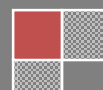
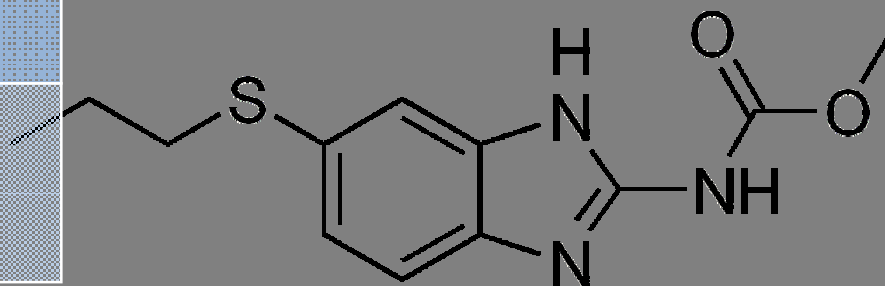


2013

ESTUDIO CUALITATIVO Y VOLTAMPEROMÉTRICO DE COMPRIMIDOS DE ALBENDAZOL.



INDICE

1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVOS	4
3. MATERIALES	5
4. METODOLOGÍA.....	7
4.1 Ensayos con principio activo.	7
4.1.1 Pruebas de solubilidad:	7
4.1.2 Voltamperometría cíclica:	7
4.1.3 Estudio del efecto del HAc glacial en el método:.....	7
4.1.4 Diseño experimental:	7
4.1.5 Elección entre voltamperometría lineal y diferencial de impulsos:.....	8
4.1.6 Curva de Calibrado:	9
4.1.7 Tratamiento de señales. Transformada de Fourier:.....	9
4.2 Ensayos con comprimidos sintéticos simulados	9
4.2.1 Aplicación del método a comprimidos:.....	10
4.2.2 Aplicación del método del sobregregado a comprimidos de albendazol:	10
4.2.3 Precisión - repetibilidad:	10
4.2.4 Exactitud - recuperación:	11
4.2.5 Determinación del Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ):.....	11
4.3 Identificación de Albendazol mediante espectroscopía RAMAN.....	11
5. RESULTADOS	12
5.1 Ensayos con principio activo.	12
5.1.1 Pruebas de solubilidad:	12
5.1.2. Voltamperometría cíclica:	12
5.1.3 Estudio del efecto del HAc glacial en el método:.....	13
5.1.4 Diseño experimental:	14
5.1.5 Elección entre voltamperometría lineal y diferencial de impulsos:.....	15
5.1.6 Curva de Calibrado:	16
5.1.7 Tratamiento de señales. Transformada de Fourier.....	18
5.2 Ensayos con comprimidos sintéticos simulados.	19
5.2.1 Aplicación del método a comprimidos:.....	19
5.2.2 Aplicación del método del sobregregado a comprimidos de albendazol:	20
5.2. 3 Precisión-repetibilidad:	21
5.2.4 Exactitud – recuperación:.....	23

5.2.5 Determinación del Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ):.....	23
5.3 Identificación de Albendazol mediante espectroscopía RAMAN.....	23
6. CONCLUSIONES	27
7. BIBLIOGRAFÍA	28

1. INTRODUCCION

Las enteroparasitosis son endémicas en la región noreste de Argentina, con una alta prevalencia en la provincia de Corrientes. El Ministerio de Salud Pública de la Nación, estableció un Programa de Tratamientos Masivos Antiparasitarios. En Corrientes, la Planta de Medicamentos (PLAMECOR) elabora comprimidos genéricos de mebendazol, albendazol y metronidazol que son distribuidos en todos los centros de salud de la provincia.

Esto motiva el interés de estudio del albendazol y la posibilidad de desarrollo, optimización y validación de un método de control de calidad en comprimidos farmacéuticos para laboratorios de nivel medio que no disponen de equipamientos de última generación.

Un medicamento genérico, según la OMS (Organización Mundial de la Salud), es aquel medicamento vendido con el nombre del principio activo que lleva y, además, siendo bioequivalente a la marca original. Es decir, un medicamento genérico “es todo medicamento que tenga la misma composición cualitativa y cuantitativa en principios activos y la misma forma farmacéutica, y cuya bioequivalencia con el medicamento de referencia haya sido demostrada por estudios adecuados de biodisponibilidad. Las diferentes sales, ésteres, éteres, isómeros, mezclas de isómeros, complejos o derivados de un principio activo se consideraran un mismo principio activo, a menos que tengan propiedades considerablemente diferentes en cuanto a seguridad y/o eficacia. Las diferentes formas farmacéuticas orales de liberación inmediata se consideraran una misma forma farmacéutica”[1].

El albendazol (Fig.1) es un antiparasitario que integra la lista de medicamentos esenciales de la OMS[2][3], perteneciente al grupo de los bencimidazoles, que posee tanto acción local como sistémica. Fue aprobado para su uso en humanos 1982 bajo el nombre comercial de Zentel. Dicho compuesto muestra actividad larvícida, ovicida y vermífida, y se cree ejerce el efecto antihelmíntico inhibiendo la polimerización de la tubulina. Esto causa la disrupción del metabolismo del helminto, incluyendo la disminución de energía, que inmoviliza y después mata el helminto sensible[4]. De acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS), el Albendazol es un fármaco de clase II (baja solubilidad / alta permeabilidad)[5][6].

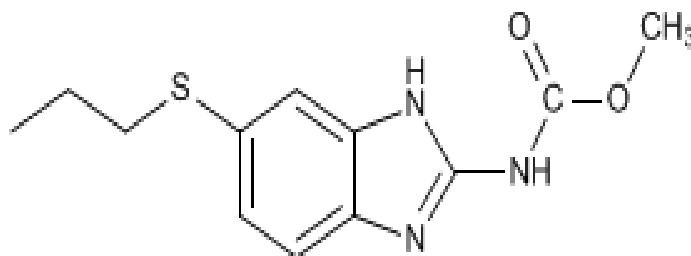


Fig 1: estructura química del Albendazol.

El albendazol es rápidamente metabolizado en el hígado a sulfóxido de albendazol (Fig.2) y éste a su vez es oxidado a la correspondiente sulfona, que es farmacológicamente inactiva[7].

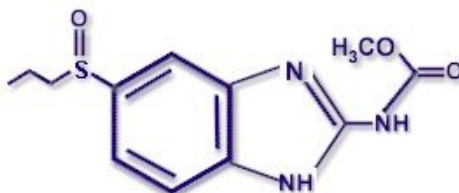


Fig.2: Estructura química del sulfóxido de Albendazol.

El albendazol es un polvo blanco o blanquecino. Es soluble en dimetilsulfóxido, ácidos fuertes y bases fuertes. Ligeramente soluble en metanol, cloroformo, acetato de etilo y acetonitrilo e insoluble en agua[8].

El control y garantía de calidad de la industria farmacéutica establece procedimientos normalizados de trabajo que aseguran que el medicamento es útil a los fines de salud propuestos. Estos incluyen tanto determinaciones cuantitativas del ingrediente activo como propiedades físicas y químicas de los preparados farmacéuticos.

Los análisis de valoración protocolizados en la USP (United States Pharmacopoeia) son realizados, en su mayoría, por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) [9] [10] y técnicas multivariadas.

En este trabajo se estudia la determinación del albendazol por voltamperometría diferencial de impulsos tanto en principio activo puro como en comprimidos farmacéuticos simulados y se prosigue a la validación del mismo. Las técnicas electroquímicas aplicadas a medicamentos presentan la ventaja de simplicidad, alta sensibilidad, bajo costo y tiempo de análisis relativamente cortos comparados con otras técnicas. La información obtenida de éstas, usualmente se correlacionan con las estructuras moleculares y las actividades farmacológicas de las drogas. Previamente se aplicó el diseño experimental para conseguir las condiciones óptimas y se realizó un tratamiento de señales mediante la transformada de Fourier para mejorar la relación señal/ruido.

En voltamperometría, la información de un analito se obtiene registrando la corriente a medida que se modifica el potencial. Particularmente, en voltamperometría diferencial de impulsos, las corrientes residuales se miden y se restan del total de las corrientes farádicas (la suma de las corrientes

farádicas del analito más la residual). Este tipo de voltamperometría permite un análisis más preciso a concentraciones menores^{[11][12] [13]}.

Se analizó la incidencia de los excipientes, compuestos que acompañan al ingrediente activo en la formulación y le confieren propiedades físicas adecuadas a la presentación bajo la forma de comprimidos. Dichos compuestos no son electroquímicamente activos por lo que no presentan interferencias en las lecturas.

Con el fin de verificar la aplicabilidad del método a comprimidos comerciales de albendazol se determinó su especificidad, linealidad, rango lineal, precisión y exactitud.

Previamente se realizó el diseño experimental aplicando el diseño factorial completo de tres factores sin réplicas^{[14] [15] [16]}. La finalidad del diseño es obtener un producto o proceso con características deseables de forma eficiente determinando la influencia de los factores sobre las respuestas observadas.

Las señales obtenidas directamente del equipo fueron sometidas al tratamiento de filtración para la mejora de la relación señal/ruido mediante la aplicación de la transformada de Fourier^{[17] [18]}.

Por último, se ha aplicado espectroscopía Raman para la identificación del principio activo en comprimidos farmacéuticos y para estudiar posibles interferencias por la presencia de excipientes.

La Espectroscopía Raman es una técnica fotónica de alta resolución que proporciona en pocos segundos información química y estructural de casi cualquier material o compuesto orgánico y/o inorgánico permitiendo así su identificación. Se trata de una técnica de análisis que se realiza directamente sobre el material a analizar sin necesitar éste ningún tipo de preparación especial y que no conlleva ninguna alteración de la superficie sobre la que se realiza el análisis, es decir, es no-destruictiva ^[19].

El análisis mediante espectroscopia Raman se basa en hacer incidir un haz de luz monocromática de frecuencia ν_0 sobre una muestra cuyas características moleculares se desean determinar, y examinar la luz dispersada por dicha muestra. La mayor parte de la luz dispersada presenta la misma frecuencia que la luz incidente pero una fracción muy pequeña presenta un cambio frecuencial, resultado de la interacción de la luz con la materia. La luz que mantiene la misma frecuencia ν_0 que la luz incidente se conoce como dispersión Rayleigh y no aporta ninguna información sobre la composición de la muestra analizada. La luz dispersada que presenta frecuencias distintas a la de la radiación incidente, es la que proporciona información sobre la composición molecular de la muestra y es la que se conoce como dispersión Raman^[20].

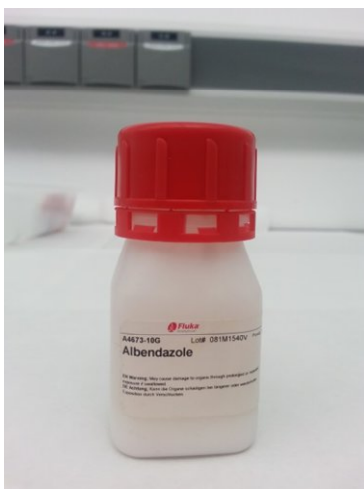
2. OBJETIVOS

- Desarrollo y validación de un método alternativo de control de calidad de albendazol en comprimidos farmacéuticos.
- Estudio estadístico y aplicación de métodos de diseño y optimización experimental correspondientes.
- Aplicación de tratamientos de señales mediante transformada de Fourier.
- Identificación cualitativa del principio activo mediante espectroscopía RAMAN.

3. MATERIALES

Voltamperometría:

- Ácido Acético glacial Scharlau ® para análisis ACS, ISO.
- Ácido Clorhídrico 37% Scharlau ® para análisis ACS, ISO.
- Electrodo de platino
- Electrodo de referencia Ag/AgCl.
- Albendazol principio activo Fluka®. Lote:# 081M1540V.

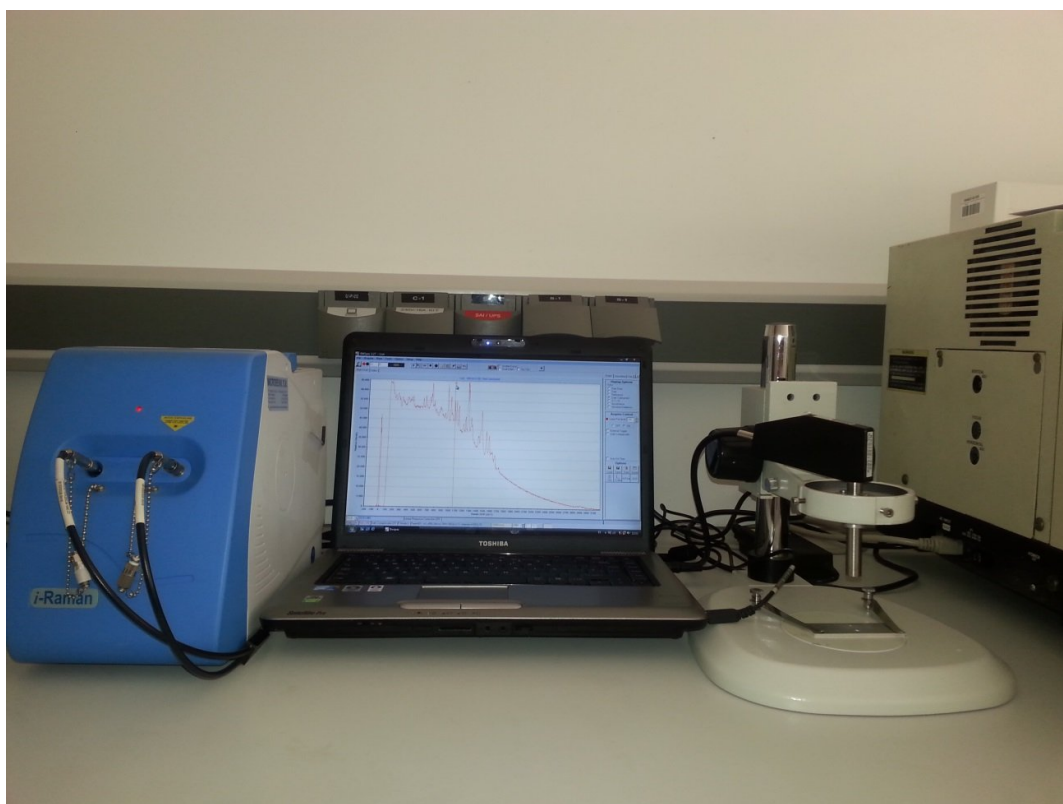


- Solución de albendazol de 10 mg/ml en HAc glacial.
- Autolab PSTAT-30 conectado a ordenador. Software GPES-Autolab. Version 4.7



Espectroscopía Raman:

- Espectrómetro i-RAMAN marca BWTEK Inc. Modelo BWS 415 miniature.
Software BWSpec. 3.27
Detector TE cooled 2018 CCD array
Láser clase IIIb ($\lambda=785$; potencia máxima: 499,95mW)



4. METODOLOGÍA

4.1 Ensayos con principio activo.

4.1.1 Pruebas de solubilidad: Se ensayó la solubilidad del principio activo en metanol puro, ácido clorhídrico 1N; 10N y 12N y ácido acético glacial.

Para esto se pesó 0,05 g de Albendazol y se realizaron agregados de 100 µl de solvente hasta disolución con un volumen máximo admitido de 5 ml del mismo. En caso de solubilidad positiva se procedía al agregado de porciones de 100 µl de agua hasta aparición de turbidez para conocer la tolerancia al medio acuoso.

4.1.2 Voltamperometría cíclica: Se realizó voltamperometría cíclica desde un potencial de 0 voltios a 1,6 voltios a una velocidad de 0,05 v/s.

Como medio electrolítico se utilizó KNO_3 + 5 ml de buffer Britton-Rubinson de pH 1,4 ; 5; 7 y 10 y también se utilizó como medio electrolítico 5 ml HClO_4 0,1N en un volumen final de 25 ml.

A partir de una solución de albendazol de 250 ppm se realizaron las lecturas de agregados de 100 µl de la misma que determina una concentración en la celda de 1 ppm.

4.1.3 Estudio del efecto del HAc glacial en el método: Para descartar cualquier influencia del ácido acético glacial en la reacción se han realizado agregados de 100 µl, 200 µl y 300 µl del mismo a la solución electrolítica en iguales condiciones a las que se trata el principio activo y las muestras, expuestas en el apartado 4.1.2.

4.1.4 Diseño experimental: Una vez elegido el medio electrolítico más adecuado se procede al diseño del experimento aplicando el diseño factorial completo de tres factores sin réplicas, teniendo como función objetivo la medida de la altura del pico del voltamperograma. Las variables elegidas fueron tiempo de preparación de la muestra antes de la lectura (A), Concentración del principio activo en la celda electrolítica (B) y sentido de la reacción (C). En la tabla 1 se representan los datos mencionados.

Factores	-	+
A (días)	1	15
B(ppm)	40	240
C	Oxidación	Reducción

Tabla 1: Variables elegidas para la aplicación del DFC de tres factores sin réplicas.

Para completar la tabla de resultados se procedió al cálculo de los efectos de los factores y las interacciones entre ellos, utilizando las siguientes fórmulas:

$$\begin{aligned} \text{Efecto A} &= 1/4 \{(Y_2 + Y_6 + Y_7 + Y_8) - (Y_1 + Y_3 + Y_4 + Y_5)\} \\ \text{Efecto B} &= 1/4 \{(Y_3 + Y_5 + Y_7 + Y_8) - (Y_1 + Y_2 + Y_4 + Y_6)\} \\ \text{Efecto C} &= 1/4 \{(Y_4 + Y_5 + Y_6 + Y_8) - (Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_7)\} \\ \text{Efecto AB} &= 1/4 \{(Y_1 + Y_4 + Y_7 + Y_8) - (Y_2 + Y_3 + Y_5 + Y_6)\} \\ \text{Efecto AC} &= 1/4 \{(Y_1 + Y_3 + Y_6 + Y_8) - (Y_2 + Y_4 + Y_5 + Y_7)\} \\ \text{Efecto BC} &= 1/4 \{(Y_1 + Y_2 + Y_5 + Y_8) - (Y_3 + Y_4 + Y_6 + Y_7)\} \\ \text{Efecto ABC} &= 1/4 \{(Y_2 + Y_3 + Y_4 + Y_8) - (Y_1 + Y_5 + Y_6 + Y_7)\} \end{aligned}$$

4.1.5 Elección entre voltamperométrialineal y diferencial de impulsos: Para comparar y observar si existe diferencia en la resolución del pico se lee, por ambos métodos, agregados de 100 µl de ABZ de una solución de 10 mg/ml. Se grafican los resultados obtenidos para agregados de 400 µl en la celda lo que equivale a 120 ppm en la celda. Las condiciones óptimas de medida son las siguientes:

Voltamperometría lineal:

Potencial inicial: 0V

Potencial final: 1.6 V

Velocidad de barrido: 0.05V/s

Voltamperometría diferencial de impulsos:

Potencial inicial: 0V

Potencial final: 1.6 V

Velocidad de barrido: 0.05V/s

Amplitud del impulso : 100mV/s

4.1.6 Curva de Calibrado: Para realizar la curva de calibrado se utilizó una solución de ABZ 10 mg/ml agregando de a 100 µl a la celda y registrando los resultados por voltamperometría diferencial de impulsos. La celda electrolítica contenía un volumen final de 25 ml, por lo que al realizar 6 agregados obtenemos concentraciones (ppm) de 40,80, 120,160 ,200 y 240.

Se graficala respuesta vs. Concentración de Albendazol y se evalúa su linealidad por el método de los cuadrados mínimos.

4.1.7 Tratamiento de señales. Transformada de Fourier:A los resultados obtenidos en la realización de la curva de calibrado se le aplica el tratamiento de señales mediante la transformada de Fourier para analizar la influencia del ruido en las señales obtenidas mediante planilla de cálculo Microsoft Excel ®. Para esto se eligieron las señales del blanco, y dos disoluciones de albendazol patrón de 160 ppm y 240 ppm en la celda electrolítica.

4.2 Ensayos con comprimidos sintéticos simulados.

El Albendazol se comercializa de las siguientes maneras

Denominación genérica	Forma farmacéutica	Presentación	Laboratorio
ALBENDAZOL	Suspensión oral	Envase frasco con 20 ml	ALPHARMA
ALBENDAZOL	Suspensión oral	20 mg/ml Envase con 20 ml	APOTEX
ALBENDAZOL	Suspensión oral	400 mg/20 ml Envase caja con frasco con 20 ml	ARLEX
ALBENDAZOL	Tabletas	200 mg Envase caja con 6 tabletas	ARLEX
ALBENDAZOL	Tabletas	200 mg Envase caja con 2 tabletas	ARLEX
ALBENDAZOL	Suspensión oral	20 mg/ml Envase con 20 ml	FARMACIAS DEL AHORRO
ALBENDAZOL	Suspensión oral	400 mg/ml Envase con 20 ml	HORMONA

Tabla 2:Presentaciones comerciales de comprimidos de Albendazol[21].

composición	Peso (g)
Albendazol principio activo	0,2
Sílice	0,024
Celulosa microcristalina	0,024
Almidón	0,024

Tabla3: Cantidades utilizadas para la composición de la matriz de la muestra.

Este medicamento no siempre está presente en farmacias y es muy costoso, por ejemplo, la marca registrada ESKAZOLE® de 60 comprimidos tiene un precio de 92,76€ [22] [23]. Por esto, se simula el comprimido utilizando 3 de los excipientes más comunes en pastillas (sílice, celulosa microscristalina y almidón).

Suponiendo que la pastilla posee 200 mg de ABZ y que éste es el 73 % del peso del comprimido y que el peso promedio de una pastilla es de 273mg (datos obtenidos de comprimidos orales) se obtienen los siguientes resultados para la obtención de la muestra

4.2.1. Aplicación del método a comprimidos: Se prepara una solución de albendazol comprimido 10 mg/ml y se procede de la misma manera que para la curva de calibrado y bajo las mismas condiciones.

Las lecturas se realizan a 200µl, 400µl y 500µl agregados por duplicado y se comparan las concentraciones teóricas con las experimentales.

4.2.2 Aplicación del método del sobreagregado a comprimidos de albendazol: Para descartar un posible efecto matriz se aplica el método del sobreagregado.

Para esto, se lee la señal de un agregado de 200 µl de muestras y se adicionan entre 100 µl y 500 µl de una solución de principio activo de 10 mg/ml de albendazol y se grafican los resultados.

4.2.3 Precisión - repetibilidad:

Para el análisis de la precisión se realizó el procedimiento descrito para una muestra de concentración de 80 ppm de albendazol en la celda electrolítica calculando el valor medio (X_m), la desviación estándar (SD) y la desviación estándar relativa porcentual (DER%).

4.2.4 Exactitud - recuperación:

Para el análisis de la exactitud se utilizan patrones de albendazol principio activo de 80ppm y 160 ppm en la celda por triplicado para cada solución. El procedimiento y las condiciones son las mismas que se han detallado anteriormente.

4.2.5 Determinación del Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ): Estos parámetros se estiman a partir de la ecuación de regresión obtenida de la curva de calibrado. Para ello se utilizan las siguientes fórmulas [14].

$$Y_{LOD} = Y_B + 3 S_B$$

$$Y_{LOQ} = Y_B + 10 S_B$$

Donde:

Y_B es la ordenada

S_B es el estadístico de los $S_{y/x}$ que estima los errores aleatorios en la dirección y, de fórmula

$$S_{yx} = \sqrt{\frac{\sum (y - y')^2}{n - 2}}$$

Donde:

y son los valores experimentales

y' valores de y obtenidos de la ecuación de regresión

n números de patrones utilizados en la curva de calibrado

4.3 Identificación de Albendazol mediante espectroscopía RAMAN

Para la identificación del albendazol se procedió a la aplicación de espectroscopía RAMAN tanto a principio activo, comprimido y excipientes puros, para observar posibles interferencias de estos últimos en las bandas del principio activo. Las experiencias fueron realizadas por triplicado en cada caso, con resultados totalmente reproducibles. Antes de cada lectura se realizó el correspondiente darksubstracted. La potencia del láser fue regulada al 100% y luego de cada lectura se realizó un smoothing FFT.

5.RESULTADOS:

5.1 Ensayos con principio activo.

5.1.1 Pruebas de solubilidad: Los resultados de las pruebas de solubilidad se exponen en la tabla 4.

Disolvente	MeOH	HCl 1N	HCl 10N	HCl 12N	Ác.Acético glacial
solubilidad	-	-	-	-	+

Tabla 4: Resultados de los ensayos de solubilidad en distintos solventes.

0,05 g de Albendazol fueron disueltos en 600 µl de Ac. Acético glacial y al realizar agregados de 100 µl de agua, la solución presentó turbidez a los 600 µl adicionados, lo que indica una tolerancia de aproximadamente 50% al medio acuoso una vez disuelto en ácido acético glacial.

5.1.2. Voltamperometría cíclica: Los picos obtenidos en voltamperometría cíclica no presentaron resolución aceptable para su cuantificación independientemente de las condiciones de pH. Los picos más aceptables se obtuvieron utilizando como medio electrolítico HClO₄ 0,1N.

En la Figura 3 y 4 se muestran los resultados obtenidos para una solución de Albendazol de 250 ppm a los distintos pH estudiados.

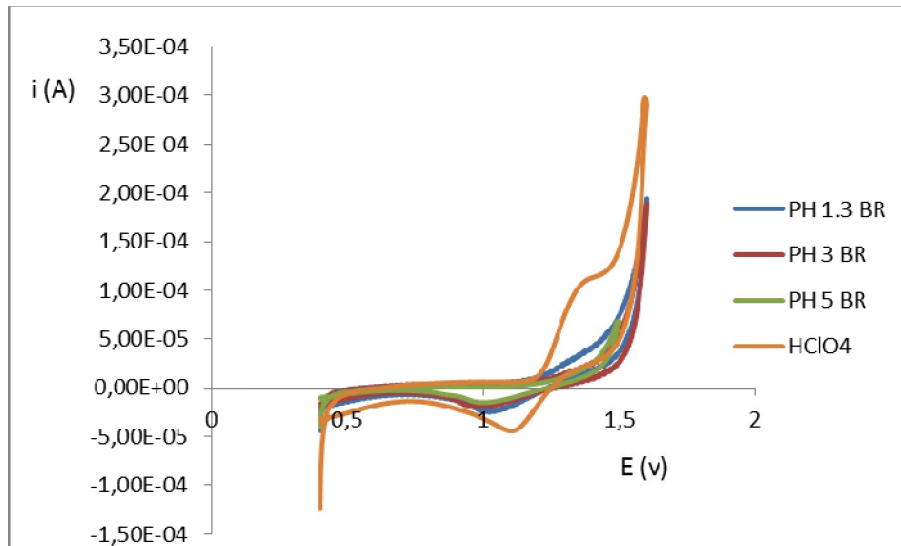


Figura 3: Voltamperograma cíclico de 250 ppm de Abz. A pH ácidos.

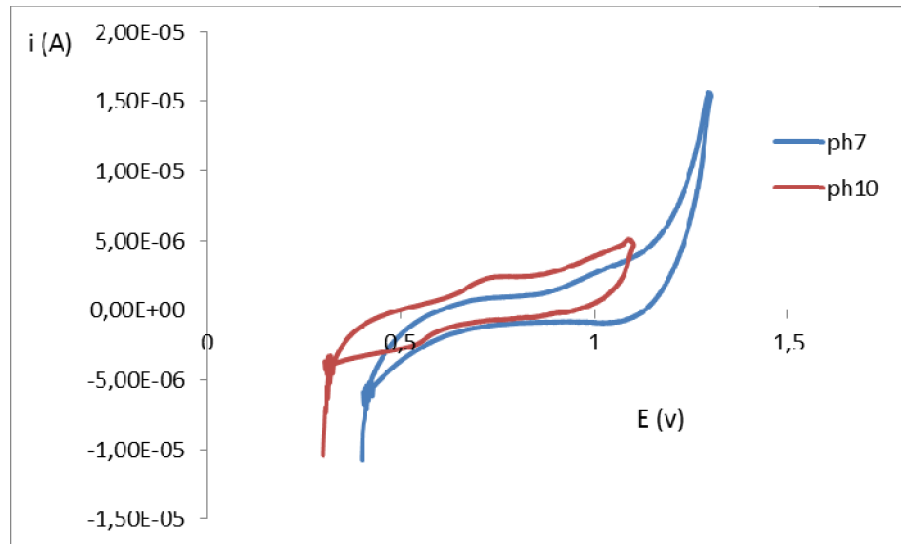


Figura 4: Voltamperograma cíclico de 250 ppm de Abz. a pH básicos.

5.1.3 Estudio del efecto del HAc glacial en el método: En la Figura 5 se observan los agregados de ácido acético glacial y se demuestra que no genera señales en las condiciones de trabajo que puedan interferir con la lectura del analito.

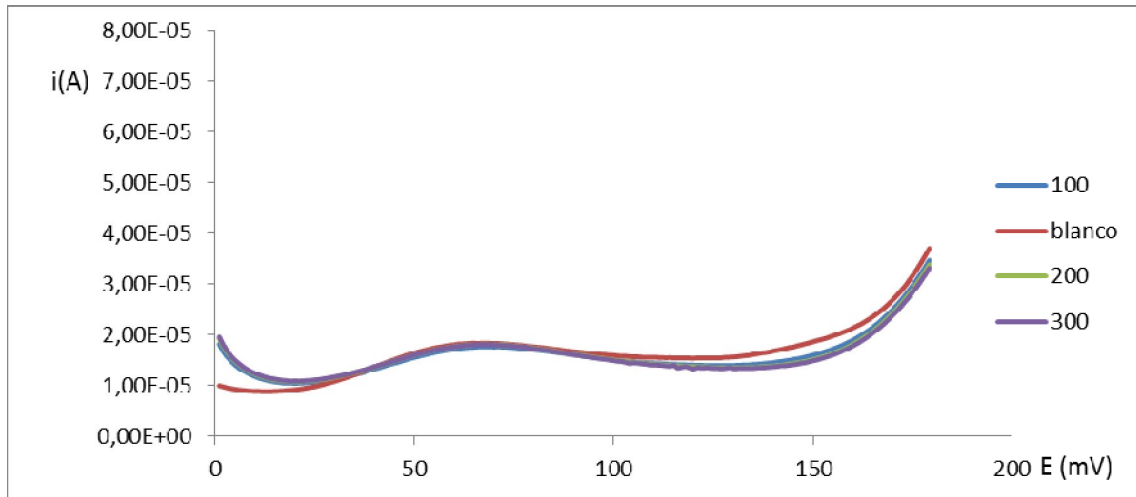


Figura 5: Estudio del comportamiento del HAc glacial en voltamperometría diferencial de impulsos.

5.1.4 Diseño experimental: Los valores obtenidos para los efectos de los factores y las interacciones entre ellos se exponen en la tabla 5.

En la tabla 6 se expresan los datos obtenidos para la aplicación del método estadístico de ranking.

EFEECTO	VALOR
A	-0,77
B	3,19
C	-1,04
AB	0,66
AC	0,193
BC	-0,096
ABC	0,206

Tabla 5: valores de los efectos de los factores y sus interacciones

Efecto	-1,04	-0,77	-0,66	0,096	0,193	0,206	3,19
Factor	c	A	AB	BC	AC	ABC	B
Ranking (i)	1	2	3	4	5	6	7
P= 100 (i-0,5)/T	7,14	21,43	35,71	50,00	64,29	78,57	92,86

Tabla 6: cálculos estadísticos de la significación de los efectos tenidos en cuenta.

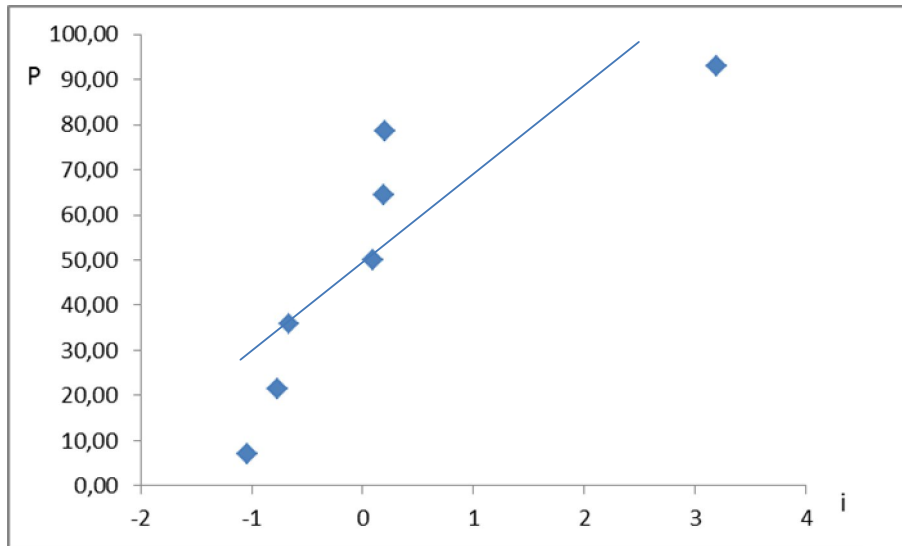


Figura 6: método ranking.

Por los resultados obtenidos se observa que los factores que afectan significativamente a la altura del pico respuesta son A, B, C y las interacciones AC Y ABC.

Estos valores son los puntos que se alejan de la recta en la Figura 6 donde se representa el método ranking (i vs.P) donde i es el ranking y P la probabilidad.

Las condiciones que se eligen para la experimentación son las que nos otorgan un pico más alto, en este caso una solución de Albendazol preparada en el día, una concentración 240 ppm en la celda y en sentido de oxidación.

5.1.5 Elección entre voltamperometría lineal y diferencial de impulsos: En las figuras 7 y 8 se observan los picos de los métodos aplicados.

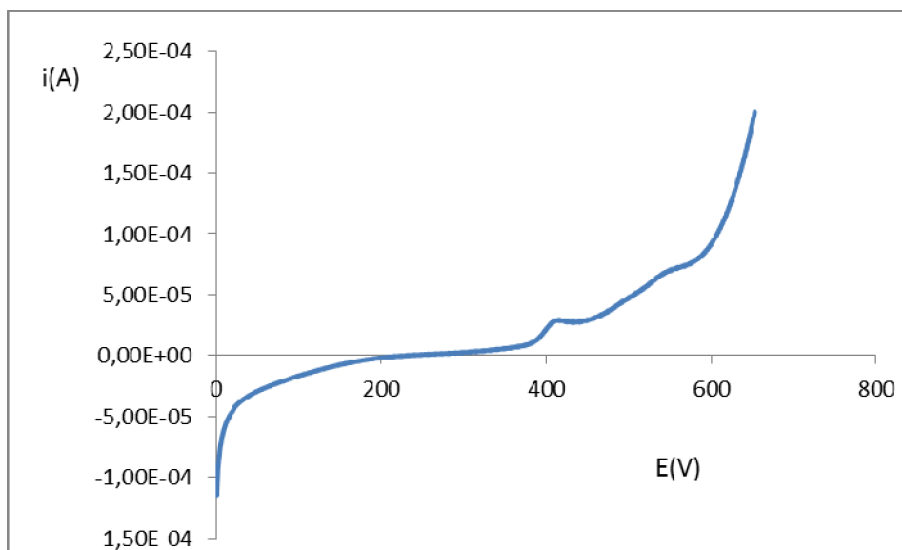


Figura 7: Voltamperogramalinea para ABZ 120 ppm en la celda electrolítica

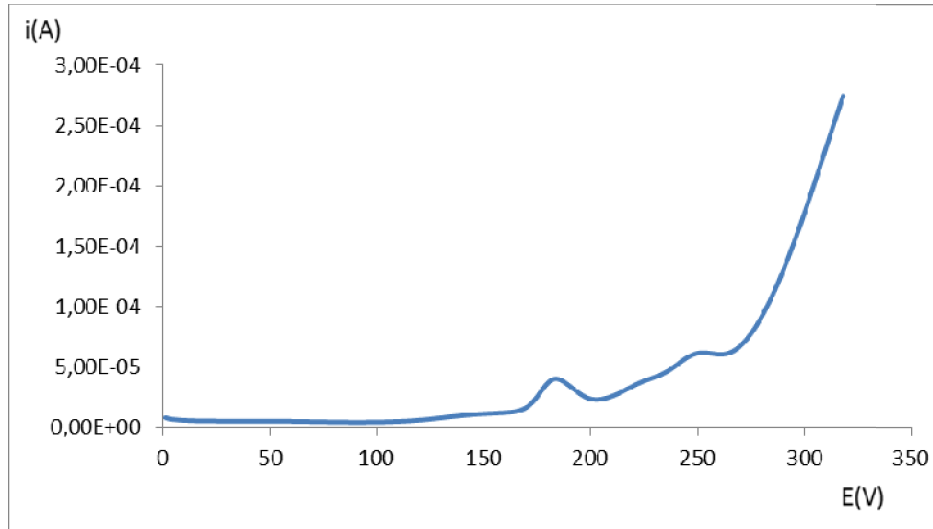


Figura 8: Voltamperograma diferencial de impulsos para ABZ 120 ppm en la celda electrolítica

De las gráficas anteriores se decide trabajar con voltamperometría diferencial de impulsos ya que define más efectivamente el pico estudiado.

5.1.6 Curva de Calibrado: En la Tabla 7 se exponen los resultados obtenidos y en la figura 9 y 10 se representan las señales proporcionales a la concentración de albendazol agregado y la curva de calibrado respectivamente.

C(ppm)	i (A.10 ⁻⁵)
40	0,675
80	1,63
120	2,57
160	3,47
200	4,31
400	5,13

Tabla 7: resultados obtenidos de la lectura en DP de agregados de ABZ.

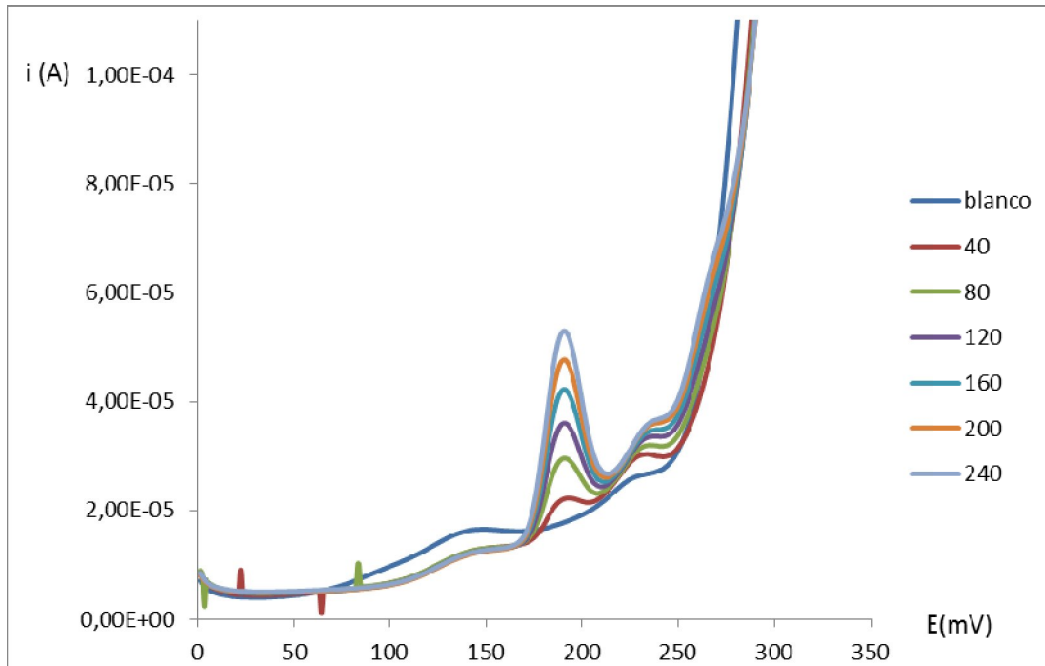


Figura 9: señales de agregados de alendazol.

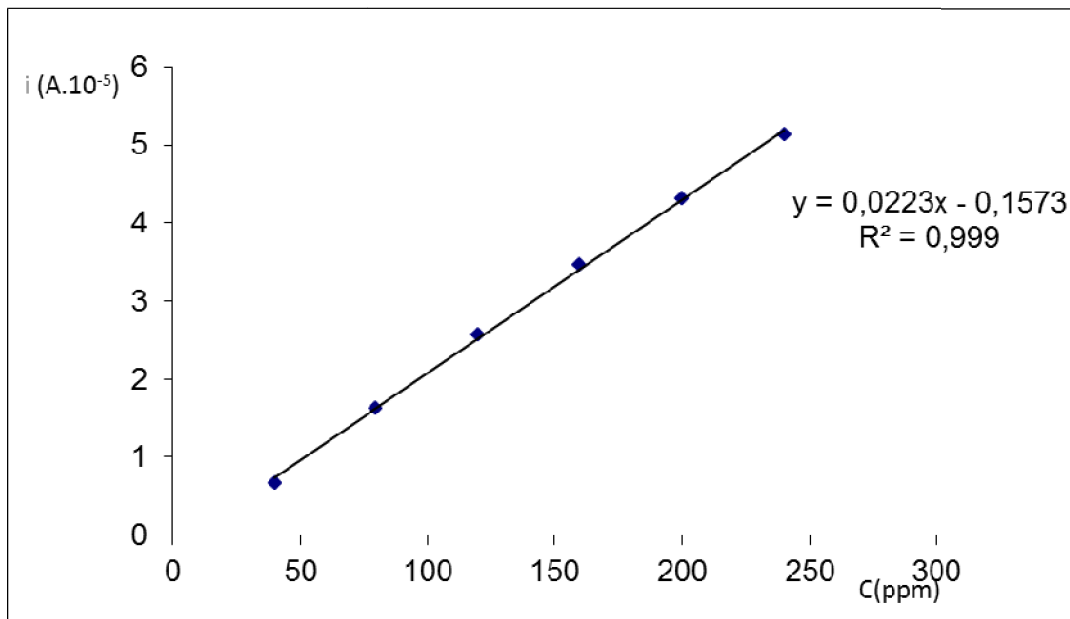


Figura 10: Curva de calibrado de ABZ principio activo. Linealidad del método.

Ordenada	-0,1573
Pendiente	0,0223
Coef. de correlación múltiple (r)	0,999
r ²	0,999
Desviación de la ordenada (Sa)	0,153
Desviación de la pendiente (Sb)	0,00098
$y=0,0223x \pm 9,8 \cdot 10^{-4} - 0,1573 \pm 0,153$	

Tabla 8: Ecuación y parámetros de linealidad del método.

Con un intervalo de confianza al 95%, se concluye que el método es lineal en el rango estudiado, respondiendo a la ecuación de la tabla 8. La regresión lineal por mínimos cuadrados, así como el cálculo de errores fueron efectuados mediante planilla de cálculo Microsoft Excel ®.

5.1.7 Tratamiento de señales. Transformada de Fourier. En las siguientes gráficas se observa que no hay diferencias significativas entre las señales originales provenientes del equipo y las señales tratadas con la transformada de Fourier.

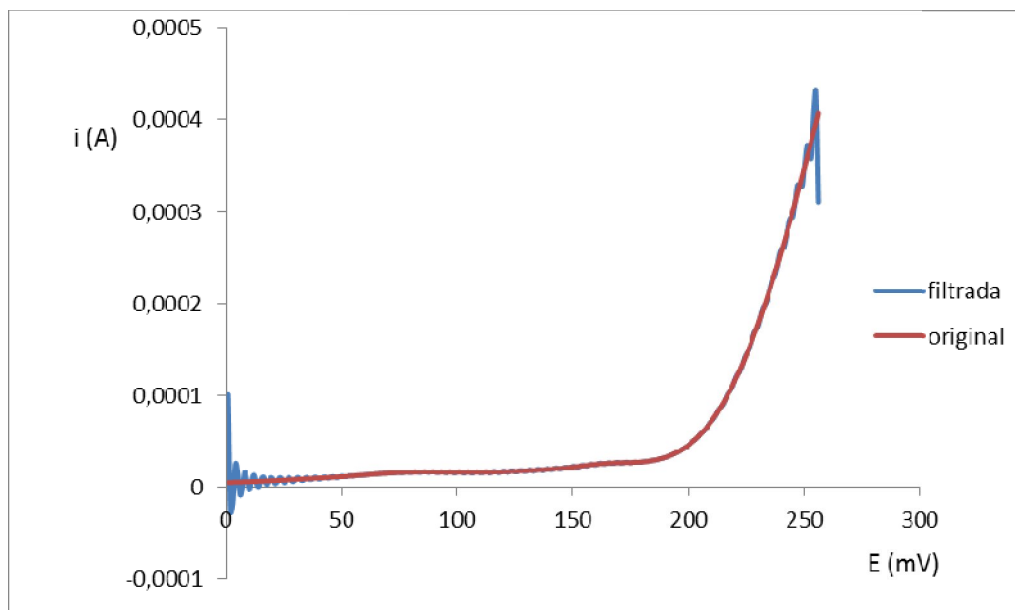


Figura 11: Señal original y tratada con la transformada de Furier para el blanco.

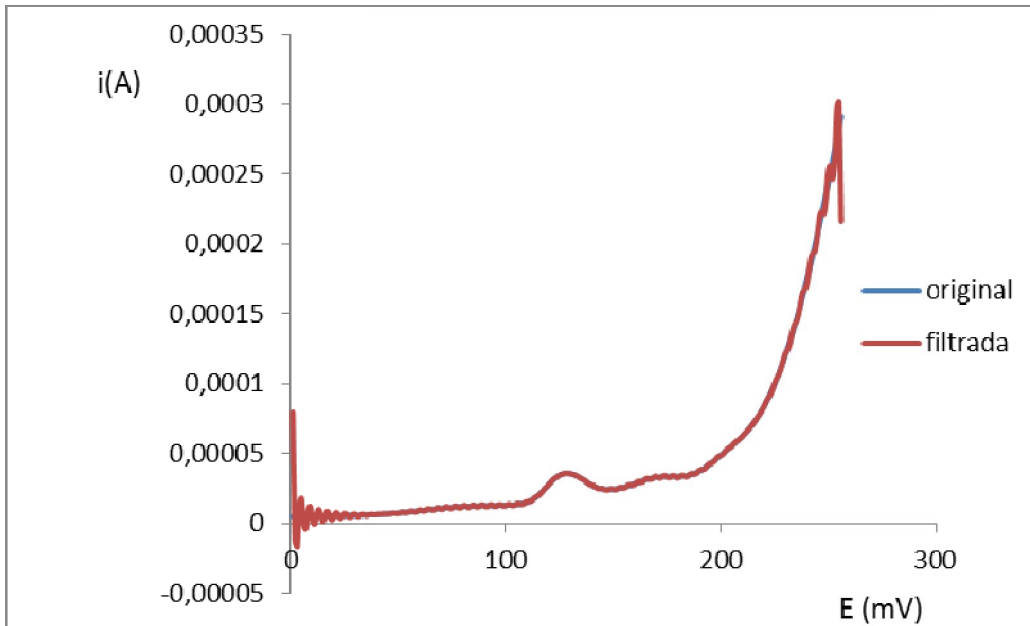


Figura 12: Señal original y tratada con la transformada de Furier para 120 ppm.

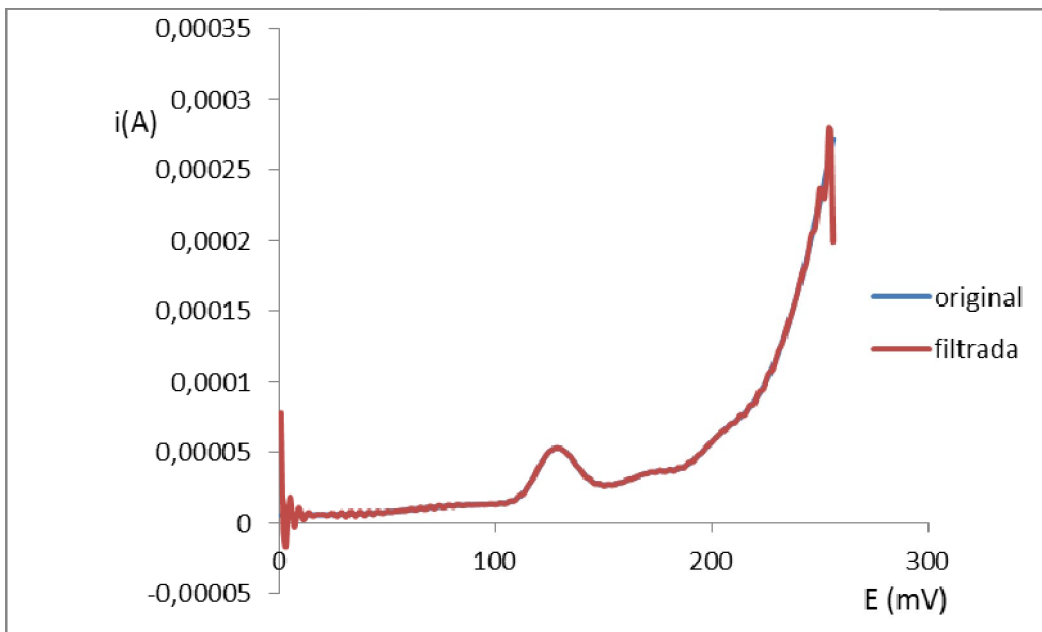


Figura 13: Señal original y tratada con la transformada de Fourier para 240 ppm.

5.2 Ensayos con comprimidos sintéticos simulados.

5.2.1 Aplicación del método a comprimidos: Los resultados obtenidos se representan en la gráfica 14.

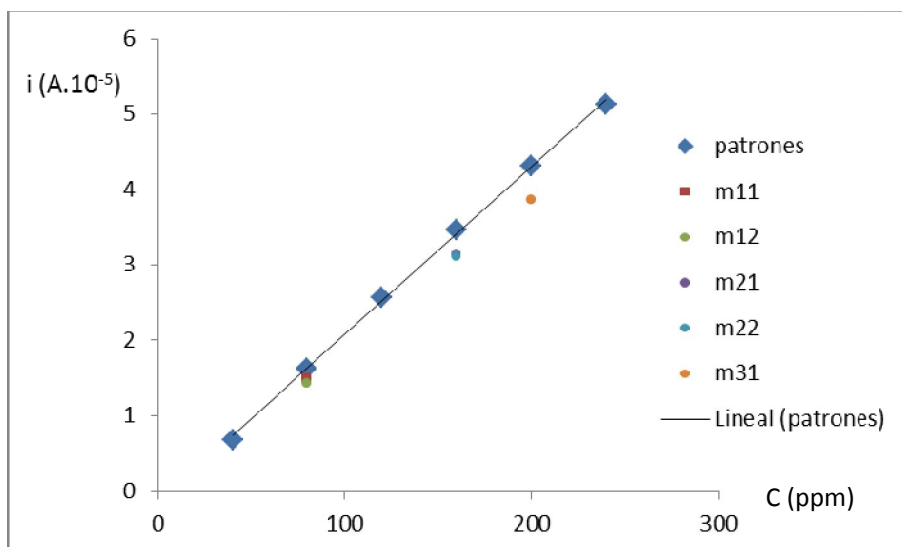


Figura 14: Cuantificación de Albendazol en comprimidos.

C.teórica (ppm)	C.obtenida 1 (ppm)	C.obtenida 2 (ppm)
80	74	71
160	148	146
200	180	180

Tabla 9: Resultados de las concentraciones experimentales de abz en comprimidos

Por lo que puede observarse se obtuvieron valores muy bajos en las concentraciones de Albendazol en comprimidos. Estos resultados se encuentran fuera del rango impuesto por la USP 30. El procedimiento volvió a repetirse sin mejoras en los resultados.

5.2.2 Aplicación del método del sobreagregado a comprimidos de albendazol: Los resultados obtenidos para una muestra de 200 μ l de albendazol se representan en la figura 15 realizado diez veces. El valor obtenido en la intersección de la recta con el eje de la x representa la concentración de albendazol en la muestra. Por lo que se observa, el efecto matriz influye en esta determinación. En la tabla 9 se exponen los resultados de las concentraciones obtenidas para las diez determinaciones bajo las mismas condiciones.

Nº de determinación	C(ppm)
1	81
2	80
3	80
4	79
5	80
6	79
7	82
8	80
9	78
10	81

Tabla 10: valores de concentraciones de albendazol obtenidos por el método del sobreagregado.

5.2. 3Precisión-repetibilidad: En la tabla 11 se reflejan los resultados obtenidos.

Determinación nº	Cexp.(ppm)	Xm	SD	DER%
1	81	79,8	1,47	1,85
2	80			
3	80			
4	79			
5	80			
6	79			
7	82			
8	80			
9	78			
10	81			

Tabla 11: Repetibilidad del método.

El método propuesto presenta valores de desviación estándar de 1,47. La desviación estándar relativa resultó menor al 2%, que es el límite impuesto para este tipo de determinaciones.

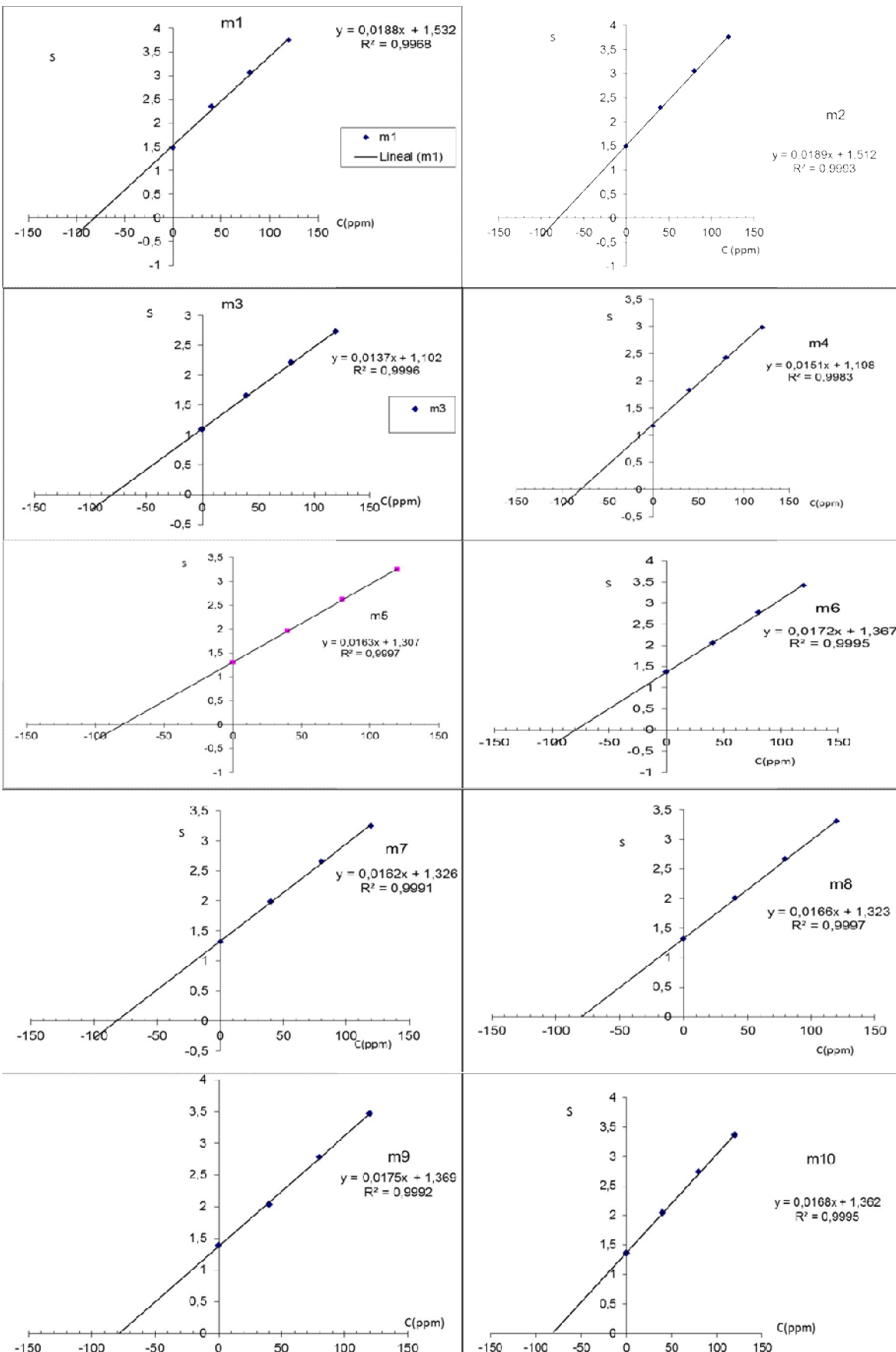


Figura 15: Método del sobreagregado a soluciones de albendazol de 80 ppm.

5.2.4 Exactitud – recuperación: En la tabla 12 se exponen los resultados obtenidos.

C _{.teorica} (ppm)	C _{.exp} (ppm)	%recuperación	Promedio %rec.	Precisión
80	80	100	100,8	Xm=80,7
	79	98,7		SD=2,08
	83	103,7		%RSD=2,58
160	161	100,6	101,8	Xm=162,8
	165,3	103,3		SD=2,21
	162,3	101,4		%RSD=1,35

Tabla 12: Exactitud del método

Los valores de recuperación obtenidos se encuentran en el rango impuesto por la USP-30, la cual exige que los comprimidos de albendazol deben contener no menos del 90% y no más del 100% de la cantidad declarada.

5.2.5 Determinación del Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ): En la Tabla 13 se representan los resultados obtenidos.

x(ppm)	y (A.10 ⁻⁵)	y _{teorica}	(y-y _{teo}) ²	∑(y-y _{teo}) ²	□(y-y _{teo}) ² /4	S _{y/x}
40	0,675	0,7347	0,00356409	0,01396254	0,00349064	0,0590816
80	1,63	1,6267	1,089E-05			
120	2,57	2,5187	0,00263169			
160	3,47	3,4107	0,00351649			
200	4,31	4,3027	5,329E-05			
240	5,13	5,1947	0,00418609			

Tabla 13: valores para la determinación de del LOD Y LOQ.

De los valores anteriores se obtienen un Y_{LOD}= 0,0199 y un Y_{LOQ}=0,4335.

Esto determina un LOD= 7,95 ppm y un LOQ= 26,49 ppm.

5.3 Identificación de Albendazol mediante espectroscopía RAMAN

En la figura 16 se muestra el espectro de albendazol principio activo (en ausencia de excipientes) y se resaltan los picos característicos del mismo.

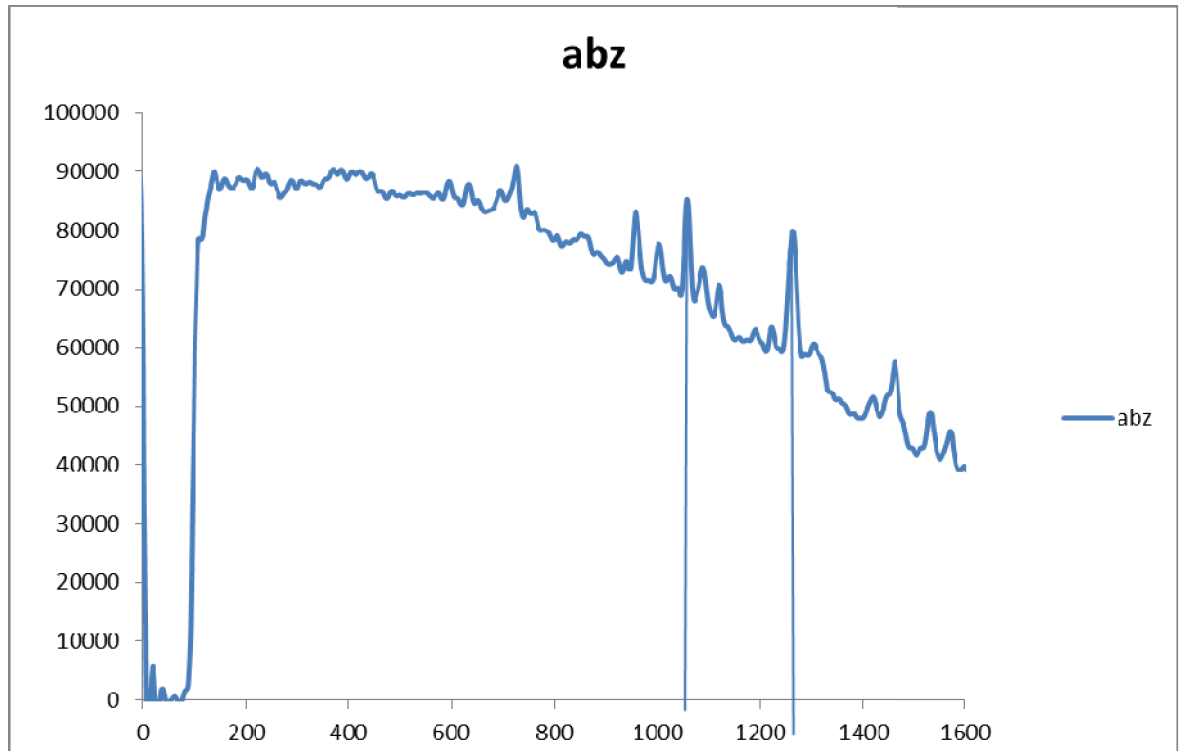


Figura 16: Espectro RAMAN de albendazol principio activo.

El espectro del principio activo presenta dos picos promedios característicos a $1059,33 \text{ cm}^{-1}$ y $1261,33 \text{ cm}^{-1}$

En la figura 17 se observa el espectro de la pastilla (comprimido) solapado con el espectro anterior del principio activo. En la Tabla 14 se exponen los resultados obtenidos en las lecturas por triplicado.

	PICO I		media	PICO II		media
	(cm^{-1})	IR	(cm^{-1})	(cm^{-1})	IR	(cm^{-1})
ABZ	1058	34426	1059	1254	31904	1261
	1060	32278		1264	30247	
	1060	57801		1266	52558	
PASTILLA	1058	64122	1060	1266	63642	1265
	1060	64414		1264	64064	
	1062	63414		1266	63580	

Tabla 14: valores obtenidos del espectro raman realizado por triplicado.

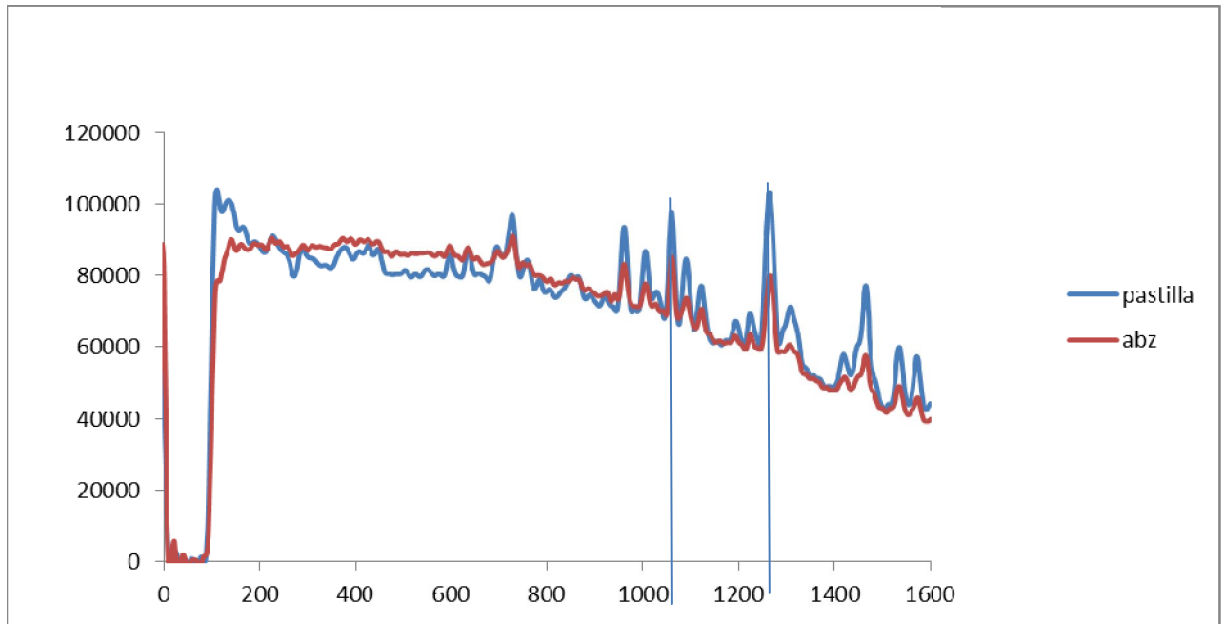


Figura 17: Comparación de espectros de ABZ principio activo y comprimido.

Como se observa en la figura anterior los picos característicos del albendazol son perfectamente identificables en el comprimido sin solapamiento considerable de bandas.

Para los excipientes antes mencionados, presentes en la pastilla, se realizó el mismo estudio, bajo las mismas condiciones. En la figura 18 se observan dichos espectros que fueron graficados junto a los resultados antes expuestos para su mejor interpretación. De dichos resultados se observa que los excipientes no interfieren en la identificación del principio activo en la muestra real.

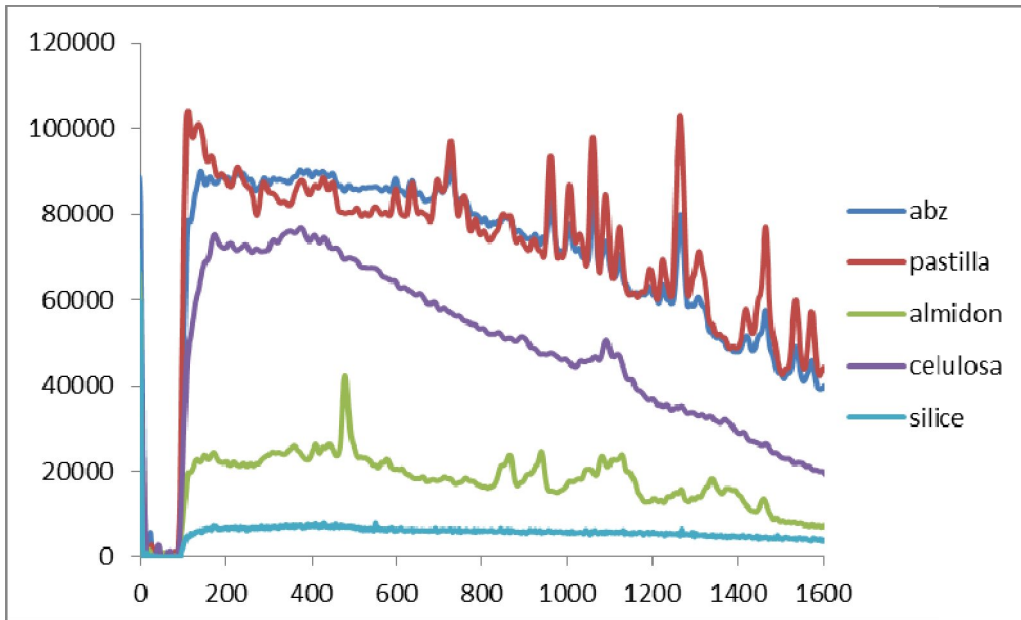


Figura 18:Espectro RAMAN de excipientes presentes en comprimidos farmacéuticos.

6. CONCLUSIONES

Es posible determinar albendazol en comprimidos genéricos mediante voltamperometría diferencial de impulsos cumpliendo con las exigencias de las regulaciones impuestas con una DER% menor al 2% y una recuperación entre 90% y 110%.

Los excipientes presentes en los comprimidos, generaban una distorsión en la respuesta voltamperométrica, por lo que es necesario utilizar el método del sobreagregado.

El método propuesto es rápido y económico frente a los métodos de referencia permitiendo a laboratorios de nivel medio, que no disponen de equipamiento de última generación, realizar controles de calidad a plantas de medicamentos genéricos.

La espectroscopía Raman se realizó con fines cualitativos obteniendo resultados positivos en su identificación en muestras reales.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1]Garantías y uso racional de medicamentos y productos sanitarios”.
Real Decreto RD 29/2006, de 26 de
Julio
- [2] “Lista modelo de medicamentos esenciales de la OMS” 15^{va} edición.
Marzo, 2007. Pág.8
- [3]Farmacopea Nacional Argentina VII Edición, Vol. I, 2003.
- [4] Farmacología médica. Nicandro Mendoza Patiño. Editorial Médica
Panamericana.2008. ISBN 978-968-7988-44-3.Pág.689-690
- [5]World Health Organization, Who Expert Committee on Specifications for
Pharmaceutical Preparations, Who Technical Report Series, fortieth report,
Geneva, Annex 7, 2006, pp. 358-413.
- [6]R. Lobenberg y G. L. Amidon, Modern bioavailability, bioequivalence and
biopharmaceutics classification system.New scientificapproachestointernational
regulatory standards, Eur. J. Pharm. Biopharm.,50, 3-12 (2000).
- [7]<http://www.medicamentos.com.mx/DocHTML/26290.htm#D>
- [8]http://facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Albendazol.htm
- [9]Uttam MANDAL, Veeran GOWDA: Optimization of Metformin HCl 500 mg
Sustained Release Matrix Tablets Using Artificial Neural Network (ANN) Based
on Multilayer Perceptrons (MLP) Model, Bioequivalence Study Centre,
Department of Pharmaceutical Technology, Jadavpur University; Kolkata–700
032, India, published online November 5, 2007.
- [10] USP 30.United States Pharmacopeia. Vol.3.pág.26
- [11]Análisis instrumental.Kenneth A. Rubinson; Judith F. Rubinson.Prentice
Hall.2001.ISBN: 84-205-2088-5.Pág.264-279.
- [12] - Luna, M. C. (2008). *Diseño y Aplicación de Sensores Electroquímicos
basados en Moléculas Orgánicas Conductoras*. Universidad de Córdoba,
Departamento de Química Física y Termodinámica Aplicada, Córdoba.
- [13] - Voltamperometria Cíclica. Universidad Nacional de la Plata, Facultad de
Ciencias Exactas, La Plata. (2010).

[14] Estadística Y Quimiometría Para Química Analítica, Miller, J.N., Miller, J.C., 4ª Ed. Editorial Prentice Hall. Cap.7. pág:200-208.

[15] Handbook of chemometrics and Qualimetrics: part A. D.L. MASSART, B.G.M. VANDEGINSTE, LM.C. BUYDENS.Ed. ELSEVIER.1997.

[16] Handbook of chemometrics and Qualimetrics: part B. D.L. MASSART, B.G.M. VANDEGINSTE, LM.C. BUYDENS.Ed. ELSEVIER.1997.

[17] Analyse of Fourier et applications. Gasquet, Claude; Witomski, Patrick.Université de Grenoble I, Dunod .1996.

[18] Análisis de Fourier. HSU, Hwei P. Ed. Addison Wesley Iberoamérica, 1987.

[19] - G. R., Murillo, R., & Pérez, J. L. (s.d.). Espectroscopías Infrarroja y Raman.

[20] - Serna, C. J.; Agulló, F.; Sanz, J. (1993): «Espectroscopía IR. Visible y U. V. Espectroscopia Raman. Resonancia Magnética Nuclear». Introducción a la Ciencia de Materiales. J. M. Albella, Editado por A. M. Cintas, T. Miranda y J. M Serratos. CSIC, Madrid. 691 – 693. ISBN: 8400073436.

[21] S.S.A. Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables para farmacias y público en general.NOM-177SSA1-1998.

[22] <http://es.drugsbroker.com/albendazol-precio-espana.html>

[23] <http://nomenclator.org/medicamento/eskazole-400mg-60-comprimidos.html>