

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA  
UNAN-LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
ESCUELA DE FARMACIA**



**TEMA: VALIDACIÓN DE UN METODO DE ANÁLISIS  
CUANTITATIVO DE BROMEXINA TABLETAS POR HPLC**

**AUTOR: Bra. *SILVIA DEL SOCORRO NAVARRETE MENDOZA***

**TUTOR: Lic. RONALD CHAMORRO B.**

**LEON, DICIEMBRE DEL 2000.**

190.340

C. 2



W  
42  
N321v  
2000

## AGRADECIMIENTO

A Dios, nuestro señor por iluminarme y guiarme con sabiduría y fortaleza en cada instante de mi vida y permitirme culminar mi carrera.

A mis padres, por todo el amor y apoyo incondicional que me han brindado.

A todos mis Exprofesores por sus conocimientos brindados.

Gracias.

## **DEDICATORIA**

A mis padres con el amor de hija

A mis hijos con el amor de madre

A mi esposo, el que con su apoyo me ayudó a concluir este trabajo

**SILVIA DEL SOCORRO NAVARRETE MENDOZA**

### **OPINIÓN DEL CATEDRÁTICO GUIA.**

La realización del presente trabajo Monográfico es de suma importancia en el área de control de calidad de medicamentos ya que viene a contribuir con un método de análisis nuevo al control físico-químico de medicamentos.

En este trabajo se logró encontrara una fase móvil que proporciona picos cromatograficos simétricos.

Por las conclusiones obtenidas, considero que los objetivos propuestos se han logrado y estimo que las recomendaciones propuestas por la sustentante, se deben tomar en cuenta y continuar con las investigaciones de este tipo.

Lic. Ronald Chamorro B.

## **RESUMEN**

### **Introducción:**

En este trabajo se dan a conocer los resultados obtenidos en la validación realizada a un Nuevo método de análisis cuantitativo para Bromhexina tabletas.

### **Método:**

Es un estudio prospectivo de corte transversal, donde se dan a conocer las bondades del método de análisis cuantitativo en condiciones normales de laboratorio. Se aplica el método tradicional estadístico por regresión lineal, la fase móvil utilizada fue acetonitrilo:metanol:Buffer de fosfato (0.001 M) pH 7, en una composición (41:41:18) con un flujo de 1 ml.

### **Resultados:**

Las condiciones cromatograficas para este análisis, fueron ajustadas respecto a la solubilidad concentración, del analito y composición de la fase móvil. Se obtuvieron las graficas de linearidad del método y del sistema, así como Exactitud y Precisión.

Se ajustaron los parámetros cromatograficos tales como flujo, longitud de onda y tipo de columna.

Se determinó el tiempo de retención para el analito en diferentes concentraciones.

### **Conclusiones:**

Se encontró un método de análisis muy versátil, rápido y reproducible.

En este trabajo se llenaron los objetivos planteados, así como los criterios de validación establecida.

## INDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
MARCO TEORICO	6
MATERIAL Y METODO	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
CONCLUSIONES	42
RECOMENDACIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS	50

# INTRODUCCION

La industria farmacéutica requiere de mayores exigencias en los análisis de control de calidad de medicamentos debido al gran incremento en la introducción de productos relacionados a la salud.

Para dicha actividad es necesario la implementación de un método de análisis cada vez más preciso que proporcione la garantía de estos productos. Por lo tanto, este nuevo método de análisis cuantitativo de Bromhexina en tabletas de 8 mg. Permitirá cumplir con las exigencias y criterios de calidad del producto analizado.

Por lo anteriormente expuesto la validación realizada en este estudio nos demostrara si la capacidad de este nuevo método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas necesarias, que una vez demostradas, conllevaran a las ventajas expuestas. Es importante destacar que la validez de estos métodos es ampliamente discutible. Diferencias entre distintas formas farmacéuticas, tipo y calidad de las materias primas empleadas por cada fabricante, hacen necesario validar la metodología para cada producto en particular, elaborado o semielaborado.

En nuestro país la búsqueda de nuevos métodos obedece a la falta de recursos y equipos sin que estos no descuiden la calidad de resultados obtenidos de ellos. Con este fin la validación de métodos nos permite respaldar científicamente por estudios de laboratorio, la calidad y capacidad de los mismos.



Este estudio permitirá conocer los resultados de la validación realizada a un nuevo método de análisis cuantitativo por HPLC, él demostrará si la capacidad de este nuevo método satisface los requisitos para la aplicación analítica necesaria, el cual fue experimentado y usado por primera vez en el laboratorio de Control de Calidad del Departamento de Análisis de Drogas y Medicamentos de la Escuela de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, UNAN-León.

Es un método que no lo refieren las farmacopeas actuales, ya que estas plantean un sistema de fase móvil diferente para estos fármacos, por lo tanto se propondrá como alternativa practica y eficiente para la industria farmacéutica nacional.

# OBJETIVOS

**OBJETIVO GENERAL:**

Validar un método nuevo para análisis cuantitativo de Bromhexina en tabletas por cromatografía líquida de alta presión.

**OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Establecer las proporciones adecuadas de la fase móvil Metanol/Acetonitrilo/Buffer fosfato para el principio activo en estudio.
- Desarrollar el método de validación, utilizando la fase móvil propuesta.
- Interpretar adecuadamente los datos obtenidos para tener una medida estadística válida.

# MARCO TEORICO

La validación de un proceso es un programa documentado que debe incluir evidencia documentada de la aptitud de los materiales, del funcionamiento y confiabilidad del equipo y de los sistemas de la adecuación de las instalaciones y de la competencia del personal que proporciona procesos seguros y confiables, al mismo tiempo interpretar adecuadamente los datos recogidos en suficiente numero de ensayos para obtener una medida estadística valida.

Durante el desarrollo, la obtención y la comercialización de un producto farmacéutico se realiza todo un conjunto de procesos, los cuales deben llevarse a cabo de acuerdo con las Buenas Practicas de Manufactura (BMP).

Con el propósito de asegurar la calidad del producto obtenido cada uno de los procesos involucrados debe ser valido aplicando las buenas practicas de validación, para el cual se requiere del establecimiento de procedimientos operativos estandarizados (POES) o Protocolos.

El proceso de 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 estadísticamente 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.

Los atributos del método que configuran el proceso de validación y que le confieren las características que lo califican generalmente son: La especificidad, la cantidad mínima detectable o límite de detección, la cantidad cuantificable o límite de cuantificación, la sensibilidad, la precisión, la exactitud, la linealidad y la robustez o solidez del método.

Para evaluar cada uno de los atributos anteriormente mencionados se debe realizar de una forma exigente y rigurosa y deberá de definir de una manera clara y precisa el procedimiento a seguir, el tratamiento estadístico y los criterios de aceptación.

Debido a la variabilidad de las respuestas que se pueden obtener en cada uno de los procedimientos seguidos para la validación del método es necesario hacer una evaluación estadística de los resultados obtenidos el cual dependerá del diseño experimental utilizado. Si se trata del diseño o de la adecuación de un nuevo método de análisis para un producto o para un proceso determinado, la validación se denomina PROSPECTIVA.

## ATRIBUTOS DEL METODO DE ANÁLISIS

### - Cantidad mínima detectable o limite de detección:

Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones de operación establecidas.

### - Cantidad mínima cuantificable o limite de cuantificación:

Es la menor concentración de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión o exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas.

### - Sensibilidad:

Es una propiedad del método para presentar un gran cambio en la respuesta cuando se produce un pequeño cambio en la concentración.

### - Precisión:

Es el método analítico que mide el grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestras homogéneas del producto. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación. La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales.

– **Exactitud:**

Es el grado de concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia, se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la misma.

– **Linearidad:**

Es una habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de las sustancias dentro de un intervalo determinado.

– **Repetibilidad:**

Es el grado de concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones: analista, aparato, laboratorio, tiempo, etc.

– **Reproducibilidad:**

Es el grado de concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes.

– **Especificidad:**

Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a las sustancias de interés y no a otros componentes de la muestra.



– **Criterio:**

Cantidad adicionada contra cantidad recuperada,  $m=1$  pendiente,  $b=0$  intercepto,  $r^2 \geq 0.98$  coeficiente de determinación.

El porcentaje recuperado y el coeficiente de variación deberán de estar de acuerdo a la tabla II.

– **Robustez o solidez:**

Es el grado de reproducibilidad de los resultados obtenidos para las mismas muestras cuando se introducen algunas variaciones al método y es desarrollado por diferentes experimentadores.

La documentación que debe producirse como resultado del diseño del desarrollo y de la validación del método de análisis debe reflejar fielmente todos los datos obtenidos, e incluir información sobre los siguientes puntos:

1. Cobertura del método, indicando en que caso puede ser aplicado.
2. Descripción del fundamento del método, incluyendo las reacciones que tengan lugar.
3. El listado de los reactivos requeridos para el desarrollo del método indicando su calidad, la descripción memorizada para la preparación y todo lo relacionado con la conservación hasta su uso.
4. Listado de los materiales indicando sus especificaciones y su calidad.
5. Listado de la instrumentación requerida para el desarrollo del método indicando las condiciones operacionales de calibración y de mantenimiento.
6. Preparación de los patrones y de las muestras indicando detalladamente el procedimiento para obtener las soluciones y las condiciones para su conservación hasta su uso.

7. Lavado de los materiales, se debe detallar minuciosamente ante todo el proceso, indicando los detergentes, los líquidos empleados para el lavado, el sistema de secado y el mantenimiento hasta su uso.
8. Cálculos. Describir todo el detalle del procedimiento, seguido por los cálculos.
9. Análisis estadístico de los resultados obtenidos.
10. Información grafica. Debe incluirse todos los sistemas gráficos obtenidos como espectros, cromatogramas, curvas de calibración, otros.
11. Documentación sobre la validación. En la documentación relacionada con la validación del método respecto a todos sus atributos se describe minuciosamente todo el procedimiento operacional que se sigue para tal fin. La documentación debe incluir todo lo relacionado con el diseño para la validación de cada uno de los atributos, los cálculos y toda la información grafica.
12. Bibliografía, deberá ser completa y actualizada.

### **ELEMENTOS DE DATOS REQUERIDOS PARA LA VALIDACIÓN:**

Los procedimientos de ensayo varían desde determinaciones analíticas de alta exactitud hasta la evaluación subjetiva de atributos, considerando esta variedad de ensayos lógica.

Las categorías de ensayo más comunes para los cuales debe requerirse datos de validación, son las siguientes:

**Categoría I:** Métodos analíticos para la cuantificación de componentes principales de sustancias medicamentosas a granel o principios activos en productos farmacéuticos determinados.

**Categoría II:** Métodos analíticos para la determinación de impurezas en sustancias medicamentosas a granel o compuestos de degradación o productos farmacéuticos terminados. Estos métodos incluyen las valoraciones y las pruebas de límites.

**Categoría III:** Métodos analíticos para la determinación de las características de ejecución: Disolución, liberación de medicamentos.

Para cada categoría de ensayo se necesita información analítica diferente. En la tabla I se enlistan los elementos de datos que se requieren normalmente para cada una de las categorías de ensayo.

La validez de un método analítico puede verificarse mediante estudios de laboratorio. Por lo tanto, la documentación de la terminación exitosa de tales estudios es un requerimiento básico para determinar si un método analítico es adecuado para sus aplicaciones destinadas, cualquier propuesta de procedimientos analíticos nuevos o revisados debe acompañarse de la documentación apropiada.

TABLA I

## ELEMENTOS DE DATOS REQUERIDOS PARA LA VALIDACIÓN DE ENSAYOS

PARÁMETROS ANALÍTICOS DE EJECUCION	CATEGORÍA I	CATEGORÍA II	PRUEBA DE LIMITE	CATEGORÍA III
EXACTITUD	SI	SI	X	X
PRECISION	SI	SI	-	SI
ESPECIFICIDAD	SI	SI	NO	X
LIMITE DE DETECCIÓN	NO	NO	SI	X
LIMITE DE CUANTIFICACION	NO	SI	NO	X
LINEARIDAD	SI	SI	NO	X
RANGO	SI	SI	X	-
FORTALEZA	SI	SI	SI	SI

TABLA II

METODO	PROMEDIO DE RECOBRO	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
CROMATOGRAFICOS	98 - 108%	< 2%
TITRIMETRICOS	98 - 102%	< 2%
QUÍMICOS Y ESPECTROFOTOMETRICOS	97 - 103%	< 3%
MICROBIOLOGICOS	97 - 105%	5%

Desde los años de 1970, la técnica de HPLC se ha desarrollado rápidamente y por su amplia potencia el día de hoy es uno de los métodos analíticos más importantes y utilizados.

La Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) utiliza la partición entre una fase móvil y una fase estacionaria para obtener una separación entre los componentes de la muestra, siendo esta especial por la manera de usar una bomba para producir un flujo en las columnas delgadas empaquetadas con perlas pequeñas de fases estacionarias y el uso de un detector sensible con celdas pequeñas para producir y detectar una separación superior. Para obtener un tiempo corto en la separación se usa un flujo relativamente rápido, este produce una alta presión en el sistema, la cual es una limitación del sistema y no la causa para la buena separación.

**Razones por las cuales se utiliza HPLC son las siguientes:**

- ❖ Gran variedad de configuración aparativa.
- ❖ Gran cantidad de diferentes sistemas de fases estacionarias.
- ❖ Gran número de fases móviles y modificaciones de ellas.
- ❖ Amplio campo de uso.

**Ventajas frente a la Cromatografía de Gases:**

- ❖ Gran número de variables para manipular la separación.
- ❖ Se puede utilizar sustancias polares y no volátiles.

**Ventajas frente a la Cromatografía Líquida:**

- ❖ Mejor resolución y separación.
- ❖ Tiempo de análisis mucho más corto.
- ❖ Sensibilidad del análisis hasta  $10^{-10}$  g.

**Aplicaciones de HPLC:**

- ❖ Para sustancias solubles en un solvente o una mezcla de solventes.
- ❖ Sustancias no solubles.
- ❖ Sustancias muy polares y/o iónicas.
- ❖ Sustancias de alto peso molecular.
- ❖ Sustancias termolábiles.

**Limitaciones:**

- Solubilidad de la sustancia (sustancia poco o no soluble)
- Detectabilidad de la sustancia.

**Campos de uso del HPLC:**

- Control de pureza y calidad de producto
- Análisis de medicamento
- Análisis de sustancias efectivas de matrices biológicas
- Análisis de residuo de plaguicidas
- Análisis de sustancias tóxicas para el medio ambiente
- Análisis de polímeros sintéticos
- Separación y limpieza de biopolímeros
- Aislamiento de productos sensibles (HPLC preparativa)

La fase móvil tiene diferentes funciones entre las cuales podemos mencionar:

- La muestra debe ser soluble en la fase estacionaria
- Inmiscibilidad con la fase estacionaria
- Debe existir un equilibrio de distribución entre las dos fases
- Se debe de facilitar la salida de la muestra de la fase estacionaria.

**Criterios de selección del solvente:**

- Solubilidad de la muestra
- Reactividad baja (inerte)
- Miscibilidad con otros solventes
- Viscosidad
- Índice de refracción (para el detector RI)
- Transparencia en UV-Visible

Al seleccionar un solvente debemos de tomar en cuenta la pureza con las siguientes características:

- Calidad de los solventes (HPLC)
- Impurezas pueden influir la polaridad y cambiar así la selectividad y la fuerza de elusión del solvente
- Impurezas involátiles de la preparación
- Partículas mecánicas (utilizar filtro 1 - 10 :m)
- Ácidos o bases concentradas pueden enturbiar la celda del detector
- Corrosión del equipo (al introducirse partículas metálicas en el sistema)
- Transparencia de los solventes en UV-Visible.

PARAMETRO	GAS	LIQUIDO	UNIDADES
DENSIDAD	0.1 - 2*10	0.5 - 2	g*cm
	0.1 - 2	0.5 - 2*10	Kg*m
VISCOSIDAD	0.8 - 2*10	0.1 - 100*10	P=g*cm*s (P=Poise)
	0.8 - 2*10	0.1 - 100*10	N*m*s=Pas (Pas=Pascal)
COMPRESIBILIDAD	0.5	0.8 - 1.5*10	Bar
	0.5*10	0.8 - 1.5*10	Par
CONDUCTIVIDAD TERMICA	1 - 20*10	1 - 3*10	W*m*°C (W=Watt)
CAPACIDAD TERMICA POR VOLUMEN	0.2 - 0.4*10	0.5 - 1	Cal*cm*°C
	0.8 - 1.7*10	2 - 4 10	J*m*k J=Joule
COEFICIENTE CÚBICO DE DILATACIÓN	3 * 10	0.1 - 1.5*10	°C
COEFICIENTE DE DIFUSIÓN	0.06 - 1.6	0.5 - 5 * 10	Cm*s
CONSTANTE DIELECTRICA RELATIVA	1.001 - 1.001	1 - 80	1



**Miscibilidad de solventes:**

La gran mayoría de aplicaciones en HPLC son RP-HPLC que requieren solventes agua solubles (agua, acetonitrilo, metanol) de alta pureza, para evitar picos erróneos.

Además es importante que cada sistema de detección requiera un solvente transparente. En UV-Visible existen detectores y solventes que funcionan isocráticamente presentando picos perfectos al correrse en gradiente en la misma longitud de onda.

El uso de un inyector hace posible la repetición exacta de cada inyección. El HPLC trabaja a temperatura ambiente y por eso sirve para compuestos inestables. El más común es un sistema sencillo de 6 caminos de los cuales siempre una pareja está conectada.

Columnas: El material para la fase estacionaria consiste en partículas pequeñas esféricas. Las columnas analíticas son normales de acero o de vidrio con longitudes de 250, 125, 100, 60 mm y un diámetro interno de 2, 3, 4 mm. Columnas preparativas pueden tener longitudes hasta de 1 metro con diámetro interno de 50 mm. Para el uso industrial las medidas pueden ser mayores.

**Tipos de cromatografía:**

Entre los tipos de cromatografía existen:

- Cromatografía de Reparto
- Cromatografía de Absorción
- Cromatografía de Intercambio Iónico
- Cromatografía de Permeación sobre gel
- Cromatografía sobre Fase Químicamente ligada

El caso que a nosotros nos compete después de haber hecho mención de los tipos de cromatografía nos concentraremos en la cromatografía de reparto sobre Fases Químicamente ligadas.

### **Cromatografía de Reparto sobre Fase Químicamente Ligadas:**

Al poseer un radical orgánico, unido químicamente a la superficie de la sílice, puede ya directamente trabajarse en Cromatografía de Reparto poseyendo un lecho estable y homogéneo que garantiza un grado muy elevado de reproducibilidad.

Para que exista posibilidad de reparto eficiente, es necesario que exista una diferencia de polaridad entre la fase móvil (eluyente) y la fase estacionaria (químicamente ligada). Cuando mayor sea la diferencia de polaridad entre ambos mayor será la constante de capacidad (retención) obtenidas.

El orden de elección de los solutos será directamente proporcional a su polaridad, los primeros en eluirse serán los menos polares y los mas retenidos.

En caso de utilizar fases apolares, hidrocarburos unidos a la sílice, deberemos de utilizar disolventes polares (agua es el más polar transparente y barato) para poseer la máxima retención. Los efectos de modificación y orden de eluccion se emplean justamente en orden inverso al caso anterior. Por ello se distingue este caso llamándolo "Reparto en Fases Reversas" o invertidas.

Pueden resumirse las características de elección más importante en la tabla siguiente:

	REPARTO	FASE REVERSA
Polaridad Fase	Alta	Baja
Polaridad Eluente	Baja	Alta
Orden de Elusión	Menos más polar	Más menos polar
Aumento de polaridad del Eluente.	Reduce Tr	Aumenta Tr

Otra diferencia esencial consiste en que las fases polares (ciano amino) utilizadas en cromatografía de reparto en fase normal poseen grupos reactivos, por lo que debe tenerse en cuenta esta posibilidad. Así por ejemplo la columna AMINO posee grupos alquil (Amina primaria, que es capaz de reaccionar con grupos carbonilos, aldehídos, cetonas) para formar bases de Schiff, con lo que se modifica de forma irreversible la columna.

Para escoger el modo normal o reversa de participación que va a utilizarse, debe de considerarse las solubilidad de los solutos en el eluente, así como su polaridad relativa (capacidad de interaccionar con la fase estacionaria).

#### **FASE NORMAL:**

La cromatografía de reparto utiliza fases polares y disolventes apolares, escogiendo al Hexano, dado que reúne las características de mínima polaridad accesible, costo moderado y transparente al UV en todo el rango. La polaridad del eluente se modifica por adición de un porcentaje tanto menor cuanto mayor sea la diferencia de polaridad entre UV accesibilidad y miscibilidad, reduciéndolo a lo siguiente:

	E	CUT OFF	VISCOSIDAD				
Hexano	0	190		0	7.3	0	0
Ciclohexano	0.04	210	1.00	0	8.2	0	0
Cloroformo	0.40	245	0.57	3	8.1	0.5	3
Tetrahidrofurano	0.45	220		4	7.6	3	0
Dioxano	0.56	220	1.54	4	7.8	3	0
Isopropanol	0.82	210	2.30	2.5	7.2	4	4

Como disolvente polar, se utilizara agua, dado que es el disolvente más polar y el más cómodo y fácil de utilizar siendo así mismo transparente en toda la gama UV-VIS. Únicamente presenta la banda Raman en fluorescente. Con todo, deberá de ser agua exenta de impurezas orgánicas e inorgánicas y sin sustancias en suspensión.

Por ello se prefiere agua desionizada y destilada sobre vidrios, filtrada antes de su utilización a través de un filtro MILLIPORE (o similar) de 0.45 micras, con tal de eliminar no solo las sustancias que la impurifican sino también las partículas en suspensión, bacterias, hongos.

Como modificadores de la polaridad del disolvente se utilizan disolventes orgánicos polares, miscibles a todas proporciones con el agua. Se utilizan normalmente en razón a su polaridad, transparencia y viscosidad.

	E	VISCOSIDAD	UV CUT OFF
Agua	Muy grande	1.00	190
Metanol	0.95	0.60	205
Acetonitrilo	0.65	0.37	190

Casi exclusivamente, en la mayoría de publicaciones se utiliza agua/acetonitrilo, dado que este presenta unas características de selectividad en principios superiores al par agua/metanol, pero hay razones económicas importantes para utilizar este último. Escogiéndose uno a otro según la distinta interacción que pueden tener frente a los distintos solutos.

La mayor dificultad que puede presentarse al efectuar cromatografía de reparto, estriba en la posibilidad de obtener picos asimétricos (o picos con cola) debido a la existencia simultánea de equilibrios de absorción de los solutos sobre el soporte descubierto, no funcionalizado.

De ahí la utilización frecuente del Isopropanol como modificador de la polaridad del eluyente, dado que por su momento dipolar elevado ( 1.63 ebyes) se absorberá preferentemente sobre la sílice. Reduciendo la simetría de los picos correspondientes a sustancias polares.

#### **FASE REVERSA:**

Cromatografía de reparto utilizando fases químicamente ligadas apolares y disolventes polares. Es obligado a utilizar ACN, cuando se trabaja a longitudes de onda de obtención inferiores a 205 nm, en donde es muy importante la transparencia obtenida con Acetonitrilo.

En el caso de efectuar la elusión en el modo de "Reparto e Fase Reversa" no pueden coexistir fenómenos de absorción por parte de solutos polares, como es el caso anterior ya que el agua, más polar y orientable, se absorberá preferentemente sobre grupos silanol, pero existe la posibilidad de intercambio iónico sobre estos mismos grupos activos.

Coexistirán, pues los fenómenos de reparto e intercambio iónico para las sustancias que son capaces de ionizarse en medio acuoso, en cuyo caso, originaran picos asimétricos (con cola).

Cuando los solutos son neutros, no iónicos, deberán obtenerse picos simétricos para cada uno de los solutos. La máxima resolución se obtiene con el eluyente mas polar (100% agua) mientras que la adición de un disolvente miscible orgánico (Metanol, Acetonitrilo) acorta rápido el tiempo de retención, disminuyendo la separación.

Es usual el trabajo a temperaturas de columnas comprendidas entre 50 y 65° C dados los puntos de ebullición de los solventes y su polaridad (que facilita la solubilidad de aire). El trabajo a temperaturas elevadas es normalmente conveniente, dado el aumento de eficacia y disminución en tiempo de análisis que lo caracteriza.

## ELUCIÓN DE SUSTANCIAS IONICAS EN FASE REVERSA

Cuando el soluto a analizar posee una cierta capacidad de ionizarse en medio acuoso.



Al intentar su elusión en el modo de reparto en fase reversa, obtendremos un pico asimétrico con cola (en algunos casos incluso duplicación del pico o alteración del cromatograma a cada nueva inyección). Debido a la competencia de equilibrio de reparto o intercambio iónico existente.



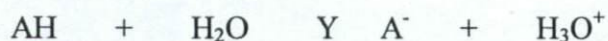
AB se eluirá según las leyes de reparto, mientras  $A^-$  y  $B^+$  sufrirán intercambios iónicos sobre la superficie de sílice descubierta. De no contener la fase móvil iones que puedan competir se tratará evidentemente de un proceso de intercambio irreversible lo que proporcionará picos totalmente asimétricos.

Evidentemente deberemos de utilizar aquellas condiciones de elusión que proporcionen la máxima simetría de los picos, para garantizar una constancia del proceso de separación tanto a nivel cualitativo como cuantitativo.

En caso de que A y B sean muy poco liposolubles la situación tenderá hacia el intercambio irreversible de iones. Únicamente en el caso de utilizar una solución tamponada como fase móvil, la concentración de electrolitos existentes posibilita la elusión de los iones  $A^-$  y  $B^+$  a unos valores de  $K'$  que dependerá básicamente del valor pH de dicha fase móvil.

Al tamponar la solución el equilibrio anterior no dependerá de factores sino que puede desplazarse a voluntad y por consiguiente mantenerse o modificarse el valor de  $K'$  obtenido. Dado que el equilibrio de ionización del soluto es muchísimo más rápido que el equilibrio de reparto entre fases cromatográficas, el tiempo de retención del compuesto puede expresarse en forma bastante aproximada.

Supongamos un ácido débil que se disocia:



En una solución tamponada con el ácido débil BH y sus bases conjugadas B<sup>-</sup> a mayor concentración local que la que puede existir en un soluto AH.



El tampón proporciona una concentración de HO<sup>+</sup> que depende únicamente de la relación.

$$r = \frac{[\text{B}^-]}{[\text{BH}]}$$

Es decir que el  $\log = \text{pK BH} - \text{pH}$  ó  $\text{pH} = \log + \text{pK BH}$

Este valor de pH es el que determinara la relación AH/A<sup>-</sup> en el caso del soluto.

Si la fase móvil acuosa posee un pH inferior (más ácido) al pKa de los solutos ácidos, todos ellos encontraran en su forma no disociada, por lo que podrán eluirse como moléculas proporcionando picos simétricos.

Dado que un pH 2 podremos observar fenómenos de hidrólisis de los enlaces químicos (éter) entre la fase estacionaria y la sílice, este valor de pH 0 - 2.5 será el límite de utilización de las columnas de fase químicamente ligadas. Por consiguiente, podrán analizarse todos aquellos solutos protonizables que tengan un pK de 2 o superior.



De la misma forma, eluyendo a pH básico un ácido débil se encontrara en su forma totalmente dissociada y será mucho más hidrosoluble por lo tanto poseerá un tiempo de retención sensiblemente inferior.

Si llamamos  $Tr_{AH}$  al tiempo de retención de la forma más iónica y  $Tr_{A^-}$  al de la forma iónica de dicho ácido débil, según S.N. Deming & Turoff (Anal. Chem. 50, 547, 1978) consigue describir el tiempo de retención de este ácido débil a cualquier pH intermedio a través de la expresión:

$$tr = \frac{\frac{tr_{AM}}{1} + \frac{tr_{A^-}}{K \cdot r}}{1 + \frac{1}{K \cdot r}}$$

En donde  $r$  es la relación de concentraciones acido/sal conjugadas del tampón eluente y  $K$  la relación de las constantes de reparto del soluto y del tampón entre ambas fases estacionarias y móviles.

$$K = \frac{K_{HA}}{K_{HB}}$$

Dado que en valores extremos (ácido y básico) de pH predominan las formas no iónicas respectivamente, es posible conocer los valores de  $TrAH$  y  $TrA^-$ . Utilizando un tercer pH intermedio, puede despejarse el valor de "K" con lo cual quedan ya definidos los términos de la ecuación y permite el calculo de Tr a cualquier otro pH.

La situación, para el caso de moléculas básicas:



El limite de pH al cual se puede trabajar la sílice es de 7.5 a 8, ya que su solubilidad es muy elevada y por consiguiente puede haber un riesgo de destrucción de la columna.

Únicamente será posible analizar por este método solutos básicos, cuyo pKa sea igual o inferior a 8, para los cuales se impide eficazmente su ionización por desplazamiento total del equilibrio de ion común.

Existe la posibilidad aunque poco utilizada de usar una precolumna de silica irregular, colocada antes del inyector.

El efecto perseguido estriba en la saturación del disolvente con silica procedente de la precolumna, con lo que el ataque a la columna analítica es mínima. De esta forma puede llegarse a trabajar a un pH= 10, de forma continua y estable.

En caso de ácidos débiles, un pH=3 proporciona muy buenos resultados, como inhibidor de la ionización. Las bases débiles y la mayoría de productos farmacéuticos, requieren un pH de 7 para eluirse correctamente.

En el caso de muestras complejas, con ácidos y bases débiles conjuntamente, puede ser adecuada y suficiente la utilización de un eluente a  $\text{pH} = 4 - 5$  que quizás impida la ionización de la mayor parte de compuestos. Pero, en general deberá escogerse uno de los dos extremos de  $\text{pH}$ .

La concentración de electrolitos no influirá por lo general sobre el tiempo de retención por lo que soluciones muy diluidas del orden de 0.03 M son las más adecuadas.

## LINEARIDAD DEL METODO DE ANÁLISIS HPLC UTILIZANDO TABLETAS DE BROMHEXINA.

Se determina a partir de placebos adicionados de cuando menos tres diferentes cantidades de la sustancia de interés, cada uno de manera independiente, haciendo los análisis por triplicado.

Las concentraciones de los placebos cargados deben de ser las adecuadas para que utilizando el método propuesto, las concentraciones finales a analizar estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema, incluyendo siempre el 100%.

Pendiente	$m = 1.0008$
Intercepto	$b = - 0.423$
Coefficiente de determinación	$r^2 = 1$
Coefficiente de correlación	$r = 1$
Porcentaje recuperados	98 - 102%
Coefficiente de variación	CV= 0.1433

### Linealidad del método:

Cantidad adicionada                      -                      Cantidad recuperada

#### 1. Tabular los resultados con base al siguiente formato:

Cantidad adicionada (x)	Cantidad recuperada (y)
x11, x12 ..., x1n	y11, y12 ..., y1n
x21, x22 ..., x2n	y21, y22 ..., y2n
xt1, xt2 ..., xtn	yt1, yt2 ..., ytn

$t$  = numero de cantidades adicionadas.

$n$  = numero de replicas (cantidades recuperadas) por cada cantidad adicionada.

Para proceder a los siguientes cálculos, es necesario que numero de cantidades recuperadas (replicas) de cada cantidad adicionada, sean equivalentes.

## 2. Cálculos preliminares:

$$\text{Suma } x = x_{11} + x_{12} + \dots + x_{1n} + x_{21} + x_{22} + \dots + x_{2n} + \dots + x_{t1} + x_{t2} + \dots + x_{tn}$$

$$\text{Suma } y = y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n} + y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n} + \dots + y_{t1} + y_{t2} + \dots + y_{tn}$$

$$\text{Suma } x^2 = x_{11}^2 + x_{12}^2 + \dots + x_{1n}^2 + x_{21}^2 + x_{22}^2 + \dots + x_{2n}^2 + \dots + x_{t1}^2 + x_{t2}^2 + \dots + x_{tn}^2$$

$$\text{Suma } y^2 = y_{11}^2 + y_{12}^2 + \dots + y_{1n}^2 + y_{21}^2 + y_{22}^2 + \dots + y_{2n}^2 + \dots + y_{t1}^2 + y_{t2}^2 + \dots + y_{tn}^2$$

$$\begin{aligned} \text{Suma } xy = & x_{11}y_{11} + x_{12}y_{12} + \dots + x_{1n}y_{1n} + x_{21}y_{21} + x_{22}y_{22} + \dots + x_{2n}y_{2n} + \dots + x_{t1}y_{t1} + x_{t2}y_{t2} + \dots \\ & + x_{tn}y_{tn} \end{aligned}$$

$$\bar{R} = \frac{(\sum R)}{N}$$

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

### 3. Cálculos finales:

$$m = \frac{\sum Y}{\sum X} = \frac{\sum XY}{(\sum X)(\sum Y)}$$

$$b = \frac{\sum Y}{\sum X} = m \sum X$$

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

### PORCIENTO RECUPERADO:

Calcular el porcentaje recuperado (R) para cada cantidad recuperada con la siguiente ecuación:

$$R = \left( \frac{Y}{X} \right) * 100$$

1) Tabular los resultados: R1, R2, R3, ... Rn

2) Cálculos preliminares:  $\sum R = R1, R2, R3, \dots Rn$

$$\sum R^2 = R1, R2, R3, \dots Rn$$

$$R = \sum R / N$$

### CALCULOS FINALES:

$$CV = \frac{SD}{\bar{R}} * 100$$

## LINEARIDAD DEL SISTEMA

Se determina una curva de calibración Concentración vs. Respuesta Medida utilizando cuanto menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón haciendo análisis cuando menos por duplicado para cada dilución, estas diluciones deben de estar comprendidas dentro de los ámbitos estimados de trabajo con un exceso de la menos 50% sobre el límite superior y un defecto de 50% debajo del límite inferior.

El intervalo entre las concentraciones a analizar dependerá del propósito del método para control de calidad y del seguimiento de estabilidad de un fármaco en una forma farmacéutica, deberá de estar incluida la concentración seleccionada como 100%.

Se considera 100% a la concentración de la muestra en la solución final a analizar que proporciona una respuesta adecuada dependiendo del método de cuantificación.

La linealidad de un método analítico se refiere a la proporcionalidad entre la concentración del analito y su respuesta.

Este paso de la validación es necesario si se va a trabajar con un solo standard en las determinaciones de rutina, aunque pueden aceptarse métodos no lineales, si se opera con estándares múltiples cada vez. Además, conjuntamente se determina el rango lineal, es decir, el intervalo comprendido entre la concentración mínima y máxima de analito para el cual el método ha sido probado y dentro del cual se puede efectuar el dosage por interpolación en una curva standard.

Estas soluciones se inyectan por duplicado para determinar la curva de regresión  $Y=bx+a$  sobre los puntos individuales sin promediar por el método de los cuadrados mínimos y posteriormente se grafica para su documentación.

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

$$a = \frac{\sum Y - b \sum X}{n}$$

Siendo  $a$  y  $b$  los estimadores de las ordenadas al origen y pendientes respectivamente,  $n$  el numero de mediciones,  $X_1$  es la concentración,  $Y_1$  el valor medido en el ensayo. En muchos casos, es interesante comparar los resultados de la recta de regresión obtenida sobre el analito puro, con la correspondiente a analito + matriz.

La no correspondencia de las rectas indica problemas por efecto de matriz y esta relacionada con la exactitud del método en cuestión. Estos efectos de matriz pueden clasificarse de acuerdo a su naturaleza en aditivos y multiplicativos. Los aditivos se refieren a un desplazamiento positivo del cero en presencia de la matriz y los multiplicativos a un cambio de la pendiente.



Independientemente de la apariencia de la recta, resulta conveniente evaluar los estimadores de regresión en un intervalo de confianza dado (por ejemplo,  $p=0.05$ ):

- Del coeficiente de regresión lineal ( $r$ ): se determina para evaluar el ajuste al modelo lineal propuesto.

$$Y = bx + a$$

- De la pendiente ( $b$ ): se determina como parámetro indicativo de la sensibilidad del método o para evaluar la correlación de diferentes métodos.
- De la ordenada al origen ( $a$ ): se determina para evaluar la proporcionalidad de la función analítica, es decir, que la recta pase por el origen y que cualquier desviación puede adjudicarse únicamente a un error aleatorio.

Así:

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

El valor  $r = 1$  indica una recta perfectamente lineal,  $r = -1$  una recta perfectamente lineal de pendiente negativa y  $r = 0$  la no correlación entre  $X$  e  $Y$ . En la práctica,  $r$  es generalmente mayor de 0.99 y los valores menores de 0.90 son raros.

# MATERIAL Y METODO

Tipo de estudio: Prospectivo de corte transversal

Área de estudio: Este estudio se realizó en los laboratorios de Ciencias Químicas, carrera de Farmacia. En el Departamento de Análisis de Drogas, Medicamentos y Tóxicos, en el Complejo Docente de la Salud UNAN-León.

Universo: Tabletas de Bromhexina de 8 mg. de Laboratorios Marcopharma S.A. de C.V. El Salvador.

Muestra: 50 tabletas de Bromhexina de 8 mg/tableta.

Método: Método tradicional estadístico por regresión lineal haciendo énfasis en:

- Linearidad del Método
- Linearidad del Sistema
- Exactitud y Repetibilidad al 100%

Condiciones Cromatográficas:

- Equipo HPLC - bomba Isocrática
- Fase móvil - Metanol/Acetonitrilo/Buffer de fosfato (41:41:18)
- Fase estacionaria: Columna ZORBAX C-8 4.6x150mm.
- Solvente: Fase móvil
- Longitud de onda: 254nm
- Flujo: 1 ml/min

**Preparación del patrón:**

- 50 mg de patrón Bromhexina clorhidrato
- Disolver en 25 ml de fase móvil
- Agitar
- Tomar alícuotas de 0.25 ml y 0.75 ml y transferir a balones de 25 ml y aforar con fase móvil. Se obtiene concentraciones de 20, 40 y 60 µg/ml de patrón.

**Preparación de la muestra:**

- Pesar 20 tabletas de Bromhexina 8 mg individualmente y sacar el peso promedio.
- Morterizar 10 tabletas y pesar una cantidad de polvo equivalente a 25 mg de principio activo. Trasladar a un balón de 50 ml.
- Agitar Filtrar
- Del filtrado tomar alícuotas de 1, 2 y 3 ml y llevar a balones de 25 ml, obteniendo concentraciones de 20, 40 y 60 µg/ml de la muestra.

**Preparación de fase móvil:**

- Preparar 400 ml de Buffer de fosfato 0.001 M pH 7
- Mezclar 410 ml de acetonitrilo grado HPLC con 410 ml de Metanol grado HPLC mas 180 ml de Buffer pH 7
- Filtrar y degasificar

**Material y equipo utilizado:**

- Equipo HPLC bomba Isocratica
- Kit de filtración para solventes HPLC
- Balones de 25 y 50 ml
- Filtro Whatman No. 2
- Pipetas aforadas de 1, 2 y 3 ml
- Pipeta graduada de 1 ml
- Probetas de 1000 ml
- Beaker de 1000 ml
- Balanza analítica
- Espátula
- Mortero y pilón
- PH-metro

**Reactivos:**

- Agua destilada
- Metanol grado HPLC
- Acetonitrilo grado HPLC
- Fosfato de potasio monobásico
- Fosfato de potasio Dibasico
- Bromhexina clorhidrato patrón

# RESULTADOS Y DISCUSION

Las condiciones cromatograficas para la validación del Método de análisis de Bromhexina en tabletas fueron ajustadas para los siguientes parámetros: Concentración de las soluciones, Tiempo de retención y composición de la fase móvil.

Después que fueron corridos los análisis y escogidas las condiciones indicadas anteriormente, se obtuvo una buena resolución y un tiempo corto de análisis.

Con respecto a la repetibilidad de la gama de concentraciones en el anexo cuadro # 2 se muestra en estos resultados que existe una excelente correlación entre las respuestas obtenidas y las concentraciones ensayadas.

En el cuadro 1 puede observarse la linealidad de regresión para las diferentes gamma de concentraciones donde indica que se obtuvo un coeficiente de correlación  $r=1$ ,  $b=0$ ;  $m=1$ ,  $r^2 > 0.98$  y  $CV < 2\%$ .

En el anexo III, IV y V, pueden observarse los cromatogramas obtenidos para las diferentes concentraciones ensayadas.

# CONCLUSIONES



No existiendo en ninguna de las Farmacopeas Internacionales Oficiales un método de análisis para la Bromhexina clorhidrato en tabletas, se puede decir que se desarrolló un método de análisis rápido, altamente reproducible y con elevada sensibilidad, para una gama de concentraciones comprendida entre 20 :g/ml y 60 :g/ml.

Por lo tanto, se puede decir que los datos obtenidos a través de la linealidad del método y linealidad del sistema, exactitud, precisión, desviación standard , y desviación standard relativa utilizados para la validación de este método se encuentran dentro de los parámetros para HPLC , cumpliendo así con los criterios establecidos.

En este trabajo se cumplieron los objetivos establecidos al inicio de este trabajo como es La validación de un método de cuantificación para la bromhexina en tabletas , se definió las condiciones de ensayo que proporciona un tiempo corto de análisis y una buena resolución.

# RECOMENDACIONES

Tomando en cuenta que la Bromhexina clorhidrato, además de su presentación en tabletas, también se utiliza en forma de jarabe y presentación para uso intravenoso e intramuscular, se recomienda usar este método de análisis para la cuantificación de este principio activo en dichas presentaciones no sin antes darle tratamiento a la muestra a analizar.

# BIBLIOGRAFIA

- 1 - Academie Nationale de Pharmacie  
Annales Pharmaceutique Francaises, 1992  
Tome 50/Nº3  
Masson Editeur  
Pag. Nº 176.
- 2.- Bentejac, R.  
Bonnes Pratiques de validation.  
Recommandations de la F.I.P.  
Février, 1982.
- 3.- Berry, I.R.  
Practical process validation of pharmaceutical Products.  
Sept. 1986.
- 4.- British Pharmacopeia, 1993  
Volume II.  
Printed in the United Kingdom for HMSO.  
Pag. Nº 1042
- 5.- Clarke's Isolation and Identification of Drugs  
Second Edition.  
The Pharmaceutical Press, 1986  
Pag. Nº 533, 563, 849, 911.
- 6.- Debets, H.J.G.  
Optimization Methods for HPLC.  
Journal of Liquid Chromatography 8(15), 1985  
Pag. 2725, 2780.
- 7.- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.  
6ta. Edición.  
Secretaría de Salud, México, 1994.  
Pag. Nº 657, 1326.
- 8.- Ferreira, Domingos C.; Morgado Rui e Bahia. M. Fernanda.  
Validacao de un Método para Identificaoe e Doseamento de Ambroxol pro Cromatografia de HPLC.  
Revista, Portuguesa de Farmacia, Vol. XLVII, Nº 4 aut/Nov/Dez, 1997.  
Pag. Nº 169-172.

- 9.- F.D.A.  
Guideline on general principles of process validation  
March, 1983.
- 10.- Goewie, Cherie E.  
Optimization of mobile Phase Composition in Liquid Chromatography -  
A survey of most commonly used chemometric procedures.  
Journal of Liquid Chromatography, 9 (7), 1986.  
Pag. N° 1434- 1461.
- 11.- Martindale The Extra Pharmacopoeia  
Twenty-ninth Edition.  
The Pharmaceutical Press, 1986.  
Pag. N° 12, 14, 32, 33, 37, 38, 423.
- 12.- Process validation concepts for drug products.  
PMA'S Validation, Advisory Committee.  
Sept. 1985.
- 13.- Remington's Pharmaceutical Sciences.  
18th. Edition.  
Mack Publishing Co., 1990.  
Pag. 1119.
- 14.- Sharp, J.  
Why validation is necessary in Good Pharmaceutical  
Manufacturing Practice.  
Mayo, 1983.
- 15.- The Merck Index  
Eleventh Edition  
Merck Co., Inc, 1989.  
Pag. N° 7476, 4054, 3358, 3071, 40.
- 16.- The Pharmaceutical CODEX  
Principles and Practice of Pharmaceutics  
Twelfth Edition  
The Pharmaceutical Press, 1994.  
Pag 835, 836, 987, 988, 1010.

- 17.- USP Dictionary of USAN and International Drug Names  
United States Pharmacopeial Convention, Inc. 1995.  
Pag. N° 18, 213, 227, 290, 537.
- 18.- USP 23 NF 18  
The United States Pharmacopeia. The National Formulary.  
Pag. 19, 1235.

# ANEXOS



## CUADRO 1 LINEARIDAD DEL METODO

Producto: Bromehexina

Forma: Tabletas

Método ☐bservaci: HPLC

Procedimiento: Diez ☐bservación<sup>es</sup>, tres muestras.

### LINEARIDAD

$$r = 1$$

$$r^2 = 1$$

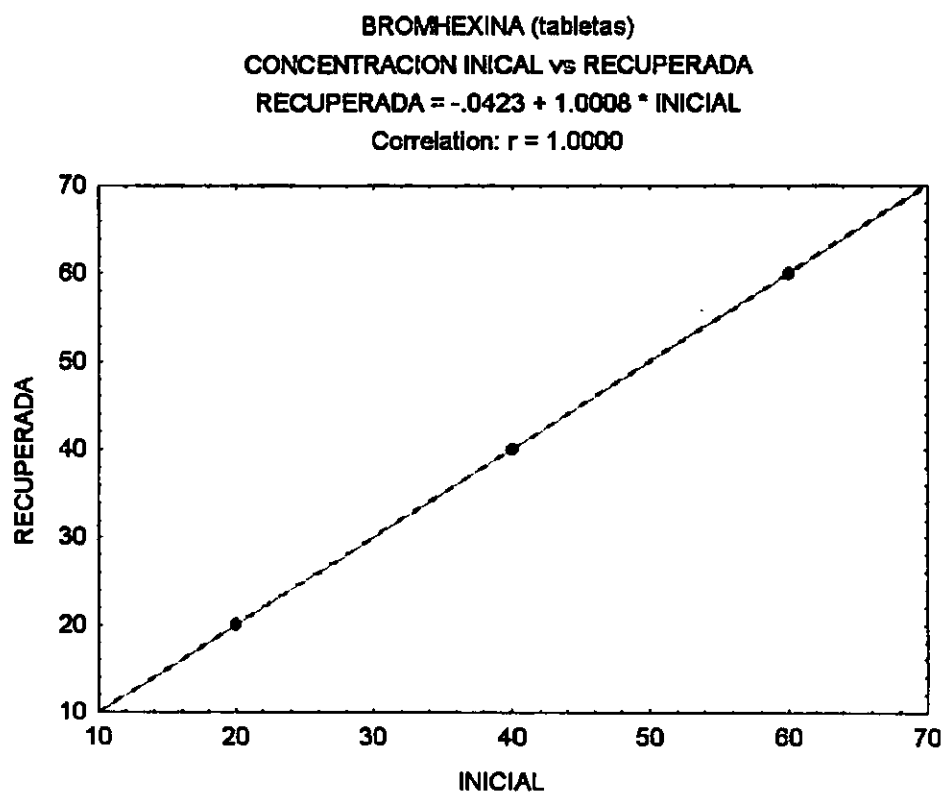
$$b = -0.423$$

$$m = 1.0008$$

$$CV = 0.1433$$

$$\text{Observación de regresión: } Y = -0.423 + 1.0008 * X$$

$$\text{Observación: } b \approx 0, m \approx 1, r^2 > 0.98 \text{ y } CV < 2 \%$$



## CUADRO 2

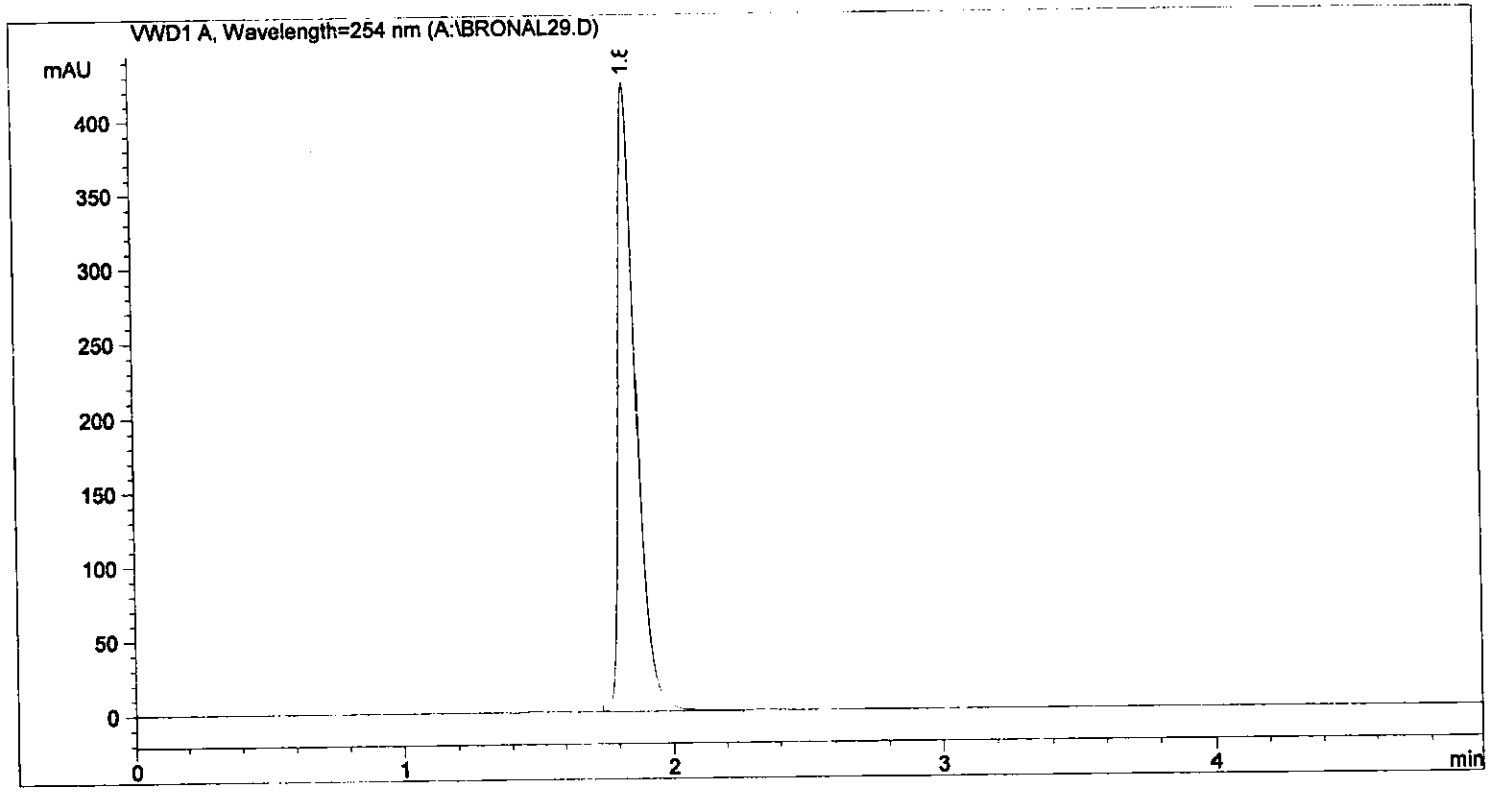
### LINEARIDAD DEL METODO: DIEZ DETERMINACIONES, TRES MUESTRAS (BROMHEXINA)

DETERMINACIONES	CONCENTRACION		PORCENTAJE
	INICIAL	RECUPERADA	RECUPERADO
1	20	19,94	99,70
2	20	19,93	99,65
3	20	19,94	99,70
4	20	19,96	99,80
5	20	20,06	100,30
6	20	19,97	99,85
7	20	19,95	99,75
8	20	19,98	99,90
9	20	19,94	99,70
10	20	19,96	99,80
11	40	40,03	100,08
12	40	40,04	100,10
13	40	40	100,00
14	40	39,99	99,98
15	40	40,03	100,08
16	40	40,02	100,05
17	40	40	100,00
18	40	39,99	99,98
19	40	40,01	100,03
20	40	40	100,00
21	60	59,99	99,98
22	60	60,01	100,02
23	60	60	100,00
24	60	59,99	99,98
25	60	60,01	100,02
26	60	59,98	99,97
27	60	60	100,00
28	60	59,98	99,97
29	60	60	100,00
30	60	59,99	99,98

BROMEXINA TAB

=====

Injection Date	: 12/12/2000 12:30:49 PM	Vial :	1
Sample Name	: bromexina		
Acq. Operator	: RONALD CHAMORO		
Acq. Instrument	: Instrument 2		
Acq. Method	: C:\HPCHEM\2\METHODS\BROMEX.M		
Last changed	: 12/12/2000 11:23:52 AM by RONALD CHAMORO		
	(modified after loading)		
Analysis Method	: C:\HPCHEM\3\METHODS\NIMOKEL.M		
Last changed	: 12/12/2000 3:02:47 PM by ronald chamorro		
	(modified after loading)		



=====

External Standard Report

=====

Sorted By	:	Signal	
Calib. Data Modified	:	12/12/2000 3:02:41 PM	
Multiplier	:	1.0000	
Dilution	:	1.0000	
Sample Amount	:	20.00000 [mcg/ml]	(not used in calc.)

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm

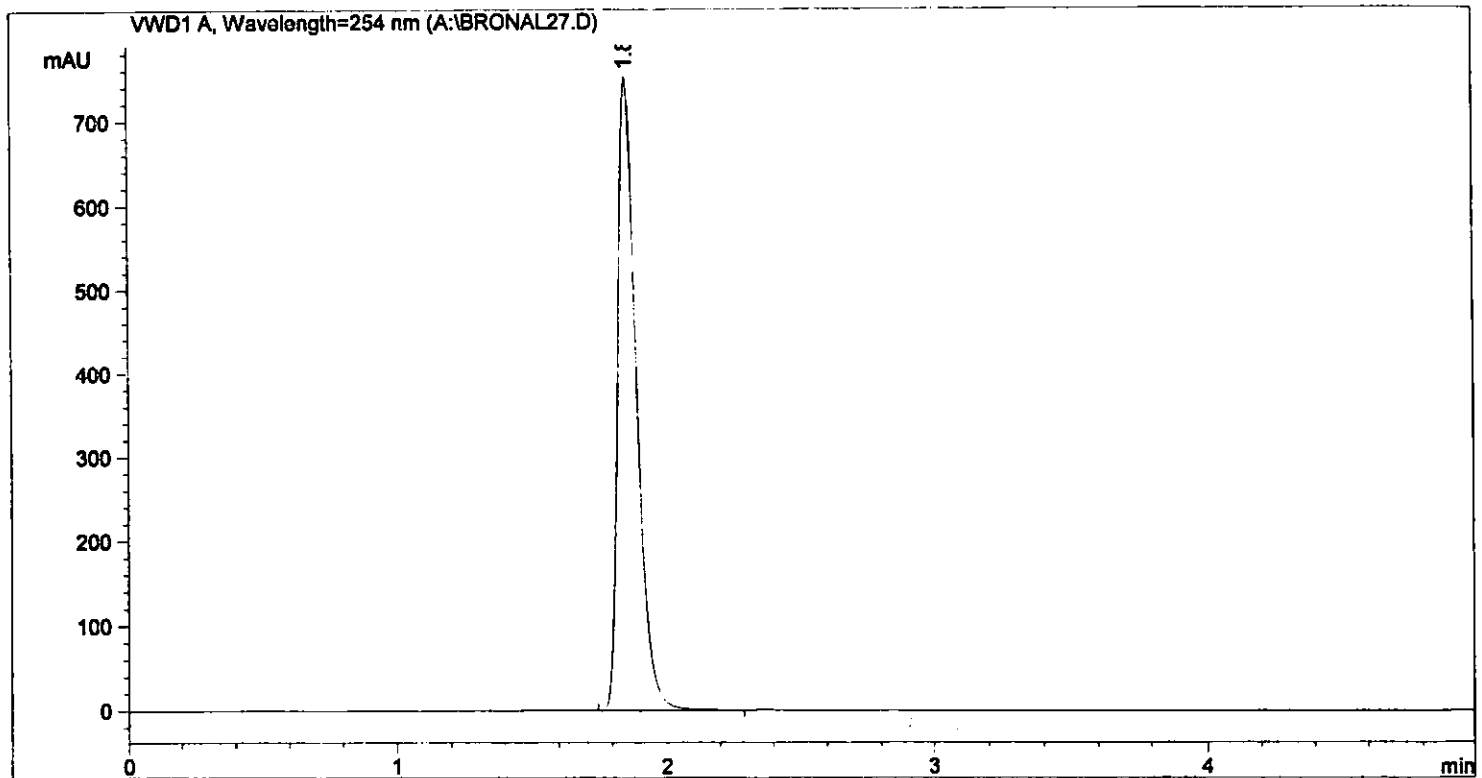
Uncalibrated Peaks : compound name not specified

RetTime	Type	Area	Amt/Area	Amount	Grp	Name
[min]		mAU *s		[mcg/ml]		
1.840	BV	1888.31409	1.04641e-2	19.75947		bromexina

Totals : 19.75947

## BROMEXINA TAB

```
=====
Injection Date   : 12/12/2000 12:11:56 PM
Sample Name      : bromexina                      Vial :    1
Acq. Operator    : RONALD CHAMORO
Acq. Instrument  : Instrument 2
Acq. Method      : C:\HPCHEM\2\METHODS\BROMEX.M
Last changed     : 12/12/2000 11:23:52 AM by RONALD CHAMORO
                  (modified after loading)
Analysis Method  : C:\HPCHEM\3\METHODS\NIMOKEL.M
Last changed     : 12/12/2000 2:54:22 PM by ronald chamorro
                  (modified after loading)
=====
```



```
=====
External Standard Report
=====
```

```
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/12/2000 2:49:19 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Sample Amount   : 40.00000 [mcg/ml] (not used in calc.)
```

```
Signal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm
Uncalibrated Peaks : compound name not specified
```

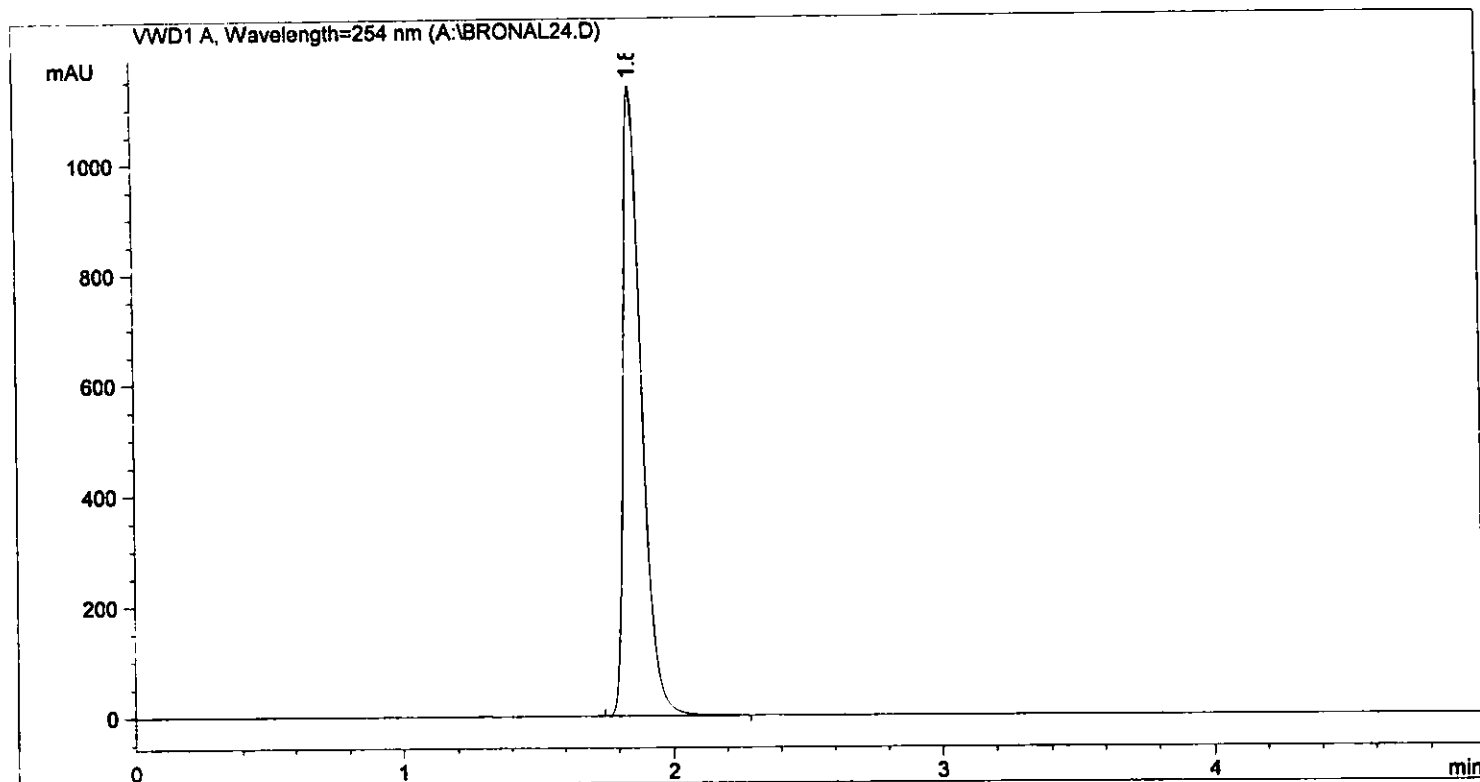
RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [mcg/ml]	Grp	Name
1.856	BV	3432.81323	7.82672e-3	26.86766		bromexina

Totals : 26.86766

## BROMEXINA TAB

=====

Injection Date : 12/12/2000 11:50:21 AM Vial : 1  
Sample Name : bromexina  
Acq. Operator : RONALD CHAMORO  
Acq. Instrument : Instrument 2  
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BROMEX.M  
Last changed : 12/12/2000 11:23:52 AM by RONALD CHAMORO  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\HPCHEM\3\METHODS\NIMOKEL.M  
Last changed : 12/12/2000 2:42:21 PM by ronald chamorro  
(modified after loading)



=====

External Standard Report

=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 12/12/2000 2:35:56 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Sample Amount : 60.00000 [mcg/ml] (not used in calc.)

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm  
Uncalibrated Peaks : compound name not specified

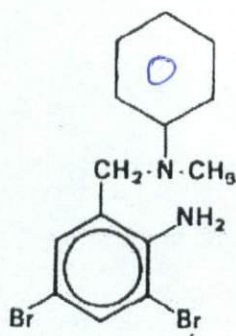
RetTime [min]	Type	Area mAU	Amt/Area *s	Amount [mcg/ml]	Grp	Name
1.855	BV	5110.69287	1.17401e-2	59.99992		bromexina

Totals : 59.99992

**Bromhexina Clorhidrato**

**2-amino-3,5-dibromo-N-cyclohexil-N-metilbenzilamina clorhidrato.**

**C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>·HCl. 412.6**



La Bromhexina Clorhidrato es un agente mucolitico usado en el tratamiento de desordenes respiratorios asociado con moco viscoso. La dosis usual en adultos es de 8 a 16 mg 3 o 4 veces al día. La dosis sugerida para niños menores de 5 años es 4 mg 2 veces al día y para niños mayores de 5 años a 10 años 4 mg cuatro veces al día.

También puede usarse intramuscular profundo o intravenoso lento en dosis de 8 a 24 mg diariamente, 20 mg en 500 ml de glucosa o 40 mg en 500 ml de cloruro de sodio , puede ser administrado por infusión intravenosa lento.



La Bromhexina es utilizada en el tratamiento de la otitis media, administrando de 8 a 16 mg tres veces al día por 4 a 8 semanas. En algunos casos puede ocasionar rash, diarrea o anuresis. Este principio activo también a sido utilizado en conjunto con antibióticos como la Eritromicina . Se utiliza en combinación con 1 g. de Cefalexina y 8 mg de Bromhexina 3 veces al día por 10 días, esta medicación es usada en complicaciones de post – cirugía bronquial , bronquitis crónica aguda , bronco neumonía en niños , en mujeres se usa en el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio bajo.

Los efectos adversos más comunes son: gastro intestinales que pueden ocurrir ocasionalmente con la Bromhexina. Debe usarse con precaución en pacientes con ulceración gástrica.

La bromhexina clorhidrato es absorbida del tracto gastro intestinal y es excretado en la orina principalmente como metabolito. El principal metabolito es el Ambroxol.

Algunos nombres comerciales de la Bromhexina son : Auxit , Bisolvon ,Broncokin, Bronkese, viscolyt, Dakryo.

