UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARIO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE QUIMICA Y FARMACIA

TRABAJO INVESTIGATIVO PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIATURA EN QUÍMICA

TITULO: Cuantificación de la masa (mg) de Ivermectina en producto terminado del medicamento Max-Iver, por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en los laboratorios de PANZYMA entre los meses comprendidos de Junio y Octubre del año 2011

PRESENTADO POR:
Br. Victor José Mercado Hernández
Br. Franklin Antonio Vargas Membreño

Coordinador del seminario de graduación: Ing. José Luis Suazo

Managua, Noviembre 2011.

ÍNDICE DE CONTENIDO PAG

DEDICATORIA ..... ***I***

AGRADECIMIENTO ..... ***II***

RESUMEN ..... ***III***

1. ASPECTOS GENERALES ..... ***IV***

1.1 Introducción ***1***

1.2 Antecedentes ***2***

1.3 Justificación ***3***

1.4 Objetivos ***4***

2. MARCO TEÓRICO ***5***

2.1 Fórmula cuantitativa del medicamento Max-Iver ***6***

2.1.1 Método de preparación del medicamento Max-Iver ***6***

2.2 Características físico-químicas y farmacológicas del principio activo del Medicamento Max-Iver ***7***

2.2.1 Mecanismo de acción de la Ivermectina ***7***

2.2.2 Excreción ***8***

2.2.3 Absorción ***8***

2.2.4 Distribución ***8***

2.2.5 Metabolismo ***8***

2.2.6 Toxicidad ***8***

2.2.7 Dosificación ***9***

2.3 Impacto ambiental ***10***

2.4 Métodos de detección ***10***

2.5 Cromatografía líquida de alta resolución ***10***

2.6 Componentes básicos en un equipo HPLC ***11***

2.6.1 Sistema de suministro de la fase móvil ***11***

2.6.2 Métodos de filtración de solventes en HPLC ***11***

2.6.3 Métodos de desgasificación de solventes en HPLC ***12***

2.6.4 Sistema de bombeo de la fase móvil ***12***

2.6.5 Inyectores ***13***

2.6.6 Pre columnas ***14***

2.6.7 Columna ***14***

2.6.8 Detectores ***14***

2.7 Detectores basados en una propiedad del soluto…….. 15
2.7.1 Detectores de Absorbancia…… 15
2.7.2Detectores de Fluorescencia…….. 16

2.8 Detectores basados en una propiedad de la disolución…….. 16
2.8.1 Detectores de Índice de refracción…….. 16
2.8.2 Detector de dispersión de luz…… 16
2.8.3 Detectores Electroquímicos…… 16
2.8.4 Detectores por espectrometría de masas…….. 16

2.9 Problemas más comunes encontrados en HPLC…….. 17
2.9.1 Presión alta…….. 17
2.9.2 Pérdida de la resolución…….. 17
2.9.3 Picos Hendidos…… 17
2.9.4 Variación en los tiempos de retención…… 17
2.9.5 Variaciones de la línea base…….. 19
2.9.6 Línea base con mucho ruido…….. 18
2.9.7 Picos Falsos (Detectores Electroquímicos y de Fluorescencia)…….. 18
2.9.8 Baja o Ninguna Presión…… 18

3. DISEÑO METODOLÓGICO…….. 19
3.1 Ubicación del área de estudio…….. 20
3.2 Tipo de estudio…… 20
3.3 Universo y Muestra…….. 20
3.4 Metodología analítica para la identificación y cuantificación de ivermectina por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)…….. 20
3.4.1 Alcance…… 20
3.4.2 Precauciones de seguridad…… 20
3.4.3 Condiciones ambientales…… 21
3.4.4 Principio…… 21
3.4.5 Calibración…… 21
3.4.6 Control de calidad…… 21
3.4.7 Reactivos y materiales…….. 22
3.4.8 Aparatos y equipos…….. 22

ÍNDICE DE CONTENIDO PAG

4. METODOLOGÍA ANALÍTICA ***23***

4.1 Procedimiento ***24***

4.1.1 Preparación de la solución del estándar de referencia ***24***

4.1.2 Preparación de la solución de la Muestra ***24***

4.1.3 Sistema Cromatográfico ***25***

4.2 Cálculos ***26***

4.2.1 Cálculos para la Valoración o Cuantificación ***26***

4.3 Reporte de resultados ***26***

4.3.1 Identificación ***26***

4.3.2 Cuantificación ***26***

4.4 Criterios de aceptación ***26***

4.4.1 Identificación ***26***

4.4.2 Análisis Cuantitativo ***27***

4.5 Registros ***27***

5. ANALISIS DE RESULTADOS ***28***

5.1 Cuantificación de la masa en miligramos (mg) de ivermectina en producto terminado del fármaco Max-Iver ***29***

5.2 Concentración de ivermectina en muestras de Max-Iver ***37***

5.2.1 Determinación de la concentración de ivermectina en las muestras ***37***

6. CONCLUSIONES ***49***

7. RECOMENDACIONES ***51***

8. BIBLIOGRAFÍA ***53***

9. ANEXOS

Anexo Nº1. Figuras

Anexo Nº2. Glosario

DEDICATORIA

A los seres que más amamos, en especial a nuestros padres, quienes nos han inculcado valores morales, espirituales y los medios necesarios para lograr nuestras metas.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a Dios nuestro señor, quien nos ha permitido contribuir con el desarrollo de la ciencia al realizar este trabajo y sobre todo por sus beneficios.

A la empresa PANZYMA LABORATORIES, que colaboró con la realización de este estudio, facilitándonos la información requerida y a todas las instancias por la oportunidad brindada.

Muy especialmente al coordinador del seminario de graduación Ing. José Luis Suazo.

RESUMEN

Se realiza este estudio con el objetivo de cuantificar la masa en miligramos de ivermectina en el producto terminado del medicamento Max-Iver. La metodología analítica fue realizada en muestras de seis viales del producto terminado del medicamento que contenían 10 mg/g del principio activo, tomadas de distintos lotes (lote 01061113, lote 07081113 y lote 26111113), que contienen 10, 000 unidades cada uno.

Las muestras fueron sometidas a extracción con fase móvil y analizadas por cromatografía liquida de alta resolución (HPLC), el rango de detección del método está establecido entre 90 %-110%. La ausencia de interferencias y la adecuada simetría de los cromatogramas sugieren una buena especificidad del método, la concentración mínima del fármaco.

De las 18 muestras analizadas, 6 fueron detectadas dentro del rango de cuantificación del método, pertenecientes al lote 01061113. Con respecto al lote 07081113, las 6 viales analizadas 4 se detectaron fuera del rango establecido y 2 de ellas dentro de los parámetros permitidos.

Del lote 26111113, las 6 muestras analizadas presentaron concentraciones superiores al rango de detección. Estos resultados demuestran la presencia de una mayor masa de ivermectina en el medicamento y justifica la realización de acciones que optimicen ampliamente la elaboración de estos medicamentos de uso frecuentes en la ganadería, debido a que la alta concentración de ivermectina es un atributo negativo de calidad en el producto en sí.

I. ASPECTOS GENERALES

1.1 INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas el uso de ivermectina se ha convertido en una de las alternativas de tratamiento de mayor eficacia y uso frecuente por parte de los ganaderos, debido a que se trata de un antihelmíntico de amplio espectro activo frente a formas adultas e inmaduras de nemátodos que afectan a los animales de producción.

Debido al uso frecuente de este fármaco, es de vital importancia su cuantificación real en productos terminados, para la cual se utiliza el método más eficaz para el aislamiento y detección de ivermectina como es la cromatografía liquida de alta resolución (HPLC) basada en la formación de un derivado fluorescente captado por la droga en cuestión.

Con el objetivo de dar solución a la problemática que se planteaba la empresa PANZYMA LABORATORIES, se nos permitió colaborar junto al personal de control de calidad en la cuantificación de dicho fármaco, para el cual recolectamos dieciocho viales al azar del producto terminado del medicamento Max-Iver solución inyectable de tres lotes distintos (lote 01061113, lote 07081113 y lote 26111113).

Las muestras analizadas por cromatografía liquida de alta resolución de los tres lotes en cuestión arrojaron concentraciones de ivermectina por encima de los 10 mg establecidos en la elaboración del producto terminado Max-Iver, lo que justifica la realización de este estudio, debido a que una mayor masa de ivermectina en el medicamento implica mayores costos de producción para la empresa en mención.

Así mismo constituye un problema en salud pública si la carne o subproductos comerciales de animales tratados con este medicamento llegan a ser consumidos por el ser humano. En cuestiones ambientales, los altos niveles de excreción de ivermectina en las heces generan efectos potencialmente tóxicos ya que afecta directamente a las poblaciones de insectos que se encargan de degradar la materia fecal y del reciclaje de nutrientes.

1.2 ANTECEDENTES

Estudios realizados por el personal de control de calidad de PANZYMA LABORATORIES: como el efectuado el 05 de mayo de 2010 para la detección de la concentración de Ivermectina mediante el empleo de la Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC en productos veterinarios (como el Max-Iver y el Max-Iver Oro), han resultado 100% eficaces en dichos análisis con un rango de aceptación entre 90 - 110%. Estos análisis demostraron que este método cromatográfico ha permitido reducir significativamente el límite de detección de este fármaco, más rápido que estudios realizados anteriormente por espectrofotometría UV-VIS, en el año 2004 por el mismo personal de control de calidad del laboratorio.

En el laboratorio de farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Chillán, Chile, se efectúo una metodología analítica y detección de residuos de ivermectina en muestras de leche de rebaños Atravez de Cromatografía Líquida de Alta Resolución en la provincia de Ñuble, Chile en el año 2006.

1.3 JUSTIFICACIÓN

La idea de trabajar en la cuantificación de Ivermectina en el medicamento Max-Iver surgió en nosotros ante la necesidad de la empresa PANZYMA LABORATORIES de optimizar la elaboración de dicho producto, el cual presenta desviaciones más arriba del 3% establecido como rango de aceptación.

Debido a que una mayor concentración de masa de Ivermectina puede constituir un problema en la salud pública si la carne o subproductos comerciales tratado con este medicamento llegan a ser consumidos por el ser humano. También por el efecto benéfico residual, ya que afecta directamente a la población de insectos que colonizan la materia fecal que son encargados de su degradación y del reciclaje de nutrientes.

Por tal motivo el personal de control de calidad de la empresa con nuestra participación se decidió a iniciar una serie de análisis, por medio de cromatografía liquida de alta resolución para definir de una vez por todas la cuantificación en mención.

1.4 OBJETIVOS

Objetivo general:

- Cuantificar el contenido de Ivermectina en el medicamento Max-Iver solución inyectable, utilizando cromatografía liquida de alta resolución (HPLC).

Objetivos específicos:

- Calcular el contenido de Ivermectina presente en las muestras, a través de los resultados obtenidos en el análisis por cromatografía liquida de alta resolución (HPLC).

- Realizar el análisis estadístico de los valores obtenidos en la cuantificación de la masa de Ivermectina, efectuada a las muestras tomadas de los tres lotes del medicamento Max-Iver.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Fórmula cuantitativa del medicamento Max-Iver.

El medicamento Max-Iver posee la siguiente composición, cada mililitro contiene:

- Ivermectina (principio activo) ----------10mg
- Propilenglicol(csp)----------1mL

Es un producto muy liposoluble y poco hidrosoluble, por lo que se puede aplicar por todas las vías, siendo las más recomendadas, la subcutánea, intramuscular y por derrame dorsal. Los procesos de absorción, manifiestan diferencias según las vías de aplicación y las especies tratadas.

2.1.1 Método de preparación del medicamento Max-Iver

- Se recepciona el principio activo y excipientes, se verifica de acuerdo a la orden de producción.

- En un tanque de acero inoxidable colocar el 40% de Propilenglicol y calentarlo en un rango de Temperatura 35 – 40° C.

- Una vez obtenida la Temperatura deseada agregar el principio activo y agitar hasta completa disolución de la Ivermectina.

- Se afora al volumen deseado con el Propilenglicol restante y se agita por 45 minutos para su completa disolución.

- Se Toman 2 muestras de 10 mL cada una, se mide pH de la muestra 1 con un pH metro del área estéril y se envía la muestra 2 a control de calidad para medir el pH. El pH de la solución debe estar comprendido entre 5.0 – 8.0.

- Se Pre-filtra la solución en papel filtro número 713, diámetro 38.5 cm.

- Se Procesa el envasado al volumen requerido por el lote.

- Se Envían muestras a control de calidad para realizar los ensayos correspondientes:
  - Aspecto y limpieza.
  - Color.
  - PH.
  - Volumen de llenado.
  - Cuantificación.
  - Densidad

2.2 Características físico-químicas y farmacológicas del principio activo del medicamento Max-Iver

La ivermectina posee una estructura química similar a los antibióticos macrólidos, un análogo semisintético de la Avermectinas B1a (Abacmectina). Está compuesta de una mezcla que contiene como mínimo 80-90 % de 22,23-dihidroavermectina B1a y 10-20 % de 22,23-dihidroavermectina B1b. Los dos homólogos (B1a y B1b) difieren únicamente por un grupo metilo (CH_3-). La ivermectina es 22,23-dihidroavermectina B1 (6, 37, 38). La ivermectina presenta la siguiente estructura química:

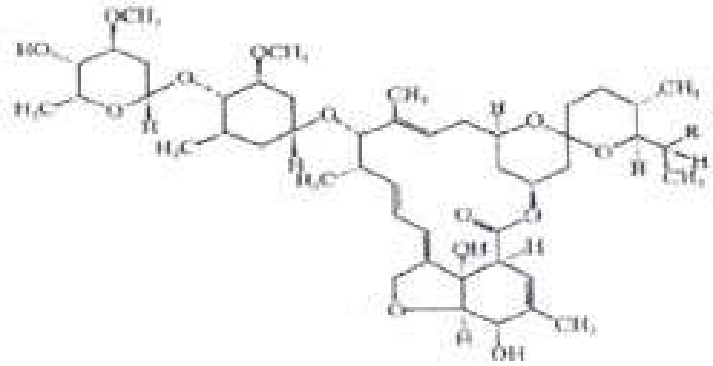


Figura 2.1 Estructura química de la ivermectina

Entre sus características físico-químicas, se encuentra que es un compuesto no polar, posee un alto peso molecular y una gran lipofilicidad, lo que implica que su distribución a través de la circulación sanguínea sea unida a lipoproteínas presentes en el plasma. Así, su gran solubilidad en lípidos implica que el tejido adiposo constituya un sitio de almacenaje desde el cual se libera lentamente; y en donde la gran reserva de grasa presente en ovinos, caprinos, porcinos, vacunos y equinos constituyen un factor limitante en la disposición del agente parasitario.

2.2.1 Mecanismo de acción de la Ivermectina

Es un antiparasitario de amplio espectro contra endoparásitos y ectoparásitos de bovinos, equinos, ovinos, caprinos, porcinos, caninos y felinos. Estimula la liberación del ácido gamma-aminobutírico (GABA) de las terminaciones nerviosas y potencia su unión a los receptores especiales de las conexiones nerviosas. Los impulsos nerviosos se interrumpen, paralizando y matando, por tanto, al parasito. La potenciación del efecto GABA en ácaros tales como garrapatas, piojos y en otros insectos se asemeja a la de los nematodos, excepto que los impulsos nerviosos se interrumpen entre la terminación nerviosa y la célula muscular, dando lugar a parálisis y muerte.

El efecto de la ivermectina frente a trematodos o frente a platelmintos no es mesurable, debido probablemente a que el GABA no actúa como neurotransmisor. El principal neurotransmisor periférico en los mamíferos, la acetilcolina, no se afecta por la ivermectina, y esta no penetra fácilmente en el sistema nervioso central de los mamíferos en donde el GABA actúa como neurotransmisor.

2.2.2 Excreción

La ivermectina se excreta principalmente por las heces. Sin embargo, en hembras en lactancia una fracción significativa del medicamento es expulsada por la leche, en donde tiene una prolongada vida media.

2.2.3 Absorción

La velocidad con que se absorbe la ivermectina y su persistencia en el organismo dependen de la formulación. Adicionalmente, la persistencia también depende de la concentración y dosis administrada.

2.2.4 Distribución

Una vez que el principio activo se absorbe y pasa a la circulación sanguínea, su liposolubilidad es la que determina su distribución, a mayor liposolubilidad mayor distribución. La elevada afinidad de la ivermectina por el tejido adiposo, permite su depósito en el tejido graso e hígado, lo que le otorga al producto el efecto de larga acción o persistencia de la acción antiparasitaria. Después de su administración, la mayor concentración de residuos se localizan en orden decreciente: grasa, hígado, riñón y músculo.

2.2.5 Metabolismo

La ivermectina se metaboliza en el hígado por oxidación e hidrólisis y se elimina principalmente por heces y en menor grado en orina (menos del 5%) como componente no metabolizado. Aproximadamente un 70% de todos los residuos detectados en los diferentes tejidos corresponden al componente primario sin modificación (22-23 dihidroavermectina B1a).

2.2.6 Toxicidad

La toxicidad de la ivermectina se ha presentado raramente en animales; sin embargo, cuando es administrada en concentraciones mucho más altas de las indicadas o en especies muy sensibles, se presentan algunos signos de toxicidad con

efectos a nivel del sistema nervioso central como midriasis, depresión, problemas de locomoción, temblores, parálisis, convulsiones y finalmente la muerte.

Se ha demostrado que el traspaso de este fármaco hacia el cerebro, se encuentra limitado por la barrera hematoencefálica, en donde la glicoproteína-P cumple un rol fundamental. Es la encargada de proteger y limitar que la ivermectina sea capaz de alcanzar las células nerviosas a nivel cerebral y reducir la probabilidad de producir neurotoxicidad.

2.2.7 Dosificación

Bovinos y ovinos:

200 μg/kg P.V. por vía subcutánea en dosis única (equivalente a 0.2 mL/10 kg P.V.), cada mL contiene 10 mg de ivermectina lo cual es suficiente para tratar 50 kg de peso vivo.

Tabla 2.1 Esquema de dosificación en bovinos y ovinos.

Límites de peso (kg)	Volumen de dosis (mL)	Límites de peso (kg)	Volumen de dosis (mL)
51-100	2	301-350	7
101-150	3	351-400	8
151-200	4	401-450	9
201-250	5	451-500	10
251-300	6	501-550	11

Porcinos:

3 mg/kg P.V. por vía subcutánea en dosis única (equivalente a 0.3 mL/ 10 kg P.V.), cada 3 mL es suficiente para tratar 100 kg de peso vivo.

Tabla 2.2 Esquema de dosificación en porcinos.

Límites de peso (kg)	Volumen de dosis (mL)
Hasta 50	1.5
51-100	3
101-150	4.5
151-200	6
201-250	7.5

2.3 Impacto ambiental

Los altos niveles de excreción de ivermectina en las heces generan efectos potencialmente tóxicos para el medio ambiente, ya que afecta directamente a las poblaciones de insectos que colonizan la materia fecal, que son encargados de su degradación y del reciclaje de nutrientes. Se ha evidenciado que en bovinos tratados con ivermectina, existe una disminución en la degradación de heces producidas, comparado con animales que no fueron tratados con estos antihelmínticos.

Se ha demostrado que la administración de ivermectina en bolos de liberación lenta, tiene como consecuencia una disminución evidente en la población de insectos de Neomyia cornicina. La presencia de ivermectina en la materia fecal, afecta el desarrollo y crecimiento de artrópodos, e incluso causa la muerte de formas adultas y larvas en diferentes especies de coleópteros y dípteros.

2.4 Métodos de detección

Existen diferentes procedimientos analíticos por los cuales se puede cuantificar el contenido de ivermectina en los fármacos. Uno de estos métodos, el más eficaz para el aislamiento y detección de ivermectina, es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), basada en la formación de un derivado fluorescente captado por la droga en cuestión.

2.5 Cromatografía líquida de alta resolución

La cromatografía liquida de alta resolución (HPLC) es, dentro de las técnicas cromatográficas, la más utilizada. El proceso de separación cromatográfico puede definirse como la transferencia de masas entre una fase estacionaria y una móvil. La mezcla que contiene los compuestos a separar es disuelta e inyectada en una columna rellena de fase estacionaria a través de la cual es forzada a pasar una fase móvil impulsada por la bomba de alta presión.

Dentro de la columna la mezcla se separa en sus componentes en función de su interacción entre las dos fases. Esta separación puede ser modificada eligiendo adecuadamente tanto la fase móvil como la estacionaria, el flujo de la fase móvil o la temperatura de la separación. De esta forma la técnica de HPLC adquiere un alto grado de versatilidad difícil de encontrar en otras técnicas, siendo capaz de separar los componentes de una gran variedad de mezclas.

2.6 Componentes básicos en un equipo HPLC (Anexos Nº 1, Figura 1)

De forma esquemática los componentes básicos son:

- Sistema de suministro, Inyector , Columna , Detector , Registrador
- Bomba y conductor de la fase móvil

2.6.1 Sistema de suministro de la fase móvil

Se trata de un reservorio o varios reservorios para los disolventes. Sirve para desgasificar y eliminar partículas en suspensión de los disolventes que interfieren formando burbujas en los sistemas de detección.

Hasta los Solventes para HPLC, todos filtrados cuidadosamente en la fábrica, pueden acumular partículas en suspensión que pueden ser perjudiciales a los componentes del sistema HPLC. Estas partículas en suspensión pueden venir de varias fuentes, incluso de la exposición al polvo en el aire durante el trasegado de solvente en el depósito para solvente, la exposición a partículas del aire durante el almacenamiento del solvente en el depósito del solvente, la degradación lenta del solvente en el recipiente, o de condensación y polimerización del solvente. Las partículas pueden ocasionar costosos daños a la bomba HPLC, al guarda columnas, y en general causar desgaste del sistema de HPLC. Los fabricantes de los instrumentos tienen en cuenta este problema y recomiendan que se filtre y desgasifique los solventes HPLC antes de usarlos.

En el instante en que se abre una nueva botella de solvente para HPLC se expone el interior del solvente a la atmósfera y empieza a acumular gases disueltos que se encuentran en la atmósfera. El trasegado del solvente en el depósito de solvente y su almacenamiento en estos depósitos más el Oxígeno disuelto que constituye el 21% de la atmósfera puede producir mayor interferencia en los detectores de fluorescencia y electroquímicos. El Nitrógeno disuelto es el otro componente de la atmósfera que puede producir burbujas en la columna de HPLC y cuando el solvente entra al detector produce picos falsos y desviaciones de la línea base. El Dióxido de Carbono disuelto algunas veces puede ser la causa de los cambios de pH en el sistema de solvente.

2.6.2 Métodos de filtración de solventes en HPLC

Hay tres métodos comunes que se utilizan hoy para la filtración previa de los solventes en HPLC:

- Filtro a la Entrada del Solvente

- Filtración al Vacío
- Filtración en Línea

2.6.3 Métodos de desgasificación de solventes en HPLC

Existen cuatro métodos comunes usados para desgasificar solventes en HPLC previos a su uso:

- Sonificación
- Burbujeo de Helio
- Desgasificación Electrónica en la Línea del Flujo
- Desgasificación al Vacío en Línea

2.6.4 Sistema de bombeo de la fase móvil

Se usan bombas para impulsar a la fase móvil y deben cumplir los siguientes requisitos:

- Deben vencer altas presiones.
- Proporcionar caudales estables entre 0,1 y 10mL/min.
- Deben estar libres de pulsaciones y tener volúmenes muertos pequeños.
- Deben estar construidas de materiales resistentes a la presión y a las agresiones químicas.
- Fácil manejo y mantenimiento.

Se utilizan tres tipos de bombas:

➢ **Bombas recíprocas. (Anexo Nº 1, Figura 2).**

- Las más utilizadas.
- Movimiento cíclico de uno o más pistones con válvulas de entrada y salida.
- Elementos compresibles en el circuito atenúan variaciones.
- 2 Pistones es la opción más adecuada.

- Ventajas: pequeño volumen interno (35 a 400 mL), altas presiones (>10000 psi), fácil adaptación a sistemas por gradiente y caudales constantes e independientes de la contrapresión de la columna y viscosidad del disolvente.

➢ **Bombas de jeringas o desplazamiento. (Anexo Nº1, Figura 3).**

- Cámara con un émbolo impulsado por un motor.
- Ventajas: flujo libre de pulsos, independiente de viscosidad y contrapresión.
- Desventajas: capacidad de bombeo limitada (0.25 L), poco práctica para reposición y cambio de disolvente.

➢ **Bombas neumáticas o de presión constante. (Anexo Nº 1, Figura 4).**

Ventajas: baratas

- Exentas de impulsos.

Desventajas:

- Capacidad limitada y de presión de salida.
- Caudal dependiente de la viscosidad del disolvente y de la contrapresión.
- No sirven para elución con gradiente.
- Presiones menores a 2000 psi.

2.6.5 Inyectores

Son los encargados de introducir la muestra en la cabeza de la columna de forma reproducible y adecuada.

Hay dos tipos de inyectores

- Septum: Inyecta la muestra mediante una jeringa. Se usa poco y no permite mucha presión. (Anexo Nº 1, Figura 5).
- Bucle de muestreo: Este dispositivo normalmente se encuentra integrado en el equipo cromatográfico y existen bucles intercambiables que permiten la elección de tamaños de muestra. (Anexo Nº 1, Figura 6).

2.6.6 Pre columnas

Se colocan delante de la columna para eliminar la materia en suspensión y los contaminantes de los disolventes. La composición del relleno debe ser semejante al de la columna. Aunque el tamaño de partícula es mayor para minimizar la caída de presión. En muchas ocasiones se usan para aumentar la vida de la columna.

2.6.7 Columna

Normalmente son de acero inoxidable de diámetro interno uniforme aunque en ocasiones se encuentran tubos de vidrio de paredes resistentes.

La mayoría de las columnas de cromatografía de líquidos tienen una longitud entre 10 y 30 cm. Generalmente son rectas y se pueden alargar, si es necesario, acoplando dos o más columnas. El diámetro interno de las columnas es a menudo de 4 a 10 mm y los tamaños de las partículas de los rellenos más comunes son 3.5 y 9 µm.

Los empaquetados más comunes son de partículas de sílice pero también se usa la alúmina (Al_2O_3.x H_2O), polímeros porosos y resinas de intercambio iónico.

La columna más utilizada es la de 25 cm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno, empaquetada con partículas de 4 µm. Estas columnas tienen de 40,000 a 60,000 platos/metro.

Desde hace poco, se han empezado a fabricar columnas de alta resolución más rápidas, las cuales tienen menores dimensiones que las anteriormente descritas. Estas columnas pueden tener diámetros internos que oscilan entre 1 y 4.6 mm y se rellenan con partículas de 3 o 4µm. A menudo su longitud es de 3 a 7.5 cm. Pueden tener hasta 100,000 platos/metro y presentan la ventaja de la rapidez y del mínimo consumo de disolvente característica muy importante ya que los disolventes de alta pureza que se requieren en cromatografía de líquidos son muy caros

2.6.8 Detectores

A diferencia de la cromatografía de gases, en HPLC no existen detectores tan universalmente aplicables, ni tan fiables tampoco. En lo que sí coinciden cromatografía de gases y HPLC, es en las cualidades enumeradas en los detectores de cromatografía de gases.

En HPLC existen dos tipos básicos de detectores:

- Los basados en una propiedad de la disolución: Que corresponden a una propiedad de la fase móvil, como el índice de refracción, la constante dieléctrica, la densidad.
- Los basados en una propiedad del soluto: Es decir, responden a alguna de las propiedades del soluto, como la absorbancia UV, fluorescencia, intensidad de difusión, que no son propias de la fase móvil.

Tabla2.3 Detectores más comunes empleados en HPLC

Detector LC	Límite de detección	Permite gradiente
absorbancia	100 pg-1 ng	Si
Fluorescencia	1-10 pg	Si
Electroquímico	10 pg-1 ng	Si
Índice de refracción	100 ng-1 µg	No
Conductividad	500 pg-1 ng	No
Espectrometría de masa	100 pg-1 ng	Si
Dispersión de la luz	10 µg	Si
FT-IR	1 µg	Si
UV/VIS	0.1-1 µg	Si

2.7 Detectores basados en una propiedad del soluto

2.7.1 Detectores de Absorbancia

Miden la absorbancia de los efluentes de una columna cromatográfica. Muchos detectores de absorbancia son dispositivos de doble haz, uno de los haces pasa por la cubeta de flujo y el otro a través de un filtro que reduce su intensidad.

Para comparar las intensidades de los dos haces se usan detectores fotoeléctricos contrastados. En cualquier caso, el cromatograma consiste en una representación en función del tiempo del logaritmo del cociente de las dos señales translúcidas. También se utilizan instrumentos de un solo haz, en cuyo caso, las medidas de intensidad del disolvente se almacenan en la memoria de un ordenador y al final se recuperan para el cálculo de la absorbancia.

2.7.2 Detectores de Fluorescencia

La fluorescencia es detectada por medio de un detector fotoeléctrico colocado perpendicularmente respecto al haz de excitación. Los detectores más sencillos utilizan una fuente de excitación de mercurio, y uno o más filtros para aislar la radiación fluorescente.

2.8 Detectores basados en una propiedad de la disolución

2.8.1 Detectores de Índice de refracción

Los detectores de índice de refracción tienen la ventaja de que responden a casi todos los solutos. Es decir, son detectores universales análogos a los detectores de llama en cromatografía de gases. Se añade que son fiables, no dependen del caudal, son muy sensibles a los cambios de temperatura, se han de mantener a una temperatura constante, por otra parte, no son tan sensibles como la mayoría de los otros detectores, por lo general no se pueden utilizar en la elución con gradiente.

2.8.2 Detector de dispersión de luz

El efluente de la columna pasa a un nebulizador donde se convierte en una fina niebla gracias a un flujo de nitrógeno o aire. Estas finas gotitas pasan por un tubo de conducción a una determinada temperatura de forma que se evapora la fase móvil y se originan partículas de analito. Estas partículas pasan a través de un láser y por un fotodiodo de silicio se detecta la radiación dispersada perpendicularmente al flujo. Su principal ventaja es que resulta ser más sensible que el detector de índice de refracción.

2.8.3 Detectores Electroquímicos

Actualmente hay varios tipos de detectores electroquímicos, que se basan en cuatro métodos: Amperometría, Voltamperometría, Coulombimetría, Conductimetría (unidad de medición el Ohm).

2.8.4 Detectores por espectrometría de masas

Consiste en el acoplamiento de la cromatografía de líquidos con la espectrometría de masas. De forma general se pueden obtener tanto cromatogramas a tiempo real como reconstruidos por ordenador hasta los espectros de los picos eluidos.

2.9 Problemas más comunes encontrados en HPLC

Esta es una lista de los problemas normalmente encontrados en HPLC, sus posibles causas, y cómo solucionarlos.

2.9.1 Presión alta

- Posible causa*:* Obstrucción de la Columna de HPLC o Guarda Columna por partículas.

- Solución: Invertir la Columna y Enjuagar con solvente, teniendo la columna desconectada del detector. Si esto no funciona se reemplaza el filtro a la entrada de la columna. Si la presión sigue alta se reemplaza la columna.

- Solución a largo plazo*:* Asegurarse que todas las fases móviles se filtren apropiadamente antes que entren a la bomba de HPLC. También filtrar todas las muestras antes de inyectarlas.

2.9.2 Pérdida de la resolución

- Posible causa*:* Obstrucción de la Columna de HPLC ó del Guarda Columna por partículas.

- Solución a largo plazo: Filtrar todo antes que se introduzcan las fases móviles en el sistema de HPLC.

2.9.3 Picos Hendidos

- Posible causa: Obstrucción de la Columna de HPLC o del Guarda Columna por partículas.

- Solución a largo plazo: Filtrar todo antes que se introduzcan las fases móviles en el sistema de HPLC.

2.9.4 Variación en los tiempos de retención

- Posible causa: Aire atrapado en la bomba debido a gases disueltos en fase móvil.

- Solución: Bombear primero el aire atrapado y desgasificar las fases móviles apropiadamente.

- Solución a largo plazo: Asegúrese que la fase móvil esta apropiadamente y adecuadamente desgasificada. Se usa desgasificación electrónica en línea, se

asegura la cadencia del flujo y si no es apropiada, se evita la desgasificación completa de la fase móvil.

2.9.5 Variaciones de la línea base

- Posible causa: Burbujas del aire atrapados en la celda del detector debido a una mala desgasificación de los solventes de la fase móvil.
- Solución: Asegurarse que todas las fases móviles estén debidamente desgasificadas y considerar el uso de un restrictor de la presión a toma de corriente del detector.

2.9.6 Línea base con mucho ruido

- Posible causa: Aire atrapado en celda del detector o en la bomba.
- Solución: Enjuagar el sistema y purgar la bomba de HPLC. Uso de Solventes desgasificados adecuadamente para mantener constante la velocidad de flujo de la fase móvil del sistema.

2.9.7 Picos Falsos (Detectores Electroquímicos y de Fluorescencia)

- Posible causa: Oxígeno Disuelto
- Solución: Desgasificar adecuadamente las fases móviles para reducir la concentración de oxígeno disuelto.
- Solución a largo plazo: Agregar un sistema de filtración al vacío en línea. Periódicamente chequear el nivel de oxígeno disuelto.

2.9.8 Baja o Ninguna Presión

- Posible causa: Trabajar con bombas, sellos o pistones expuestos por mucho tiempo a partículas en suspensión en la fase móvil.
- Solución: Reemplazar los sellos o pistones, si es necesario.

III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación del área de estudio

La cuantificación de la masa de ivermectina en el medicamento Max Iver se realizó en el Crucero municipio de Managua, con los trabajadores de Control de Calidad de la empresa PANZYMA LABORATORIES, la cual consta de las siguientes áreas: 2 Áreas de Vestidores, 4 Áreas de Empaques, Área de Llenado, Área de Control de Calidad, Área de Formulación y Preparación, 3 Áreas de Bodegas y Área de Mantenimiento. Consta de aproximadamente 200 trabajadores. El trabajo se realizo durante el mes de septiembre de 2011.

3.2 Tipo de estudio

Experimental- descriptivo.

3.3 Universo y Muestra

El universo está constituido por 30, 000 unidades del medicamento Max-Iver con numero de lote 01061113, 07081113 y 26111113 con 10,000 unidades cada lote correspondientes.

Por motivo de lo escaso y costoso de los reactivos, en la investigación se estudiarán unas muestras al azar, correspondiente a dieciocho viales conteniendo 10 mL del producto terminado Max-Iver.

El estudio tiene tres fases principales

1- Valoración de las muestras en el laboratorio.
2- Análisis de datos.
3- Conclusión y recomendaciones.

3.4 Metodología analítica para la identificación y cuantificación de ivermectina por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

3.4.1 Alcance

El método propuesto se utiliza para la determinación cualitativa (identificación), y cuantitativa (valoración) de ivermectina por HPLC.

3.4.2 Precauciones de seguridad

Existen precauciones para el uso de los materiales. Estas precauciones son necesarias durante el desarrollo del estudio. La seguridad del personal incluye el uso adecuado de equipos de protección, vestimenta, así mismo deben manipular y

almacenar adecuadamente los reactivos empleados. Los desechos generados durante los análisis deben de colocarse en el lugar correspondiente para evitar accidentes laborales.

3.4.3 Condiciones ambientales

Se debe trabajar a temperaturas menores de 30^0C, preferiblemente entre 20^0C - 25^0C. La humedad relativa entre 35%-45%.

3.4.4 Principio

La ivermectina es una sustancia con grupos cromóforos que se pueden analizar cualitativamente y cuantitativamente por cromatografía liquida de alta resolución y resolverse con técnicas isocráticas en la fase reversa con un material de empaque octadecilo (C18) y leído en la región ultravioleta del espectro electromagnético, usando un detector de longitud de onda variable o red de diodos.

3.4.5 Calibración

- Se calibra cada vez que se realiza ensayo de cuantificación de la ivermectina al menos a estándares de trabajo.
- Se prepara una serie de diluciones de los estándares de trabajo según se indica en la preparación de la solución del estándar de referencia.
- Se prepara con ayuda del software Chemstation la curva de calibración de la concentración de ivermectina en µg/ml contra las áreas de los picos.

3.4.6 Control de calidad

Los parámetros Cromatográficos son los siguientes:

- Se coloca la solución estándar al 100% y se registra el cromatograma. La desviación estándar relativa (DER) de inyecciones repetidas no debe ser más de 3.0% para n= 5 inyecciones. Factor de simetría o de cola T: entre 0.65 a 1.5.
- Se prepara dos muestras de control de calidad, conforme a la preparación de las muestras patrón se inyecta para asegurar que la curva de calibración y los resultados de la muestra se encuentran bajo control.

3.4.7 Reactivos y materiales

- Metanol, grado HPLC
- Agua desmineralizada
- Filtros de membranas de Nylon, tamaño de poro 0.20 µm y diámetro de 25 mm
- Filtros de membranas de Nylon, tamaño de poro 0.45 µm

3.4.8 Aparatos y equipos

- Cromatógrafo Liquido Autosampler agilent technologies, modelo 1200, detector arreglo de diodos, bomba cuaternaria.
- Columnas Pursuit XRS-C18, 150 mm x 4.6 mm, 5µm (VARIAN)
- Balanza analítica Max: 210 g, d= 0.01 mg
- Matraz volumétrico clase A 25 mL
- Pipetas volumétricas clase A 1.0 y 3.0 mL
- Probetas de 25 mL
- Aparatos de Ultrasonido (Baño Ultrasónico BRASONIC)
- Espátula analítica
- Jeringa de vidrio para muestras 3 y 5 mL
- Equipo de filtración de solventes

IV. METODOLOGÍA ANALÍTICA

4.1 Procedimiento

Para este estudio recolectamos dieciocho viales inyectables de 10 mL c/u del producto terminado Max-Iver al azar tomadas de distintos lotes (lote 01061113, lote 07081113 y lote 26111113), que contienen 10,000 unidades cada uno. Realizamos los ensayos en las muestras previamente homogenizadas con dos analistas en 02 días diferentes para cuantificar la ivermectina expresada en mg/g, con cada analista realizamos tres inyecciones de la muestra por día, bajo condiciones de repetibilidad y reproducibilidad. La evaluación correspondió a todo el procedimiento, desde la preparación de la muestra hasta la medición del analito por parte del instrumento.

Utilizamos un Cromatógrafo líquido de alta resolución consistente en un sistema controlador, un módulo liberador de solventes, con unidad de gradiente de baja presión y desgasificador. El sistema además, incluye un horno para columna y un detector espectrofluorométrico arreglo de diodos. La evaluación de la especificidad del sistema se realizó mediante el software del equipo (Chemstation), trabajándose con la solución estándar y las muestras evaluadas.

4.1.1 Preparación de la solución del estándar de referencia

- Se pesa con exactitud 10 mg de Ivermectina (Anexo 1, Figura 8) y se transfiere a un matraz volumétrico de 25 mL.
- Se adiciona 10 mL de fase móvil, se agita y se somete a ultrasonido por 5 minutos.
- Se lleva a volumen con fase móvil, se agita, se mezcla y se afora.
- Se transfiere 3 mL de la solución anterior a un matraz volumétrico de 25 mL (Anexo 1 Figura 9), se lleva a volumen con la fase móvil, se agita, se mezcla y se afora.
- Se filtra con filtros de membrana de Nylon, tamaño de poro 0.02 µm y diámetro de 25 mm (Anexo 1, Figura 10) descartando los primeros 2 mL y se inyecta la solución filtrada.

4.1.2 Preparación de la solución de la Muestra.

- Se transfiere 1 mL de la muestra de ivermectina a un matraz volumétrico de 25 mL.
- Se lleva a volumen con la fase móvil, se agita, se mezcla y se afora.

- Se transfiere 3 mL de la solución anterior a un matraz volumétrico de 25 mL, se lleva a volumen con la fase móvil, se agita, se mezcla y se afora.

- Se filtra con filtros de membrana de Nylon, tamaño de poro 0.20 µm y diámetro de 25 mm descartando los primeros 2 mL y se inyecta la solución filtrada.

4.1.3 Sistema Cromatográfico

Temperatura de la Columna	Ambiente
Longitud de onda analítica	260 nm
Flujo	1.5 mL/min
Volumen de Inyección	20 µL

- Se acondiciona la columna con la fase móvil durante 15 minutos o hasta obtener una línea base estable.

- Se coloca en el cromatógrafo la solución estándar y se registra el cromatograma. La desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3.0% para n= 5 inyecciones.

- Se inyecta por separado volúmenes iguales (20µL) de la solución estándar y de la solución de valoración en el Cromatógrafo, registrar los cromatogramas y se mide la respuesta de pico principal.

  Inyectar conforme a la siguiente secuencia:

Solución de prueba	**N° de inyecciones**
Blanco (fase móvil)	2
Estándar 80%	2
Muestra	2 por muestra analizada
Muestra de Control de Calidad	2
Estándar	1

4.2 Cálculos

4.2.1 Cálculos para la Valoración o Cuantificación.

Se calcula la masa (mg/g ó ppm) de Ivermectina en la muestra tomada por medio de la siguiente formula:

Concentración de Ivermectina (mg/g ó ppm)= $\frac{A_m}{A_s} \; x \; \frac{C_s}{W_m} \; x \; V_m$

Dónde:

A_m: Área del pico de Ivermectina en la muestra.

A_s: Área del pico de Ivermectina en el estándar.

C_s: Concentración de Ivermectina en el estándar, mg/mL.

V_M: Volumen de la alícuota.

W_m: Peso de la muestra, en gramos.

4.3 Reporte de resultados

4.3.1 Identificación

Se reporta el tiempo de retención de la muestra en comparación con el tiempo de retención del estándar de referencia. La diferencia no debe ser mayor al 5.0%.

4.3.2 Cuantificación

Se reporta los resultados como la masa en mg/g o ppm de contenido de la siguiente manera: (mg/g ó ppm) = $\frac{A_m}{A_s} \; x \; \frac{C_s}{W_m} \; x \; V_m$

4.4 Criterios de aceptación

4.4.1 Identificación

El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma de la preparación de valoración que corresponde con el pico principal en el cromatograma de la solución del estándar, según se obtiene en la valoración.

4.4.2 Análisis Cuantitativo

El porcentaje (%) de aceptación debe ser de: 90.0% al 110.0% de la cantidad declarada.

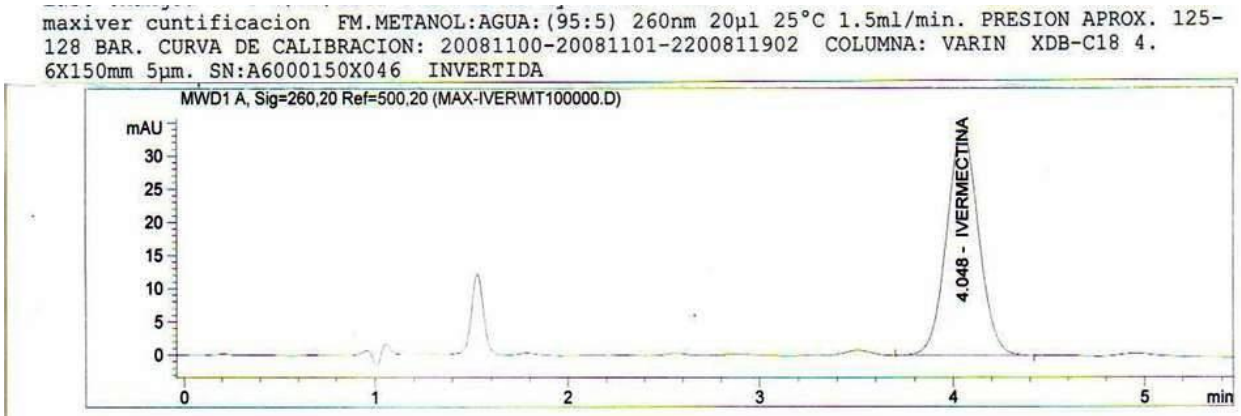
4.5 Registros

- Este procedimiento está almacenado en archivo electrónico bajo la custodia del Gerente de Control de Calidad. Una copia en físico está en manos del responsable de fisicoquímica.
- Los registros que se generan por la aplicación del documento deberá de reflejarse en la bitácora de los equipos utilizados y de Ivermectina.

V. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

5.1 Cuantificación de la masa en miligramos (mg) de ivermectina en producto terminado del fármaco Max-Iver.

La capacidad del método de discriminar entre las muestras y el estándar de referencia con Ivermectina se muestran en los cromatogramas. Se aprecia una adecuada simetría de los picos cromatográficos para una concentración estándar de 48.000 µg/ml de ivermectina y de 48.000 µg/ml para las muestras. El tiempo de retención de Ivermectina fue de 4.048 min., para el estándar de referencia, mientras que los de las muestras están entre 4.112 min-4.131min. La ausencia de interferencias en los tiempos de retención de los analitos sugiere una alta especificidad del método.



External Standard Report

Sorted By	:	Signal
Calib. Data Modified	:	8/20/2011 12:08:08 PM
Multiplier	:	2.0800
Dilution	:	1.0000

Signal 1: MWD1 A, Sig=260,20 Ref=500,20

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [µg/ul]	Grp	Name
4.048	VB	393.34918	1.21651e-1	99.53053		IVERMECTINA
Totals :				99.53053		

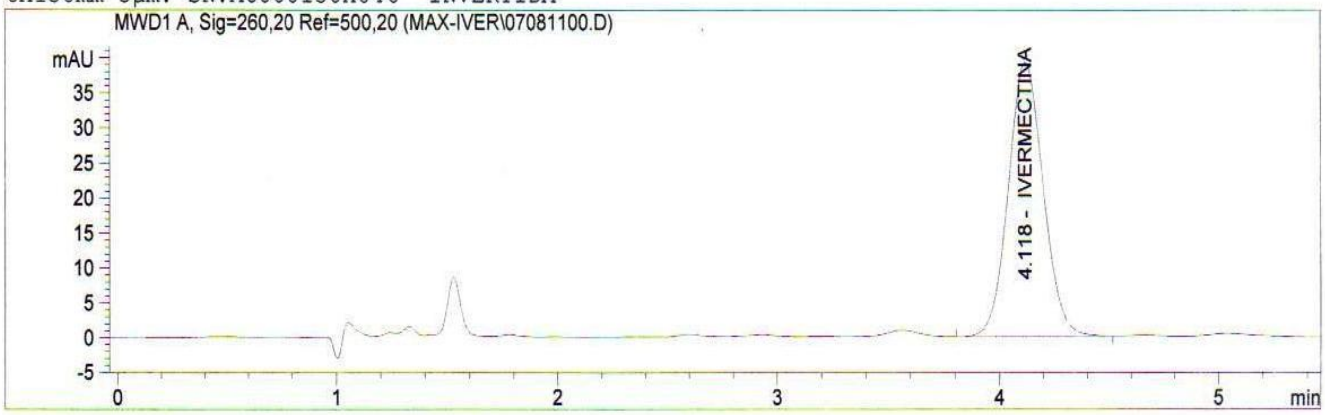
Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura 5.1. Cromatograma del Estándar de Referencia de Ivermectina

En este cromatograma se muestra claramente la pureza del estándar de referencia, dada la perfecta simetría del pico de ivermectina, el cual está identificado dentro del rango de aceptación establecido para este fármaco.

maxiver cuntificacion FM.METANOL:AGUA:(95:5) 260nm 20µl 25°C 1.5ml/min. PRESION APROX. 125-128 BAR. CURVA DE CALIBRACION: 20081100-20081101-2200811902 COLUMNA: VARIN XDB-C18 4.6X150mm 5µm. SN:A6000150X046 INVERTIDA

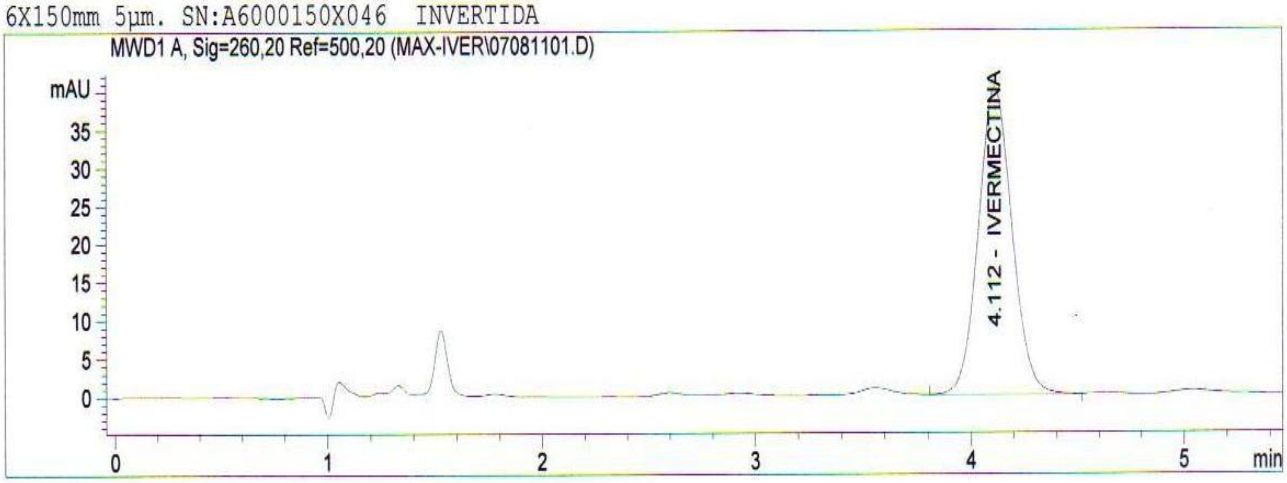



```
================================================================================
                        External Standard Report
================================================================================

Sorted By             :      Signal
Calib. Data Modified  :      8/27/2011 3:06:32 PM
Multiplier            :      2.0800
Dilution              :      1.0000

Signal 1: MWD1 A, Sig=260,20 Ref=500,20

RetTime  Type     Area      Amt/Area    Amount   Grp   Name
 [min]          [mAU*s]                [µg/ul]
-------|------|----------|----------|----------|--|------------------
  4.118 VB      434.01019 1.21598e-1  109.77120    IVERMECTINA

Totals :                              109.77120

 Results obtained with enhanced integrator!
================================================================================
                           *** End of Report ***
```

Figura 5.2. Cromatograma de la Muestra 1 Con Ivermectina

En este cromatograma de la muestra 1 con ivermectina, se puede apreciar que el analito en cuestión es detectado en el rango comprendido para este análisis y que presenta una simetría del pico similar al del estándar.

maxiver cuntificacion FM.METANOL:AGUA:(95:5) 260nm 20µl 25°C 1.5ml/min. PRESION APROX. 125-128 BAR. CURVA DE CALIBRACION: 20081100-20081101-2200811902 COLUMNA: VARIN XDB-C18 4.6X150mm 5µm. SN:A6000150X046 INVERTIDA



External Standard Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 8/27/2011 3:06:32 PM
Multiplier : 2.0800
Dilution : 1.0000

Signal 1: MWD1 A, Sig=260,20 Ref=500,20

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [µg/ul]	Grp	Name
4.112	VB	439.48608	1.21591e-1	111.15033		IVERMECTINA

Totals : 111.15033

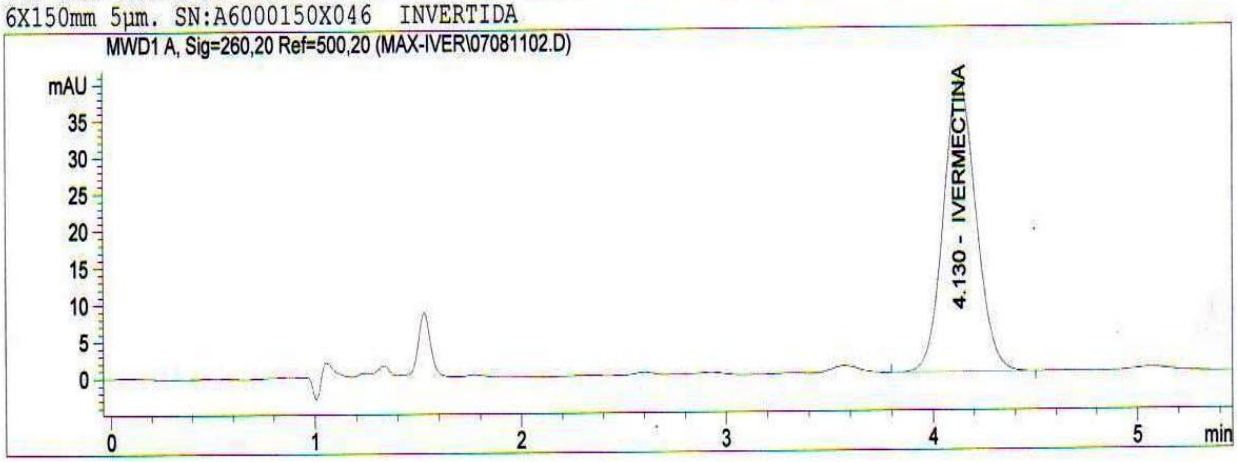
Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura 5.3. Cromatograma de la Muestra 2 con Ivermectina

El cromatograma refleja que el analito en estudio sobrepasa el rango de detección establecido para la ivermectina, lo que nos indica que existe una alteración en el fármaco Max-Iver.

maxiver cuntificacion FM.METANOL:AGUA:(95:5) 260nm 20µl 25°C 1.5ml/min. PRESION APROX. 125-128 BAR. CURVA DE CALIBRACION: 20081100-20081101-2200811902 COLUMNA: VARIN XDB-C18 4.6X150mm 5µm. SN:A6000150X046 INVERTIDA



External Standard Report

Sorted By	: Signal
Calib. Data Modified	: 8/27/2011 3:06:32 PM
Multiplier	: 2.0800
Dilution	: 1.0000

Signal 1: MWD1 A, Sig=260,20 Ref=500,20

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [µg/ul]	Grp	Name
4.130	VP	434.64200	1.21597e-1	109.93033		IVERMECTINA
Totals :				109.93033		

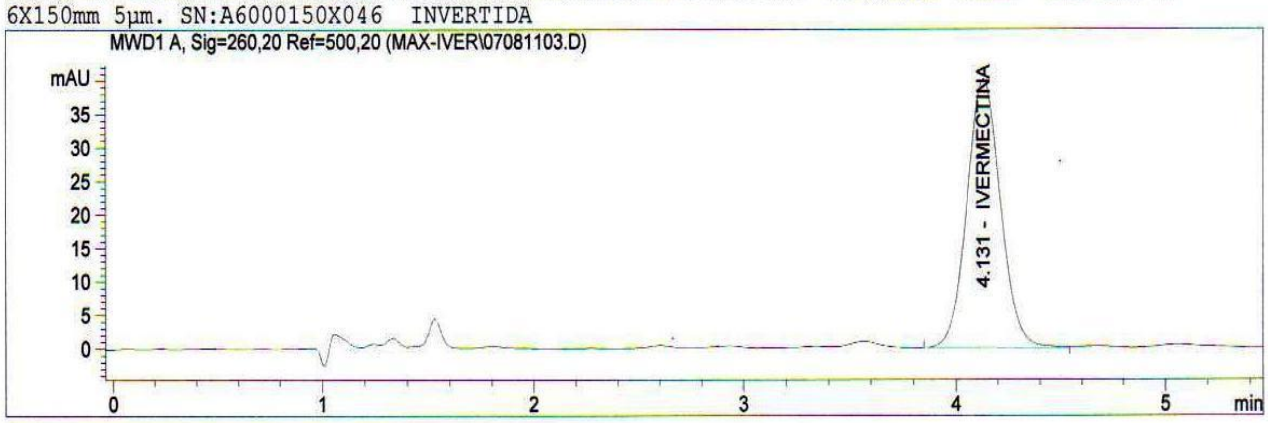
Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura 5.4. Cromatograma de la muestra 3 Con Ivermectina

El cromatograma muestra la adecuada extracción del analito en estudio, la perfecta simetría del pico de ivermectina y su identificación está comprendida en el rango establecido.

maxiver cuntificacion FM.METANOL:AGUA:(95:5) 260nm 20µl 25°C 1.5ml/min. PRESION APROX. 125-128 BAR. CURVA DE CALIBRACION: 20081100-20081101-2200811902 COLUMNA: VARIN XDB-C18 4.6X150mm 5µm. SN:A6000150X046 INVERTIDA



External Standard Report

Sorted By	:	Signal
Calib. Data Modified	:	8/27/2011 3:06:32 PM
Multiplier	:	2.0800
Dilution	:	1.0000

Signal 1: MWD1 A, Sig=260,20 Ref=500,20

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [µg/ul]	Grp	Name
4.131	BB	444.10483	1.21586e-1	112.31359		IVERMECTINA
Totals :				112.31359		

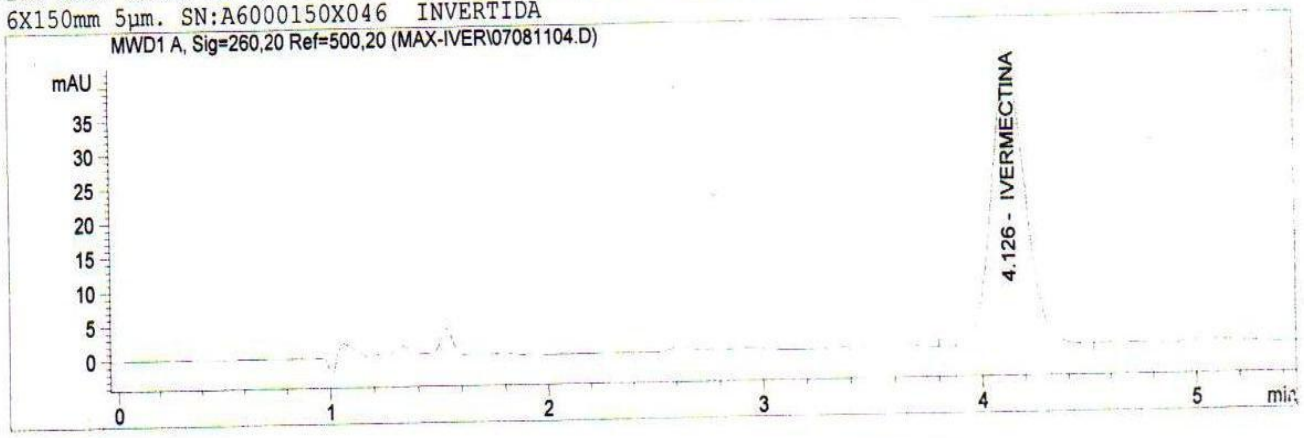
Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura 5.5. Cromatograma de la muestra 4 con Ivermectina

En este caso el porcentaje de aceptación para la ivermectina sobrepasa los 110%, lo cual nos indica una clara alteración en la concentración del analito del producto en estudio.

maxiver cuntificacion FM.METANOL:AGUA:(95:5) 260nm 20µl 25°C 1.5ml/min. PRESION APROX. 125-128 BAR. CURVA DE CALIBRACION: 20081100-20081101-2200811902 COLUMNA: VARIN XDB-C18 4.6X150mm 5µm. SN:A6000150X046 INVERTIDA



External Standard Report

Sorted By	:	Signal
Calib. Data Modified	:	8/27/2011 3:06:32 PM
Multiplier	:	2.0800
Dilution	:	1.0000

Signal 1: MWD1 A, Sig=260,20 Ref=500,20

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [µg/ul]	Grp	Name
4.126	VB	442.38251	1.21588e-1	111.87981		IVERMECTINA
Totals :				111.87981		

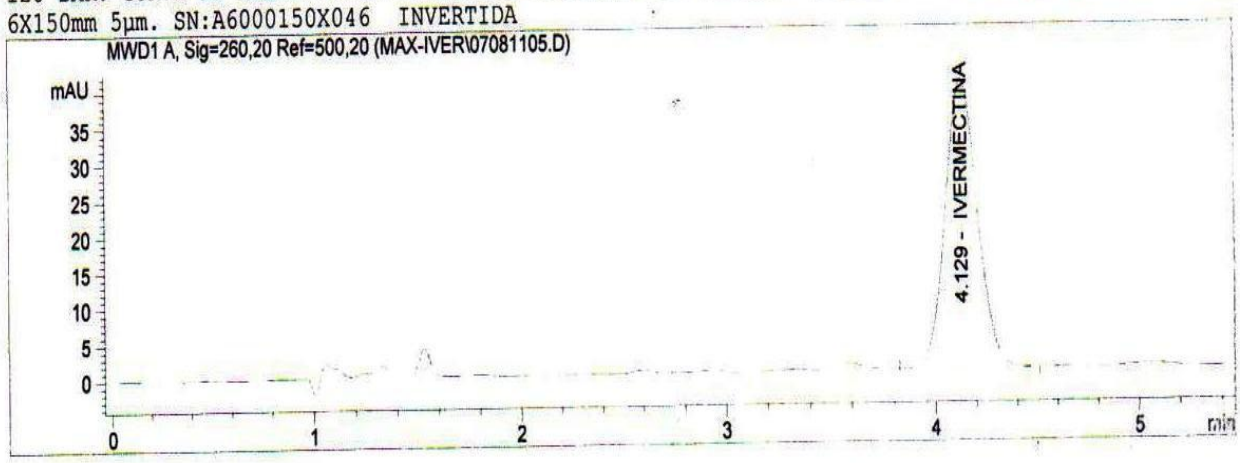
Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura 5.6. Cromatograma de la muestra 5 con Ivermectina

Aquí se observa el mismo comportamiento que presento el cromatograma de la muestra 4, donde se detectó una variación significativa en el rango de detección para la ivermectina.

maxiver cuntificacion FM.METANOL:AGUA:(95:5) 260nm 20µl 25°C 1.5ml/min. PRESION APROX. 125-128 BAR. CURVA DE CALIBRACION: 20081100-20081101-2200811902 COLUMNA: VARIN XDB-C18 4.6X150mm 5µm. SN:A6000150X046 INVERTIDA



External Standard Report

Sorted By	:	Signal
Calib. Data Modified	:	8/27/2011 3:06:32 PM
Multiplier	:	2.0800
Dilution	:	1.0000

Signal 1: MWD1 A, Sig=260,20 Ref=500,20

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [µg/ul]	Grp	Name
4.129	VB	448.44727	1.21581e-1	113.40725		IVERMECTINA
Totals :				113.40725		

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura 5.7. Cromatograma de la muestra 6 con Ivermectina

La extracción del analito es adecuada, pero su identificación se muestra fuera del rango de aceptación, en comparación con el cromatograma obtenido del estándar de referencia.

Calibration Report Options :
Printout of recalibrations within a sequence:
Calibration Table after Recalibration
Normal Report after Recalibration
If the sequence is done with bracketing:
Results of first cycle (ending previous bracket)

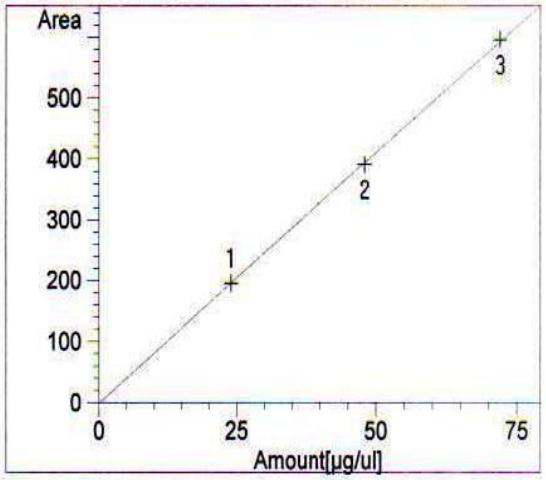
Signal 1: MWD1 A, Sig=260,20 Ref=500,20

RetTime [min]	Sig	Lvl	Amount [µg/ul]	Area	Amt/Area	Ref	Grp	Name
4.077	1	1	24.00000	195.46512	1.22784e-1			IVERMECTINA
		2	48.00000	390.86276	1.22805e-1			
		3	72.00000	595.56525	1.20894e-1			

Peak Sum Table

No Entries in table

Calibration Curves



IVERMECTINA at exp. RT: 4.077
MWD1 A, Sig=260,20 Ref=500,20
Correlation: 0.99993
Residual Std. Dev.: 3.58638
Formula: y = mx + b
m: 8.25872
b: -1.84072
x: Amount[µg/ul]
y: Area

Figura 5.8. Curva de calibración del Estándar de referencia

5.2 Concentración de ivermectina en muestras de Max-Iver

En el Tabla 2, se muestran los resultados de los análisis de las muestras de Max-Iver que fueron obtenidos al azar del tomadas de distintos lotes (lote 01061113, lote 07081113 y lote 26111113), que contienen 10, 000 unidades cada uno.

5.2.1 Determinación de la concentración de ivermectina en las muestras.

Lote: 01061113

$$[m](mg/g \text{ ó } ppm) = \frac{A_m}{A_s} x \frac{C_s}{W_m} x V_m$$

Para la Muestra No.1:

$$[m] = \frac{349.16223}{330.56204} \; x \; \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g} \; x\ 3\ mL = \frac{49.12293\ mg}{3.30562\ g} = 14.860\ mg/g$$

Para la Muestra No.2:

$$[m] = \frac{348.39856}{330.56204} \; x \; \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g} \; x\ 3\ mL = \frac{49.0154\ mg}{3.30562\ g} = 14.827\ mg/g$$

Para la Muestra No.3:

$$[m] = \frac{349.84738}{330.56204} \; x \; \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g} \; x\ 3\ mL = \frac{49.2193\ mg}{3.30562\ g} = 14.889\ mg/g$$

Para la Muestra No.4:

$$[m] = \frac{348.74173}{330.56204} \; x \; \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g} \; x\ 3\ mL = \frac{49.0637\ mg}{3.30562\ g} = 14.842\ mg/g$$

Para la Muestra No.5:

$$[m] = \frac{351.36798}{330.56204} \; x \; \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g} \; x\ 3\ mL = \frac{49.4332\ mg}{3.30562\ g} = 14.954\ mg/g$$

Para la Muestra No.6:

$$[m] = \frac{349.93713}{330.56204}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{49.23195\ mg}{3.30562\ g} = 14.893\ mg/g$$

Lote: 07081113

Para la Muestra No.1:

$$[m] = \frac{434.01019}{393.34918}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{61.0600\ mg}{3.9334\ g} = 15.523\ mg/g$$

Para la Muestra No.2:

$$[m] = \frac{439.48608}{393.34918}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{61.8304\ mg}{3.9334\ g} = 15.718\ mg/g$$

Para la Muestra No.3:

$$[m] = \frac{434.64200}{393.34918}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{61.1489\ mg}{3.9334\ g} = 15.546\ mg/g$$

Para la Muestra No.4:

$$[m] = \frac{444.10483}{393.34918}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{62.4802mg}{3.9334\ g} = 15.884\ mg/g$$

Para la Muestra No.5:

$$[m] = \frac{442.38251}{393.34918}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{62.2379\ mg}{3.9334\ g} = 15.822\ mg/g$$

Para la Muestra No.6:

$$[m] = \frac{448.44727}{393.34918}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{63.0911\ mg}{3.9334\ g} = 16.039\ mg/g$$

Lote: 26111113

Para la Muestra No.1:

$$[m] = \frac{371.14996}{325.41650}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{52.2163\ mg}{3.2541\ g} = 16.046\ mg/g$$

Para la Muestra No.2:

$$[m] = \frac{370.91501}{325.41650}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{52.1832\ mg}{3.2541\ g} = 16.036\ mg/g$$

Para la Muestra No.3:

$$[m] = \frac{370.91501}{325.41650}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{52.1832\ mg}{3.2541\ g} = 16.036\ mg/g$$

Para la Muestra No.4:

$$[m] = \frac{371.74498}{325.41650}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{52.3000\ mg}{3.2541\ g} = 16.072\ mg/g$$

Para la Muestra No.5:

$$[m] = \frac{371.93984}{325.41650}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{52.3274\ mg}{3.2541\ g} = 16.080\ mg/g$$

Para la Muestra No.6:

$$[m] = \frac{370.74170}{325.41650}\ x\ \frac{0.046896\ mg/mL}{0.01\ g}\ x\ 3\ mL = \frac{52.1589\ mg}{3.2541\ g} = 16.028\ mg/g$$

Los valores calculados de la Media, Desviación Estándar y Desviación Estándar Relativa presentes en los viales del medicamento.

Se procede a determinar la media ($\%\bar{P}$) del % de recobro de las muestras de los tres lotes analizados a través de la siguiente ecuación:

$$\%\overline{\boldsymbol{P}} = \frac{\%\boldsymbol{P_1} + \%\boldsymbol{P_2} + \%\boldsymbol{P_3} + \%\boldsymbol{P_4} + \%\boldsymbol{P_5} + \%\boldsymbol{P_6}}{\boldsymbol{n}}$$

Donde:$\%\overline{\boldsymbol{P}}$ = es la media; **n =** es el número de muestras; **% P_1** = es él % de recobro de la muestra 1;**% P_2 =** es él % de recobro de la muestra 2; **% P_3 =** es él % de recobro de la muestra 3; **% P_4 =** es él % de recobro de la muestra 4; **% P_5 =** es él % de recobro de la muestra 5; **% P_6 =** es él % de recobro de la muestra 6.

Una vez calculada la media se procede a determinar la varianza (S^2) del % de recobro de las muestras de los tres lotes analizados a través de la siguiente ecuación:

$$\boldsymbol{S^2} = \frac{(\%\boldsymbol{P_1} - \%\overline{\boldsymbol{P}})^2 + (\%\boldsymbol{P_2} - \%\overline{\boldsymbol{P}})^2 + (\%\boldsymbol{P_3} - \%\overline{\boldsymbol{P}})^2 + (\%\boldsymbol{P_4} - \%\overline{\boldsymbol{P}})^2 + (\%\boldsymbol{P_5} - \%\overline{\boldsymbol{P}})^2 + (\%\boldsymbol{P_6} - \%\overline{\boldsymbol{P}})^2}{\boldsymbol{n-1}}$$

Donde: S^2 = es la varianza; **n =** es el número de muestras;**%P =** es la media del % de recobro del lote;**% P_1 =** es él % de recobro de la muestra 1;**% P_2 =** es él % de recobro de la muestra 2; **% P_3 =** es él % de recobro de la muestra 3; **% P_4 =** es él % de recobro de la muestra 4;**% P_5 =** es él % de recobro de la muestra 5; **% P_6 =** es él % de recobro de la muestra 6.

Determinada la varianza se procede a calcular la desviación estándar (D) del % de recobro de los tres lotes analizados a través de la siguiente ecuación:

$$\boldsymbol{D} = \sqrt{\boldsymbol{S^2}}$$

Donde: D = es la desviación estándar; **S^2 =** es la varianza del % de recobro del lote.

Y por último se determina la desviación estándar relativa (DER) del % de recobro de los tres lotes analizados a través de la siguiente ecuación:

$$\boldsymbol{DER} = \frac{\boldsymbol{D}}{\%\overline{\boldsymbol{P}}}\boldsymbol{x100}$$

Donde: DER = es la desviación estándar relativa; **D =** es la desviación estándar; **%P=** es la media del % de recobro del lote.

Para el lote 01061113 los cálculos correspondientes serian:

$$\%\bar{P} = \frac{105.62683 + 105.39581 + 105.83410 + 105.49963 + 106.29411 + 105.86125}{6}$$

$$= 105.75195$$

$$S^2 = \frac{(105.62683-105.75195)^2+(105.39581-105.75195)^2+(105.83410-105.75195)^2}{6-1}$$

$$= \frac{(105.49963-105.75195)^2 + (106.29411-105.75195)^2 + 105.86125-105.75195)^2}{}$$

$$S^2 = \frac{0.015656 + 0.12683 + 0.00674 + 0.06366 + 0.29393 + 0.01194}{5} = 0.10375$$

$$D = \sqrt{0.10375} = 0.3$$

$$DER = \frac{0.3}{105.75195} x100 = 0.2$$

Para el lote 07081113 los cálculos correspondientes serian:

$$\%\bar{P} = \frac{110.33712 + 111.72924 + 110.49775 + 112.90345 + 112.46559 + 114.00742}{6}$$

$$= 111.99009$$

$$S^2 = \frac{(110.33712-111.990095)^2+(111.72924-111.990095)^2+(110.49775-111.990095)^2}{6-1}$$

$$= \frac{(112.90345-111.990095)^2 + (112.46559-111.990095)^2 + (114.00742-111.990095)^2}{}$$

$$S^2 = \frac{2.73232 + 0.06804 + 2.22709 + 0.83421 + 0.22609 + 4.06960}{5} = 2.03147$$

$$D = \sqrt{2.03147} = 1.42$$

$$DER = \frac{1.42}{111.990095} x100 = 1.26$$

Para el lote 26111113 los cálculos correspondientes serian:

$$\%\bar{P} = \frac{114.05382 + 113.98162 + 113.75231 + 114.23667 + 114.29655 + 113.92836}{6}$$

$$= 114.04155$$

$$S^2 = \frac{(114.05382-114.04155)^2 + (113.98162-114.04155)^2 + (113.75231-114.04155)^2}{6-1}$$

$$= \frac{(114.23667 - 114.04155)^2 + (114.29655 - 114.04155)^2 + (113.92836 - 114.04155)^2}{}$$

$$S^2 = \frac{0.00015 + 0.00359 + 0.08366 + 0.03806 + 0.06502 + 0.01281}{5} = 0.04066$$

$$D = \sqrt{0.04066} = 0.20$$

$$DER = \frac{0.20}{114.04155} x100 = 0.17$$

Se procede a determinar la media ($\bar{P}$) de los pesos de ivermectina de las muestras de los tres lotes analizados a través de la siguiente ecuación:

$$\boldsymbol{\overline{P} = \frac{P_1 + P_2 + P_3 + P_4 + P_5 + P_6}{n}}$$

Donde: $\boldsymbol{\overline{P}}$ = es la media; **n =** es el número de muestras; $\mathbf{P_1}$ = es el peso de ivermectina de la muestra 1; $\mathbf{P_2}$ **=** es el peso de ivermectina de la muestra 2; $\mathbf{P_3}$ **=** es el peso de ivermectina de la muestra 3; $\mathbf{P_4}$ **=** es el peso de ivermectina de la muestra 4; $\mathbf{P_5}$ **=** es el peso de ivermectina de la muestra 5; $\mathbf{P_6}$ **=** es el peso de ivermectina de la muestra 6.

Una vez calculada la media se procede a determinar la varianza (S^2) del peso de ivermectina de las muestras de los tres lotes analizados a través de la siguiente ecuación:

$$\boldsymbol{S^2 = \frac{(P_1 - \overline{P})^2 + (P_2 - \overline{P})^2 + (P_3 - \overline{P})^2 + (P_4 - \overline{P})^2 + (P_5 - \overline{P})^2 + (P_6 - \overline{P})^2}{n - 1}}$$

Donde: S^2 = es la varianza; **n =** es el número de muestras;$\overline{P}$ **=** es la media del peso de ivermectina en las muestras dellote;**P_1 =** es el peso de ivermectina de la muestra 1; **P_2 =** es el peso de ivermectina de la muestra 2; **P_3 =** es el peso de ivermectina de la muestra 3; **P_4 =** es el peso de ivermectina de la muestra 4;**P_5 =** es el peso de ivermectina de la muestra 5; **P_6 =** es el peso de ivermectina de la muestra 6.

Determinada la varianza se procede a calcular la desviación estándar (D) del peso de ivermectina de los tres lotes analizados a través de la siguiente ecuación:

$$D = \sqrt{S^2}$$

Donde: D = es la desviación estándar; **S^2 =** es la varianza del peso de ivermectina de las muestras del lote.

Y por último se determina la desviación estándar relativa (DER) del peso de ivermectina de las muestras de los tres lotes analizados a través de la siguiente ecuación:

$$DER = \frac{D}{\%\overline{P}} x100$$

Donde: DER = es la desviación estándar relativa; **D =** es la desviación estándar; $\overline{P}$**=** es la media del peso de ivermectina del lote.

Para el lote 01061113 los cálculos correspondientes serian:

$$\bar{P} = \frac{14.860 + 14.827 + 14.889 + 14.842 + 14.954 + 14.893}{6} = 14.877$$

$$S^2 = \frac{(14.860-14.877)^2 + (14.827-14.877)^2 + (14.889-14.877)^2 + (14.842-14.877)^2}{6-1}$$

$$= \frac{(14.954-14.877)^2 + (14.893-14.877)^2}{}$$

$$S^2 = \frac{0.00030 + 0.00255 + 0.00013 + 0.00126 + 0.00585 + 0.00024}{5} = 0.00206$$

$$D = \sqrt{0.00206} = 0.063$$

$$DER = \frac{0.063}{14.877} x100 = 0.42$$

Para el lote 07081113 los cálculos correspondientes serian:

$$\bar{P} = \frac{15.523 + 15.718 + 15.457 + 15.884 + 15.822 + 16.039}{6} = 15.740$$

$$S^2 = \frac{(15.523-15.740)^2 + (15.718-15.740)^2 + (15.457-15.740)^2 + 15.884-15.740)^2}{6-1}$$

$$= \frac{(15.822-15.740)^2 + (16.039-15.740)^2}{}$$

$$S^2 = \frac{0.04730 + 0.00050 + 0.08037 + 0.02059 + 0.00664 + 0.08910}{5} = 0.04890$$

$$D = \sqrt{0.04890} = 0.022$$

$$DER = \frac{0.022}{15.740} x100 = 1.39$$

Para el lote 26111113 los cálculos correspondientes serian:

$$\bar{P} = \frac{16.046 + 16.035 + 16.003 + 16.071 + 16.080 + 16.028}{6} = 16.043$$

$$S^2 = \frac{(16.046-16.043)^2 + (16.035-16.043)^2 + (16.003-16.043)^2 + (16.071-16.043)^2}{6-1}$$

$$= \frac{(16.080-16.043)^2 + (16.028-16.043)^2}{}$$

$$S^2 = \frac{4.6944x10^{-6} + 7.8028x10^{-5} + 0.00116 + 0.00073 + 0.00130 + 0.00025}{5} = 0.00080$$

$$D = \sqrt{0.00080} = 0.057$$

$$DER = \frac{0.057}{16.043} x100 = 0.35$$

Tabla 2. Valores de las áreas de los picos del estándar y de las muestras, % de recobro de la muestras y concentración de Ivermectina en las muestras obtenidas en el análisis.

Preparación del estándar (peso (mg)*Pureza/100/25*3/25*1000)

Peso (mg)	Pureza	Concentración final (µg/mL)
10.0	97.7	46.896

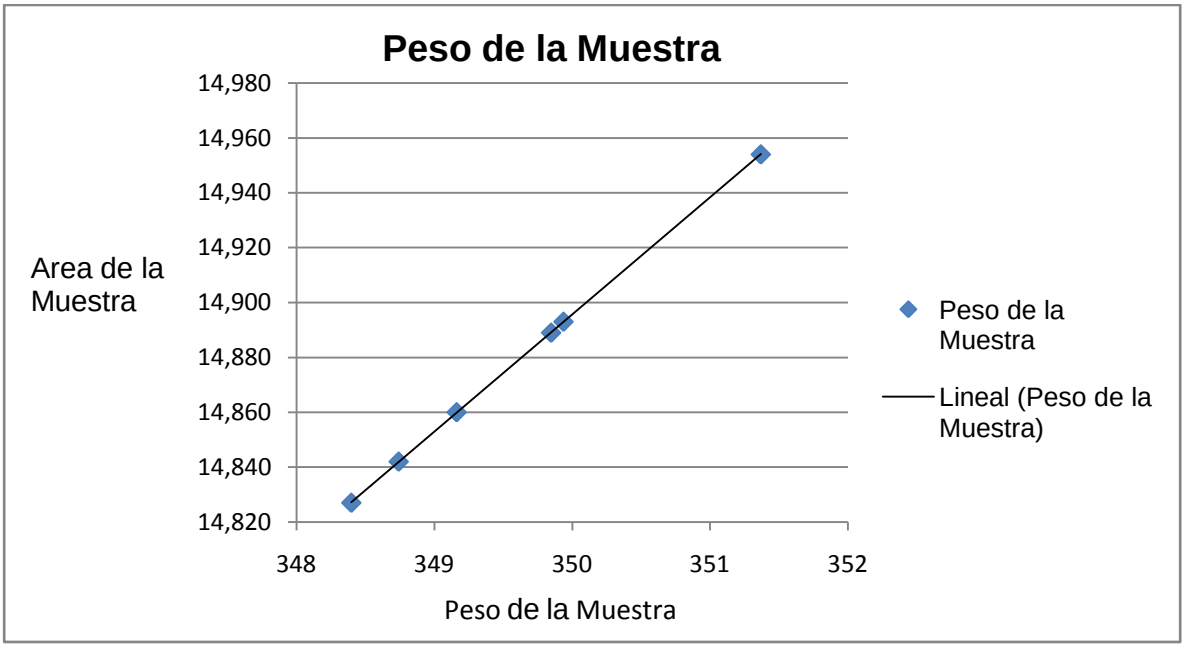
Preparación de la muestra (Volumen (mL)/10*3/25*1000)

Volumen (mL)	Pureza	Concentración final (µg/mL)
1	10 mg/mL	12

				Fórmula: (Área Muestra/Área Std*100)				Formula: (A_m/A_{Std} * C_{Std}/P_m*V_m		
Área del estándar	**Área de la muestra**			**% Recobro de la muestra**				**Peso (mg/g o ppm) de ivermectina en las muestras**		
Lote	**01061113**	**07081113**	**26111113**	**Lote**	**01061113**	**07081113**	**26111113**	**01061113**	**07081113**	**26111113**
330.56204	**349.16223**	**434.01019**	**371.14996**		**105.62683**	**110.33712**	**114.05382**	**14.860**	**15.523**	**16.046**
393.34918	**348.39856**	**439.48608**	**370.91501**		**105.39581**	**111.72924**	**113.98162**	**14.827**	**15.718**	**16.036**
325.41650	**349.84738**	**434.64200**	**370.91501**		**105.83410**	**110.49775**	**113.75231**	**14.889**	**15.546**	**16.036**
	348.74173	**444.10483**	**371.74498**		**105.49963**	**112.90345**	**114.23667**	**14.842**	**15.884**	**16.072**
	351.36798	**442.38251**	**371.93984**		**106.29411**	**112.46559**	**114.29655**	**14.954**	**15.822**	**16.080**
	349.93713	**448.44727**	**370.74170**		**105.86125**	**114.00742**	**113.92836**	**14.893**	**16.039**	**16.028**
				Media	**105.75195**	**111.99009**	**114.04155**	**14.8775**	**15.7405**	**16.04383**
				Desviación Standard	**0.3**	**1.42**	**0.20**	**0.063**	**0.22**	**0.057**
				DER	**0.2**	**1.26**	**0.17**	**0.42**	**1.39**	**0.35**

REPRESENTACIONES GRAFICAS ENTRE EL PESO DE IVERMECTINA Y EL AREA DE LA MUESTRA

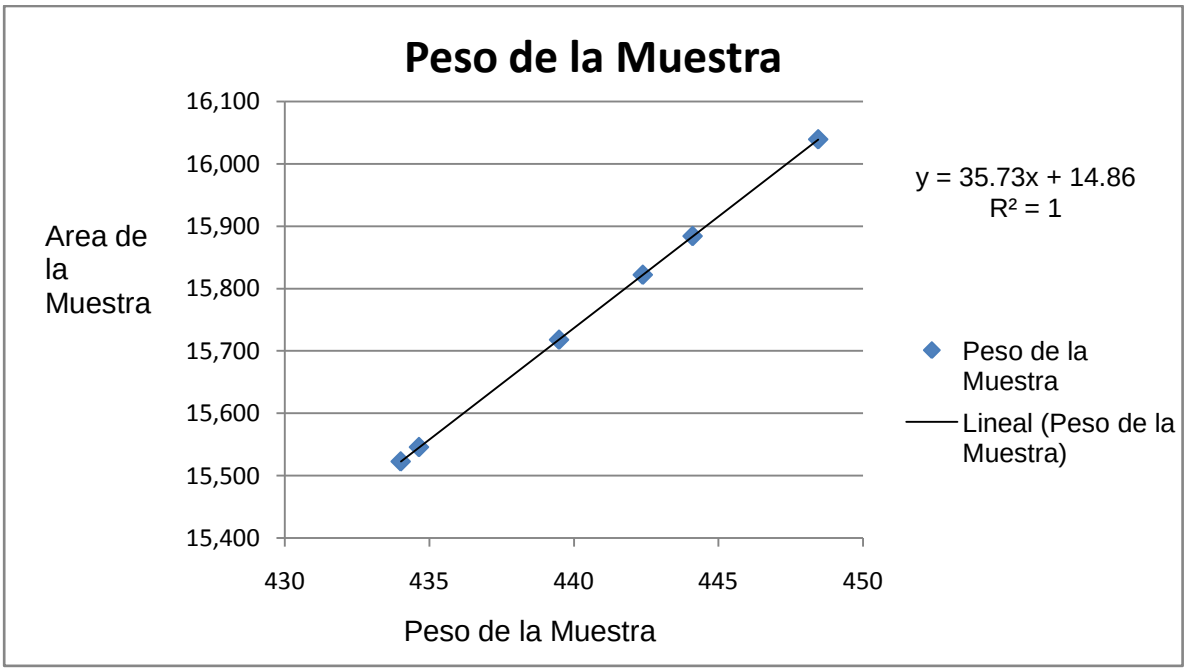
Lote 01061113	
Área de la Muestra	Peso de la Muestra
349.16223	14,860
348.39856	14,827
349.84738	14,889
348.74173	14,842
351.36798	14,954
349.93713	14,893



Curva de la concentración de ivermectina versus el peso de la muestra del lote 01061113 con los datos obtenidos de las áreas de las alícuotas analizadas, y el peso de la muestra

REPRESENTACIONES GRAFICAS ENTRE EL PESO DE IVERMECTINA Y EL AREA DE LA MUESTRA

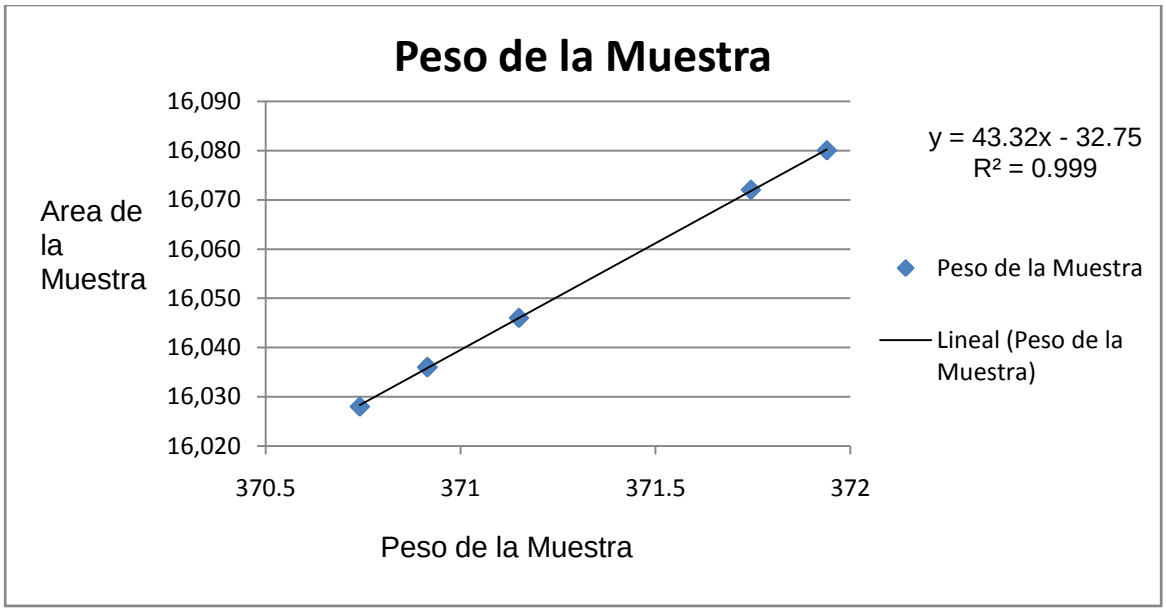
Lote 07081113	
Área de la Muestra	Peso de la Muestra
434.01019	15,523
439.48608	15,718
434.642	15,546
444.10483	15,884
442.38251	15,822
448.44727	16,039



Curva de la concentración de ivermectina versus el peso de la muestra del lote 07081113 con los datos obtenidos de las áreas de las alícuotas analizadas, y el peso de la muestra

REPRESENTACIONES GRAFICAS ENTRE EL PESO DE IVERMECTINA Y EL AREA DE LA MUESTRA

Lote 26111113	
Área de la Muestra	Peso de la Muestra
371.14996	16,046
370.91501	16,036
370.91501	16,036
371.74498	16,072
371.93984	16,080
370.7417	16,028



Curva de la concentración de ivermectina versus el peso de la muestra del lote 26111113 con los datos obtenidos de las áreas de las alícuotas analizadas, y el peso de la muestra

VI. CONCLUSIONES

En base a los cálculos realizados podemos concluir que el contenido de ivermectina en las 18 viales analizadas por cromatografía liquida de alta resolución(HPLC) de los tres lotes del medicamento Max-Iver, se encontraba por arriba de los 10 mg/g de principio activo establecido para su elaboración.

Sustentándonos en el análisis estadístico de los valores obtenidos en la cuantificación de la masa de ivermectina en la muestras analizadas podemos concluir que el peso promedio de las viales del lote 01061113 es de 14.8775 mg, con una tendencia a variar por debajo o por encima de dicho peso en 0.063 mg.

Con respecto al lote 07081113 el peso promedio de ivermectina en las viales es de 15.7405 mg, con una variación de ± 0.22 mg. Y en relación al lote 26111113 el peso promedio es de 16.0438 mg, variando su peso en ± 0.057 mg.

Lo que constituye un problema en salud pública si la carne o subproductos comerciales de animales tratados con este medicamento llegan a ser consumido por el ser humano. En cuestiones ambientales, los altos niveles de excreción de ivermectina en las heces generan efectos potencialmente tóxicos ya que afecta directamente a las poblaciones de insectos que se encargan de degradar la materia fecal y del reciclaje de nutrientes.

Comprobándose que la técnica HPLC entrega una importante ayuda a la determinación de concentraciones de compuestos químicos que se encuentran en las muestras sometidas a esta técnica analítica.

VII. RECOMENDACIONES

En base a las observaciones realizadas durante la elaboración del medicamento Max-Iver, damos las siguientes acciones para optimizar su elaboración:

- Utilización de cristalería graduada y calibrada Tipo A, los cuales no son utilizados en la elaboración de este fármaco.

- Implementación de bitácoras de control para el pesaje de la materia prima y del proceso de llenado del producto para una mejor calibración de los equipos utilizados en el proceso.

- Crear formatos para el procedimiento de llenado del producto para una mejor gestión de la calidad del mismo.

- Estipular un rango de temperatura del producto antes del proceso de llenado que no sobrepase los 50^0C.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1- “Análisis Instrumental” Skoog / Leary - 4ª Ed. McGraw Hill, 1992.

2- “QuímicaAnalítica” Skoog / West / Holler - 6ª Ed. Mc Graw Hill, 1990.

3- “Análisis químico cuantitativo” D.C. Harris. Grupo editorial Iberoamérica, Méjico, 1992.

a. Farmacopea de los Estados Unidos de América/Formulario Nacional USP 33/NF28.

b. Farmacopea Británica 2010.

c. USP DI, TOMO II, paginas 1810-1811, 1996.

d. Farmacología Veterinaria, Sumano-Ocampo, segunda edición, 1994, paginas 288-289.

e. The Merck index of chemicals, Drugs and biologicals, 12ªedición, 1996, pag. 5266, número 5264.

IX. ANEXOS

Figura 1. Esquema de un aparato de HPLC.

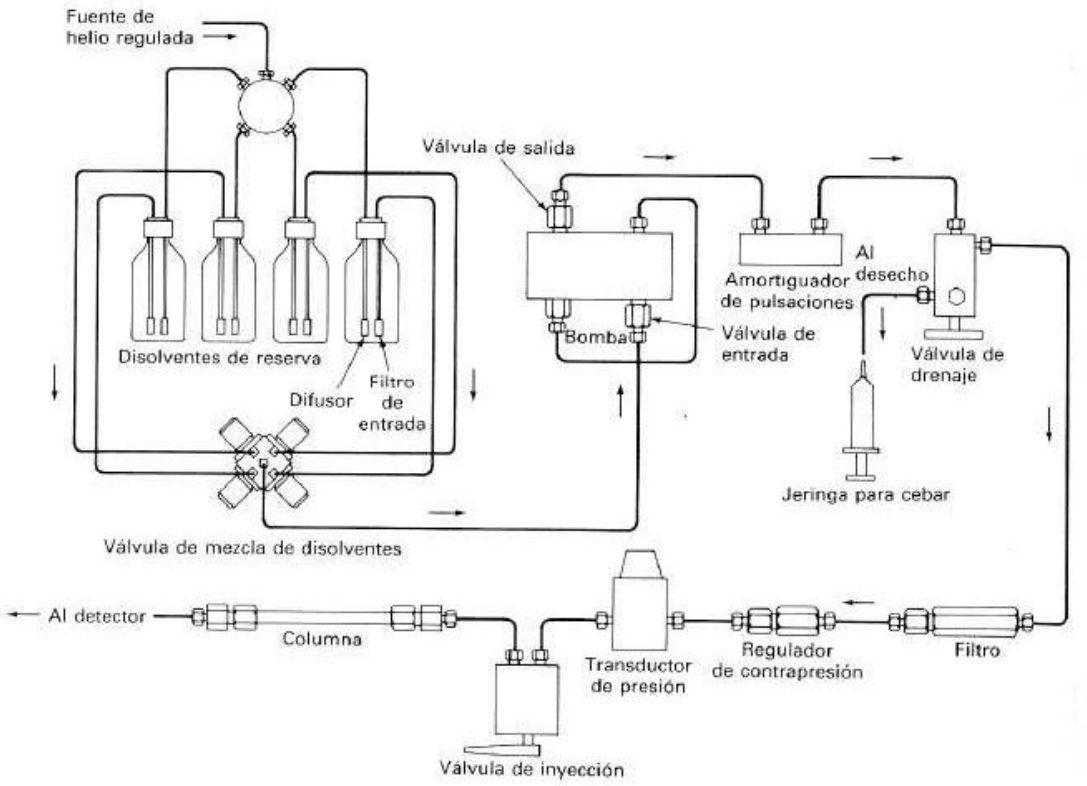


Figura 2. Bomba recíproca.

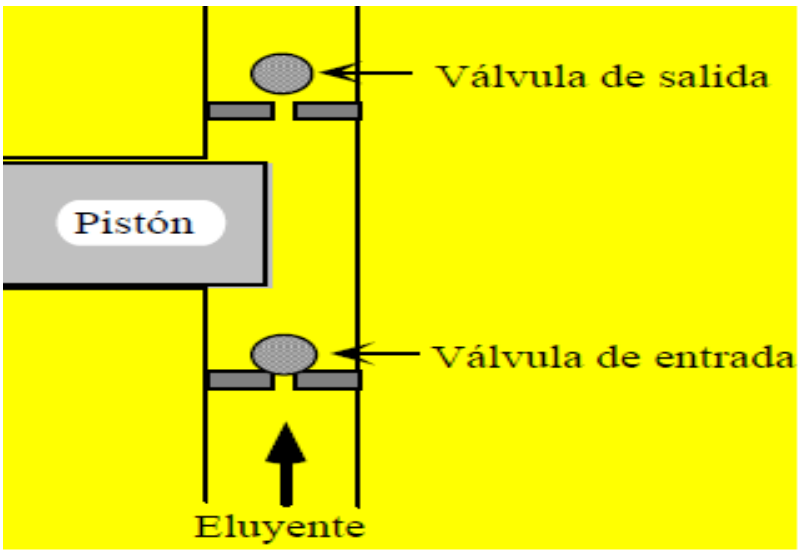


Figura 3. Bomba de jeringas o desplazamiento.

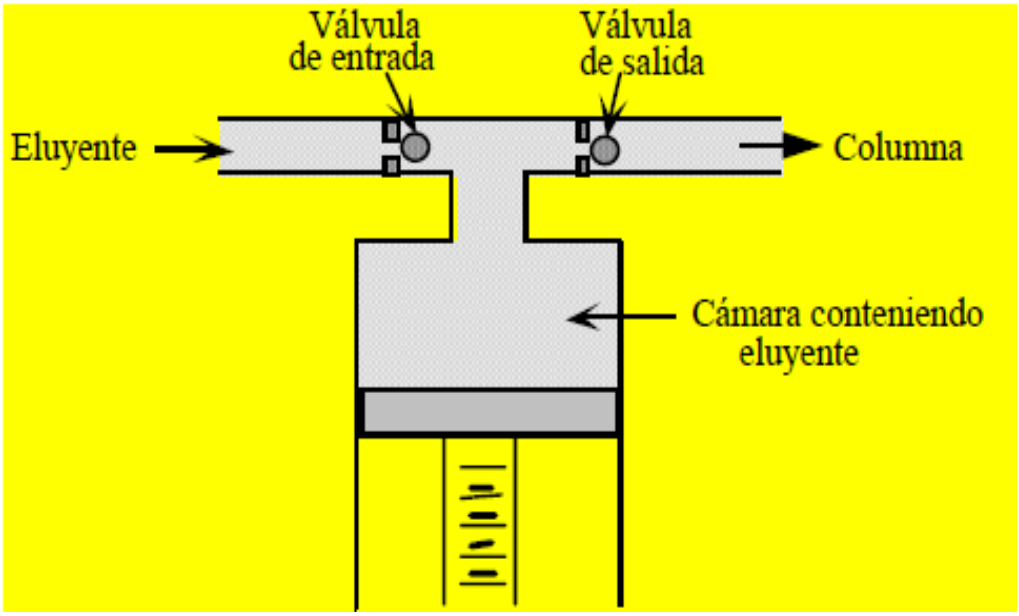


Figura 4. Bomba neumática o presión constante.

Figura 5. Estructura de un inyector Septum.

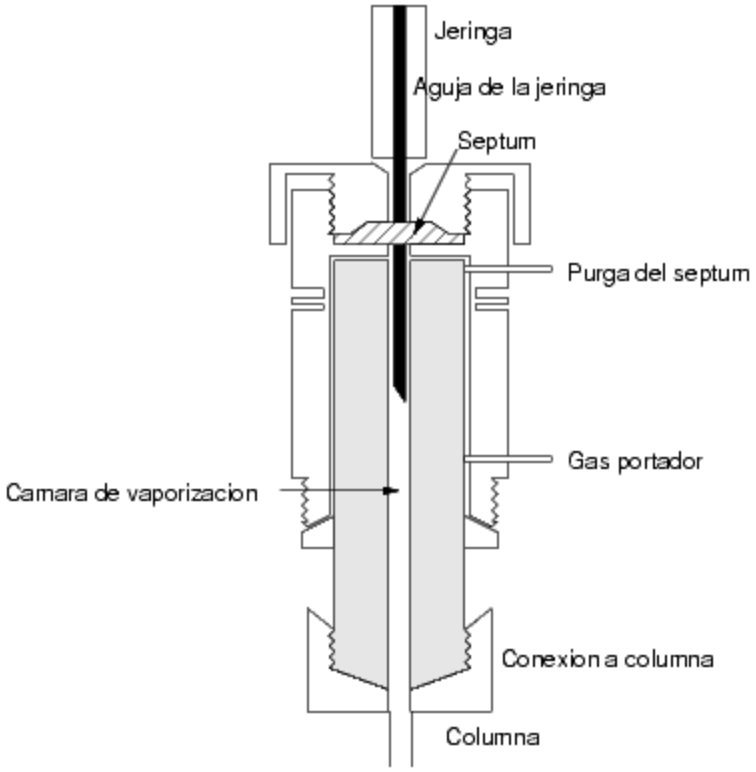


Figura 6. Estructura de un inyector Bucle de muestreo.

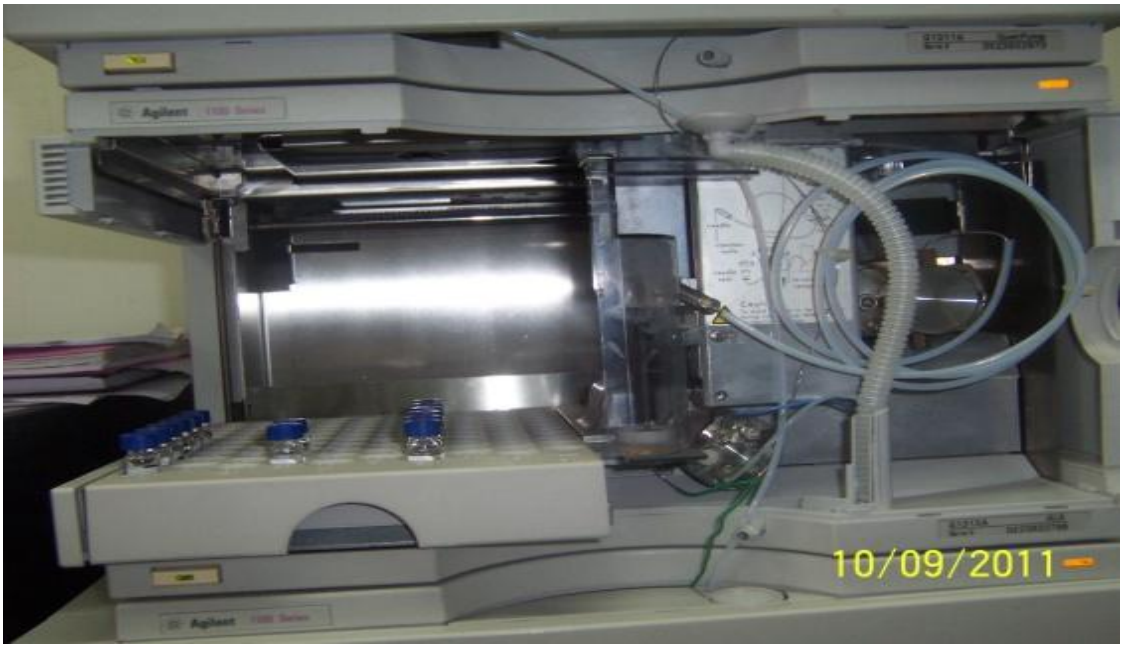


Figura 7. Columna cromatográficas usada en HPLC.

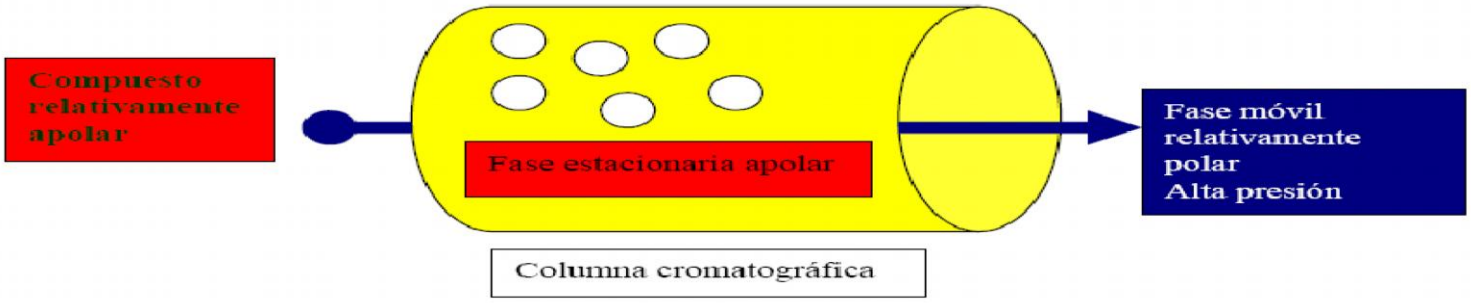


Figura 8. Pesada del Estándar de Referencia

Figura 9. Transferencia de Solución Estándar.

Figura 10. Filtrado de la Solución Estándar.

GLOSARIO:

ÁCIDO GAMMA AMINOBUTÍRICO (GABA): Aminoácido que actúa como neurotransmisor inhibitorio, presente en la zona pre sináptica de las neuronas de prácticamente todo el cerebro. La unión del GABA a su receptor produce una hiperpolarización de la membrana impidiendo la transmisión del impulso nervioso.

ABSORCIÓN: Es un término que define el movimiento de una droga hacia el torrente sanguíneo. La absorción es el enfoque primario del desarrollo de medicinas y en la química médica, puesto que las diversas drogas deben tener la habilidad de ser absorbidas antes de que los efectos clínicos tengan resultados.

ADMINISTRACIÓN PARENTAL: Administración de un medicamento por una vía que evita el paso por el tubo digestivo como los fármacos administrados por inyección.

ANTICUERPOS: (Inmunoglobulinas), son sustancias producidas por los linfocitos, que reaccionan de forma específica contra determinados antígenos.

ANTIGENO: Molécula o estructura molecular, que provoca una respuesta inmunitaria con la activación de los linfocitos T y formación de anticuerpos. Cualquier substancia capaz de provocar una respuesta inmunitaria.

ANTIHELMÍNTICO: Sustancia que destruye los gusanos intestinales.

AVERMECTINAS: Provienen de moléculas que se obtienen de la fermentación del actinomiceto del suelo (bacteria gram positiva) llamado *Streptomyces avermitilis*. Fueron descubiertas desde 1979, pero se comercializaron en 1981 (en medicina veterinaria).

BARRERA HEMATOENCEFÁLICA: Es una barrera entre los vasos sanguíneos y el sistema nervioso central. La barrera impide que muchas sustancias tóxicas la atraviesen, al tiempo que permite el pasé de nutrientes y oxígeno.

BUCLE: Es un tipo de estructura de control que permite repetir una o más sustancias múltiples veces.

CENTRO SILANO: Son compuestos binarios de hidrógeno y silicio que se enlazan generalmente siguiendo la fórmula Si_nH_{2n+2}.

COENZIMA: Una pequeña molécula orgánica que se une a una enzima y es esencial para su actividad, pero no sufre una alteración permanente en la reacción. La mayor parte de las coenzimas derivan metabólicamente de las vitaminas.

COLEÓTEROS: Son una orden de insectos con una 375, 000 especies, se caracterizan por tener un aparato bucal masticador y el par de alas anteriores duras, la mayoría se les conoce comúnmente como escarabajos.

CROMATOGRAFÍA: Es un método físico de separación en el que los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales está en reposo (fase estacionaria) mientras que la otra (fase móvil) se mueve en una dirección definida.

CROMATÓGRAFO: El instrumento empleado para realizar una separación cromatográfica.

CONTRAIÓN: Termino usado en HPLC, cromatografía iónica. Un contraión es un ión que se combina con el ión analito para formar una pareja de iones, que es una especie neutra que es retenida por el relleno de la fase inversa.

CROMATOGRAMA: Es una gráfica de alguna función de concentración de soluto contra el tiempo o el volumen de elución.

DÍPTEROS: Orden a la que pertenecen un numeroso grupo de insectos de metamorfosis completa. Son muy abundantes como la mosca común o casera. Básicamente se dividen en tres tipos: mosquitos, moscas y tóbanos.

EFECTIVIDAD O SELECTIVIDAD DE UNA COLUMNA CROMATOGRÁFICA: Se dice que una columna es efectiva cuando las especies a separar se eluyen a velocidades relativas suficientemente diferentes (los picos están suficientemente separados).

EFICACIA DE UNA COLUMNA CROMATOGRÁFICA: Se dice que una columna es tanto más eficaz cuanto menos sea el ensanchamiento de los picos. La eficacia será mayor cuanta más pequeña sea la altura de plato y mayor sea el número de platos.

ELUCIÓN: Es un proceso en el cual los solutos son lavados a través de una fase estacionaria por el movimiento de una fase móvil.

ELUYENTE: Se trata de un disolvente que se usa para llevar los componentes de una mezcla a través de una fase estacionaria.

ENZIMAS: Proteína fabricada por un organismo vivo, que permite acelerar reacciones químicas o hace posibles aquellas que no se producirán. Dicho de otro modo, catalizador biológico de las reacciones bioquímicas del metabolismo de un ser vivo.

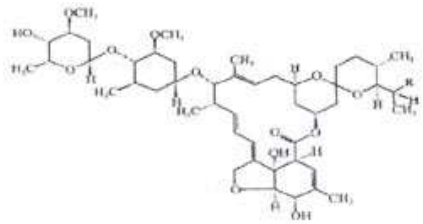
GRADIENTE DE CAUDAL: Es la variación del caudal durante el proceso cromatográfico.

HORMONAS: Sustancias segregadas por células especializadas, localizadas en las glándulas internas o glándulas endocrinas.

INYECTOR: Es sólo una pequeña cámara colocada inmediatamente antes de la columna de separación, donde se accede mediante una jeringa adecuada o con una válvula de inyección. El Inyector es el lugar por donde se introduce una pequeña cantidad de muestra (del orden de 1 cm de gas o 1 micro-litro de líquido) en medio de la corriente de gas. También se encarga de vaporizar las muestras cuando éstas no son gaseosas. Así, la temperatura del inyector ha de ser superior a la del punto de ebullición del componente de la mezcla menos volátil.

ISOCRÁTICA: término utilizado en cromatografía para designar un disolvente o mezcla de disolventes que se utiliza a lo largo de la misma, a diferencia de la cromatografía con gradiente de disolventes.

IVERMECTINA: es un análogo semisintético de la Avermectina B1a (Abacmectina). Está compuesta de una mezcla que contiene como mínimo 80-90 % de 22,23-dihidroavermectina B1a y 10-20 % de 22,23-dihidroavermectina B1b. Los dos homólogos (B1a y B1b) difieren únicamente por un grupo metilo (CH_3-). La ivermectina es 22,23-dihidroavermectina B1 (6, 37, 38). La ivermectina presenta la siguiente estructura química:



MIDRIASIS: Dilatación o aumento del diámetro de la pupila, espontáneo (debido a enfermedades) o farmacológica.

NEMÁTODOS: son gusanos nematelmintos del filo de vermes pseudocelomados. Cuentan con un aparato digestivo con forma de tubo recto, que se extiende a lo largo de todo el cuerpo, existen nematodos de vida libre y otros parásitos de plantas y

animales (incluyendo al hombre). En los seres humanos, los nematodos causan enfermedades como la triquinosis, la toxocariasis y la ascariasis, entre otras.

NEUROTRANSMISORES: Sustancias químicas que liberan los nervios cuando se excitan. Una vez liberados pueden tener efectos sobre otros nervios (activándolos o inhibiéndolos), sobre los vasos sanguíneos (dilatándolos o contrayéndolos), sobre los músculos (contrayéndolos) o sobre los tejidos que rodean a los nervios (pudiéndolos inflamar).

PLASMA SANGUÍNEO: Es la fracción líquida y acelular de la sangre. Está compuesta por 90% de agua, 7% de proteínas y el 3% restante por grasa, glucosa, vitaminas, hormonas, oxígeno, gas carbónico y nitrógeno además de productos de desechos del metabolismo como el ácido úrico. Es el componente mayoritario de la sangre representando aproximadamente el 55% del volumen sanguíneo total.

RECEPTORES: Son proteínas presentes en la membrana plasmática, encargados de percibir los estímulos.

RESOLUCIÓN DE UNA COLUMNA: Parámetro que proporciona una medida cuantitativa de su capacidad para separar dos solutos. Debe ser mayor a 1,5 µm para que se considere buena.

SUSTRATO: Es una molécula sobre la que actúa una enzima.

TIEMPO DE RETENCIÓN: (TR) Es el tiempo entre la inyección de una muestra y la aparición de un pico de soluto en el detector de una columna cromatográfica.

TIEMPO MUERTO: (TM) Es el tiempo que tarda en salir de la columna una sustancia no retenida.

TREMÁTODOS: Gusanos platelmintos, planos, no segmentados de forma foliácea con una ventosa con la que se adhieren al huésped. Producen afecciones al hígado, afectando tanto animales como al hombre.