CUALIFICAR :Es dotar o verificar las cualidades o características inherentes a un aparato (equipo ,maquina ETC).

EXACTITUD :Expresa que tan cerca están los resultados obtenidos al aplicar el método analítico del valor real .

PRECISION :Es el grado de concordancia de pruebas individuales obtenidas cuando se aplica el método en múltiples muestras de una muestra homogénea .

LINEARIDAD : Es la habilidad de obtener directamente o después de una transformación matemática proporcionales a la concentración del analito en un ámbito dado .

PATRON :Medida materializada , instrumento de medida , material de referencia o sistema de medida destinado a definir ,realizar conservar o reproducir una unidad o uno o varios valores de una magnitud para que sirvan de referencia .

LIMITE DE DETECCIÓN DE UN ANALITO :Es la menor magnitud que puede examinarse de un analito en una muestra que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto .

LIMITE DE CUANTIFICACION :Es la mínima concentración del analito en la muestra que puede ser determinado con una precisión y exactitud .

RESOLUCIÓN : Es un parámetro que determinan no solo la separación entre dos picos adyacentes sino también la eficiencia de la columnas

CROMATOGRAMA :Es la emisión que proviene del analito de interés en el análisis una vez que este ha sido detectado .(Es también conocido como picos cromatograficos)

HPLC: Es un tipo de cromatografía ,y sus siglas significan cromatografía liquida de alta presión.

FASE MOVIL :Es el solvente que transporta el analito de interés en el análisis hacia la columna y a lo largo de todo el sistema.

ANALITO :Es la molécula que se desea analizar.

SOLVENTE: Es un medio en el que puede ser disuelto el analito o bien puede ser utilizado para preparar la fase móvil .

TUPIR :Es la obstaculización o recubrimiento de los poros presentes en la columna por articulas extrañas .