

1. Resumen

Medicamentos como el Maleato de clorfeniramina son consumidos en grandes cantidades para diversas indicaciones relacionadas con las alergias, y en Guatemala son vendidos con y sin receta, notándose también que por su sencilla formulación son fabricados por muchos laboratorios nacionales como medicamentos genéricos que ofrecen un precio más atractivo a la población en general; estos sin embargo, deben ofrecer la misma calidad que un producto de marca, definida por parámetros farmacotécnicos y por la seguridad y efectividad que se documente durante su uso en pacientes.

Se realizó un estudio observacional analítico en el cual se cuantificó el % de clorfeniramina en tres marcas de jarabe producidas por laboratorios nacionales a través de un método no oficial, validado por Laboratorios Merck, de cromatografía líquida de alta resolución utilizando una columna de intercambio iónico, con el objetivo de comprobar si estos productos cumplían con la cantidad de principio activo declarada en la etiqueta, pues en estudios anteriores realizados en el país se encontró que algunos jarabes medicados comercializados como especialidades farmacéuticas y fabricadas por laboratorios nacionales no cumplieron con todos los parámetros de calidad establecidos.

Se tomaron tres muestras, correspondientes a tres lotes diferentes de tres marcas que son comercializadas actualmente y que fueron registradas en el Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines. Se les realizó en ensayo de identificación y valoración del principio activo.

Se observó que todas las marcas y muestras seleccionadas para el estudio de jarabe de maleato de clorfeniramina cumplieron con el ensayo de identificación. La muestra 2 de la marca identificada como "C" no cumplió con el ensayo de valoración; el resto sí.

Los intervalos de confianza del 95% generados para la media poblacional del % de principio activo de las marcas de jarabe analizadas indicó que es posible encontrar muestras de la marca "C" que no cumplan con el ensayo de valoración (IC 95% = 89.7 – 103.0). Además, luego de evaluar la dispersión entre muestras del % de principio activo de la marca "C" se determinó que es probable que la concentración de clorfeniramina en diferentes frascos de la marca "C" varíe en una gran magnitud.

Al comparar el % de principio activo en las diferentes marcas analizadas, por medio de un análisis de varianza, las medias poblacionales del % de principio activo fueron diferentes.

Con base a los resultados obtenidos se recomendó realizar más investigaciones sobre la calidad de productos farmacéuticos elaborados por laboratorios nacionales; y al ente regulador correspondiente, ejercer un control activo sobre los medicamentos registrados, tomando muestras de productos en anaqueles de establecimientos farmacéuticos que los expenden, para garantizar que durante su comercialización cumplan con los parámetros de calidad particulares.

2. Introducción

La calidad de los medicamentos se debe asegurar en todas las etapas de su manufactura para garantizar su seguridad y efectividad durante su tiempo de vida útil (1). En este sentido, las buenas prácticas de manufactura (BPM) tienen como finalidad unificar criterios orientados a obtener la calidad del producto, verificar su excelencia paso a paso y reproducibilidad lote a lote (2). Esta responsabilidad, compartida por la industria farmacéutica nacional e internacional, implica que todos los medicamentos que actualmente se comercializan (posteriormente al trámite de sus respectivos registros sanitarios), deben ofrecer en todo momento calidad.

Medicamentos como el Maleato de Clorfeniramina son consumidos en grandes cantidades para diversas indicaciones relacionadas con las alergias, y en Guatemala son vendidos con y sin receta, notándose también que por su sencilla formulación son fabricados por muchos laboratorios nacionales como medicamentos genéricos que ofrecen un precio más atractivo a la población en general.

Los procesos de control de calidad, sin embargo, representan costes altos para la Industria Farmacéutica que se traducen como inversión a corto y largo plazo. Es, entonces, tarea constante, buscar la manera de disminuir estos costes de manufactura y garantía de la calidad; por ejemplo, utilizando *metodologías alternativas* que se adecuen a los recursos con los que cuenta una industria particular; así podrían utilizarse metodologías no oficiales siempre y cuando estas hayan sido validadas con anterioridad (1, 2).

Se realizó en este trabajo de tesis una cuantificación de maleato de clorfeniramina en 3 marcas de jarabes elaborados por laboratorios nacionales, a través de un método no oficial, validado por Laboratorios Merck, de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) utilizando una columna de intercambio iónico; a fin de comprobar si estos productos cumplen con la cantidad de principio activo declarada en la etiqueta.

3. Antecedentes

3.1. Estudios Realizados

Valdés (2006) realizó una comparación de una metodología por HPLC contra potenciometría para la cuantificación Alendronato en muestras del Laboratorio Nacional de Salud (LNS), encontrando que la exactitud de ambos métodos fue igual, aunque el método potenciométrico fue más barato y preciso (3).

Batres (2003) evaluó la eficiencia de un método infrarrojo (IR) y otro por HPLC para la cuantificación de vitamina tiamina, B6 y cianocobalamina en inyectables, determinando que ambos fueron igual de eficaces, más el método por IR resultó más económico (4).

Pinzón (2003) implementó una metodología de análisis para Ácido Valproico por HPLC, llegando a definir los parámetros idóneos en cuanto a tipo de columna, condiciones de empaque y fase móvil (5).

García (2003) evaluó la calidad fisicoquímica de jarabes de Acetaminofén manufacturados por 10 laboratorios nacionales. Realizó los ensayos de apariencia, pH, variación de volumen, identidad y concentración del principio activo, determinando que sólo el 40% de las muestras analizadas cumplieran con el ensayo de cuantificación del principio activo; 23% con la cantidad de contenido alcohólico y la mitad con el ensayo de variación de volumen (6).

Villeda (2001) evaluó la calidad fisicoquímica de jarabes de Salbutamol producidos por 15 laboratorios nacionales; para ello realizó los ensayos de apariencia, pH, identidad y cantidad de principio activo, así como la prueba de sulfatos. Determinó que el 84% de las muestras cumplieron con el ensayo de variación de volumen y el 71% con la valoración del principio activo (7).

León (1998) realizó análisis fisicoquímicos de preparados de Amoxicilina en suspensión; estas pruebas incluyeron la identificación, aspecto, pH, variación de volumen, cuantificación de principio activo y resuspendibilidad. Reportó que en general el 56.6% de las muestras no cumplieron la totalidad de los ensayos, específicamente el 80 % no cumplió

con el ensayo de pH, otro 80% con el ensayo de cuantificación y un 93.3% con el ensayo de variación de volumen (8).

4. Justificación

Los alergólogos observan que en la actualidad se ha incrementado a nivel mundial la incidencia de las alergias a los productos alimenticios, tanto en la población adulta como en la infantil. Existen estudios comparativos entre la calidad de vida de personas con alergia a alimentos y personas diabéticas insulino-dependientes en los que se ha observado cómo los hábitos de vida (ambiente familiar, relaciones sociales, escolarización, etc.) de los primeros resultan más afectados (9).

Algunos medicamentos usados para tratar las alergias son considerados productos de venta libre y automedicación por lo que su demanda resulta favorable para los laboratorios farmacéuticos nacionales. En particular los laboratorios prefieren fabricar los de fórmula sencilla como aquellos fabricados únicamente con maleato de clorfeniramina como principio activo.

En Guatemala, se han realizado diversos estudios en los que se han evaluado las propiedades fisicoquímicas de diferentes medicamentos y formas farmacéuticas, luego de su registro y comercialización. Dos estudios realizados en jarabes medicados demostraron que éstos no cumplían con la prueba de cuantificación del principio activo que contenían: el 71% de las muestras de jarabes de Acetaminofén y sólo el 40% de las muestras de Salbutamol, ambos productos fabricados por laboratorios nacionales (6, 7).

El aumento de costos en los medicamentos ha producido un interés por los medicamentos genéricos tanto por factor económico como su fácil acceso. Se evaluaron tres marcas de jarabes de maleato de clorfeniramina en búsqueda de resultados que brindasen evidencia de seguridad y eficacia al público consumidor.

Fue por tanto, fue importante realizar la cuantificación de maleato de clorfeniramina en jarabes elaborados por laboratorios nacionales, a fin de comprobar si estos productos cumplían con la cantidad de principio activo declarada en la etiqueta.

5. Objetivos

5.1. Objetivo General

Cuantificar el Maleato de Clorfeniramina en jarabes elaborados por laboratorios nacionales, a través de un método no oficial Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) utilizando una columna de intercambio iónico.

5.2. Objetivos específicos

Cuantificar el maleato de clorfeniramina en tres marcas de jarabes que lo contienen como único principio activo, a través de un método no oficial, validado por Laboratorios Merck, de cromatografía líquida de alta resolución usando una columna de intercambio iónico.

Evaluar si los productos cumplen con la cantidad de principio activo declarado en la etiqueta.

Establecer si hay diferencia significativa en tres marcas de jarabes elaborados por laboratorios nacionales en relación a su concentración de Maleato de Clorfeniramina.

6. Hipótesis

Los jarabes de clorfeniramina fabricados en laboratorios nacionales seleccionados para el estudio cumplen por igual con la concentración de principio activo declarado en la etiqueta.

7. Materiales y Métodos

7.1. Universo

7.1.1. Universo

Jarabes que contienen maleato de clorfeniramina como único principio activo y que son fabricados por laboratorios farmacéuticos nacionales.

7.1.2. Muestra

Se analizaron 3 marcas de jarabes de maleato de clorfeniramina de laboratorios nacionales. De cada marca se tomaron 3 lotes diferentes.

7.2. Medios

7.2.1. Recursos Humanos

- Autora de la tesis: María de los Ángeles González.
- Asesora de la tesis: Licda. Julia Amparo García Bolaños.
- Revisora: Licda. Lucrecia Martínez.

7.2.2. Recursos Institucionales

Laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Mediproducts, ciudad capital de Guatemala.

Centro de Documentación de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (CEDOF), Universidad de San Carlos de Guatemala.

Biblioteca General de la Universidad del Valle de Guatemala.

Centro de Información de Medicamentos (CEGIMED), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Unidad de Informática y Biometría, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

7.3. Materiales y Equipo

7.3.1. Equipo

- Cromatógrafo Merck Hitachi Lachrom
- Computadora, escáner, impresora;
- Equipo de filtración
- Bomba al vacío
- Balanza analítica
- Gradilla
- Micro espátula
- Estufa con agitador magnético

7.3.2. Materiales

- Filtro Whatman No.1
- Filtro con tamaño de poro 0.2 μm
- Filtro con membrana de nylon 0.45 μm
- Jeringas descartables

7.3.3. Cristalería

- 4 balones de 50 mL
- 2 balones de 100 mL
- 1 balón de 1000 mL
- 2 pipetas volumétricas de 10 mL
- 1 probeta de 100 mL
- 1 probeta de 500 mL
- 1 beaker de 500 mL
- 1 beaker de 1000 mL
- 3 tubos de ensayo
- 3 embudos de vidrio
- Viales de vidrio color ámbar

7.3.4. Reactivos

- Agua destilada
- Agua calidad HPLC
- Acetonitrilo HPLC

- Fosfato monobásico de potasio
- Maleato de clorfeniramina estándar de referencia

7.4. Métodos

7.4.1. Ensayos a Realizar

7.4.1.1. Identificación y Valoración del Principio Activo

a. Preparación de Fase Móvil:

Solución de Fosfatos y Acetonitrilo (60:40)

Se pesaron exactamente 1.632 g de fosfato monobásico de potasio disolverlo en un balón aforado de 1000 mL con 600 mL exactos de agua HPLC, llevar a volumen con acetonitrilo y mezclar por 5 minutos con agitador magnético. Se filtró la mezcla por medio de una membrana de micro fibra de vidrio GF/A 0.45 μm , destacando los primeros mililitros que suele arrastrar componentes de las membranas, se transfirió la fase móvil a un frasco limpio y etiquetarlo (10).

Se pesó 1.369 gramos de fosfato de potasio monobásico (código No. 9) disolver en 500 mL de agua desplatada en un beaker de 1000 mL y se agregó 333.33 mL de acetonitrilo. Luego se mezcló (10).

b. Preparación de los Estándares de Maleato de Clorfeniramina

Se pesaron exactamente 20 mg de estándar de maleato de clorfeniramina en un balón aforado de 50 mL, se disolvieron con 25 mL de solución disolvente y se agitó mecánicamente durante 10 minutos a 300 rpm, se llevó a volumen con el mismo disolvente y se mezcló. Se tomó una alícuota de 10 mL de la solución estándar de maleato clorfeniramina y se transfirió al balón aforado de 100mL llevando a volumen con la solución disolvente y mezclar. Esta

solución contiene una concentración aproximada de 40 ug/mL de maleato de clorfeniramina. Utilizando una jeringa se hizo pasar la muestra por un filtro con tamaño de poro 0.20 μm , se desecharon las primeras 5 gotas, transfiriendo el filtrado a un vial de vidrio color ámbar (10).

c. Preparación de la Muestra

Se midió exactamente el equivalente a 2 mg de maleato de clorfeniramina en un balón aforado de 50 mL, se agregó solución disolvente mezclando y llevando a volumen con el mismo y filtrando con papel filtro Whatman No. 1. Esta solución contiene una concentración aproximada de 40 $\mu\text{g/ml}$ de maleato de clorfeniramina. Utilizando una jeringa se hizo pasar la muestra por un filtro con tamaño de poro 0.20 μm , desechando las primeras 5 gotas, transfiriendo el filtrado a un vial de vidrio color ámbar (10).

d. Criterio de Evaluación

La solución debió contener no menos del 90.0% y no más del 110.0% de la cantidad indicada en la etiqueta para clorfeniramina maleato (10).

e. Repeticiones de las lecturas

Cada lectura se realizó por triplicado y se tomó como valor experimental el valor promedio de las tres medidas (11).

7.4.2. Diseño Metodológico de la Investigación

El presente es un estudio observacional pues no se manipularon las variables de interés; es además un estudio analítico porque se comparó el porcentaje del principio activo en las diferentes marcas del producto (12).

7.4.3. Diseño Estadístico de la Investigación

Las variables estudiadas se organizaron y describieron en gráficas de tuckey (elaboradas en Minitab 14.0) y tablas. Se calcularon medidas de tendencia central y de dispersión para variables cuantitativas (13).

Para evaluar diferencias significativas entre el % de principio activo de las marcas de jarabe muestreadas se realizó primeramente un análisis de igualdad de varianzas, calculándose la Estadística de Levene con el Programa SPSS versión 14. Al determinar que las varianzas de las muestras no eran similares se usó una prueba T3 de Dunnet para comparar las medias del % de Clorfeniramina (13).

Se calcularon intervalos de confianza del 95% para las medias de % de clorfeniramina de las tres marcas de jarabes, utilizando el módulo de análisis de datos de Excel 2007 (13).

7.4.4. Diseño y Método de Muestreo de la Investigación

El muestreo fue no aleatorio, es decir por conveniencia, sin embargo las marcas de jarabes que se analizaron fueron seleccionadas al azar del listado de marcas nacionales registradas en el Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Para dicha selección se asignó a cada medicamento un número correlativo y usando Excel se seleccionaron al azar 3 números correspondientes a tres marcas de jarabes con la condicionante que no se debería repetir alguno de los números correlativos. La elección del número de marcas diferentes fue por conveniencia, a sugerencia de la asesora de la tesis.

Finalmente se adquirieron tres frascos de cada una de las marcas seleccionadas teniendo cuidado que cada uno de los frascos no correspondieran a diferentes lotes de fabricación a manera de aumentar la variabilidad de las muestras; cada medición fue tomada por triplicado para cada uno de los frascos: tres lotes, tres repeticiones.

7.4.5. Análisis e Interpretación de Resultados

Se compararon los resultados numéricos y no numéricos con los parámetros de cumplimiento para cada ensayo establecidos por la USP XXX.

La muestra no cumplió si cualquiera de los ensayos realizados no cumplió.

8. Resultados

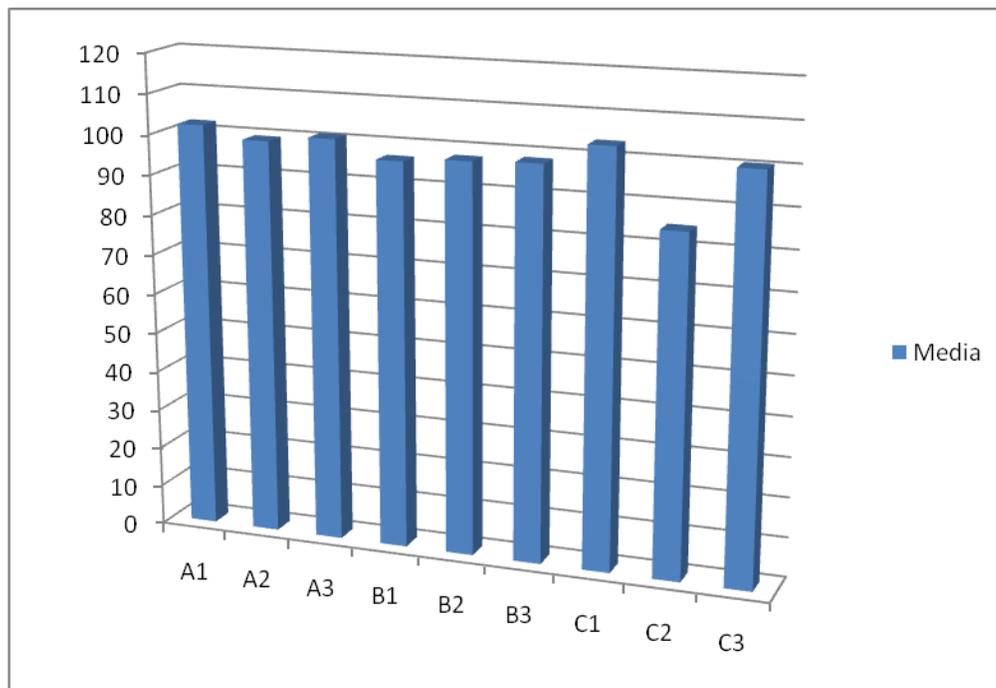
8.1. Descripción de las muestras analizadas

Tabla I. Estadística descriptiva de las muestras analizadas

Muestras	N	Media	Desviación estándar	Error típico	Mínimo	Máximo
A	9	100.78889	1.2869	0.428967	99.15	102.6
B	9	97.58889	0.813472	0.271157	96.3	98.5
C	9	96.33889	8.651726	2.883909	84.5	103.7
Total	27	98.23889	5.23368	1.007222	84.5	103.7

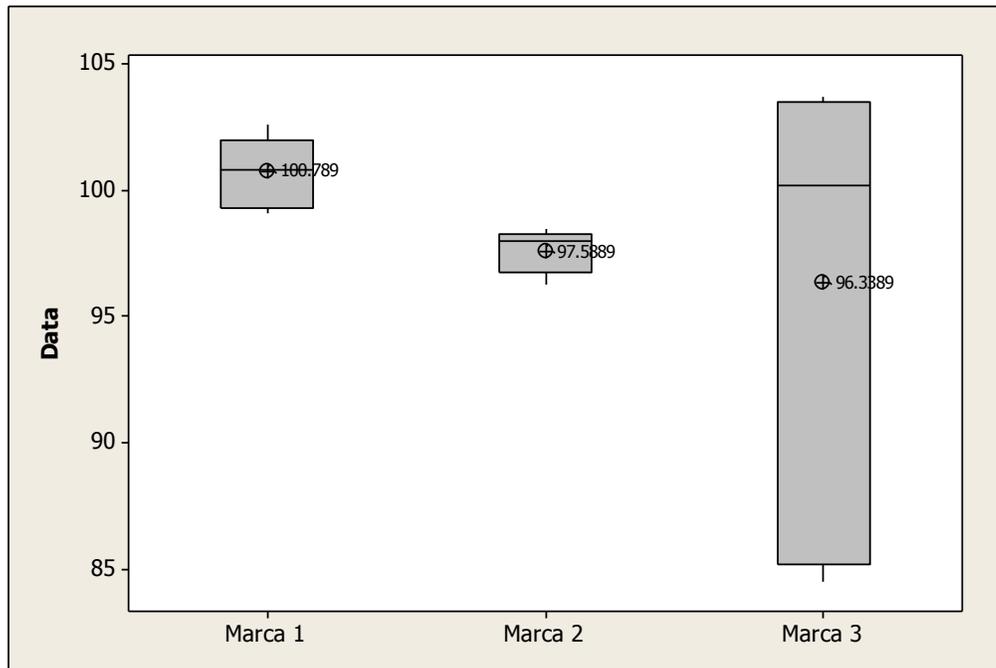
Fuente: base de datos del estudio, elaboración de tabla en SPSS versión 14.

Gráfica I. Media de lecturas de % de clorfeniramina en 9 muestras de jarabe



Fuente: base de datos del estudio, elaboración de tabla en Excel versión 2007.

Gráfica II. Cajas de Tuckey de los % de Clorfeniramina de las marcas de jarabe seleccionadas



Fuente: base de datos del estudio, elaboración de tabla en Minitab versión 15.

Comentario: bajo el criterio de la regla empírica (la media más dos veces la desviación estándar comprenden al 95% de los datos de una distribución normal) no se identificaron datos extremos (dudosos). Es notable la alta dispersión de las concentraciones de principio activo de la marca "C" (marca 3 en la gráfica).

8.2. Inferencias sobre las muestras analizadas

Tabla II. Intervalos de confianza

Marcas	Intervalo de confianza para la media al 95%	
	Límite inferior	Límite superior
A	99.79969	101.77809
B	96.9636	98.21418
C	89.68858	102.98919
Total	96.16851	100.30926

Fuente: base de datos del estudio, elaboración de tabla en SPSS versión 14.

Comentario: Para estimar el valor real de la media poblacional del % de principio activo en los jarabes A, B y C se generaron intervalos de confianza del 95%, se puede observar que la marca "C" puede tomar valores por debajo del límite permisible de la concentración de principio activo (no menos de 90 y no más de 110%).

Tabla III. Prueba de homogeneidad de varianzas de las marcas de jarabe

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
38.646	2	24	.000

Fuente: base de datos del estudio, elaboración de tabla en SPSS versión 14.

Comentario: debido a la dispersión desigual que presentan los diferentes conjuntos de datos (diferentes marcas de jarabe), no se cumplió el criterio de *homocedasticidad*, para evaluar si había diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las muestras por medio de un análisis de varianza en el cual se asuma que las varianzas de los conjuntos de datos no son similares (ver tabla III). Por ello se procedió a utilizar una prueba T3 de Dunnet, con un nivel de significancia del 5%.

Tabla IV. Comparaciones múltiples de las medias muestrales de las marcas de jarabe, Prueba T3 de Dunnet

(I) Marca	(J) Marca	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
A	B	3.200000(*)	.507483	.000	1.82825	4.57175
	C	4.450000	2.915637	.390	-4.09270	12.99270
B	A	-3.200000(*)	.507483	.000	-4.57175	-1.82825
	C	1.250000	2.896628	.961	-7.28480	9.78480
C	A	-4.450000	2.915637	.390	-12.99270	4.09270
	B	-1.250000	2.896628	.961	-9.78480	7.28480

Fuente: base de datos del estudio, elaboración de tabla en SPSS versión 14.

Comentario: Hubo diferencia estadísticamente significativa entre las marcas A y B mas no entre A y C ni C y B.

9. Discusión de Resultados

Se cuantificó la concentración de clorfeniramina en tres marcas de jarabes que contenían esta sustancia como único principio activo, y que fueron fabricados por laboratorios nacionales. Las marcas fueron identificadas como marca “A”, “B” y “C”. De cada marca se obtuvieron 3 frascos que correspondían a 3 lotes diferentes para aumentar la variabilidad en el análisis. Por lo tanto se contó con 9 muestras, de las cuales, luego de homogenizar los frascos se tomaron 3 lecturas de cada frasco, con ello se tenían 27 mediciones.

Todas las muestras cumplieron con el ensayo de identificación del principio activo; sin embargo, como se puede observar en la gráfica I, todas las muestras excepto una de la marca “C” (muestra C2) cumplieron con el ensayo de valoración, según el cual: “La solución deberá contener no menos del 90.0% y no más del 110.0% de la cantidad indicada en la etiqueta para clorfeniramina maleato” (2 mg / 5 mL para todos las marcas de jarabe analizadas). La marca “C” presentó mayor dispersión con relación a la concentración del principio activo, como se puede notar en la tabla I (desviación estándar mayor a 8%) y en la gráfica II; ello sugiere que es probable encontrar mayor variabilidad en la concentración de principio activo para esta marca, es decir, que es probable que la concentración de clorfeniramina en diferentes frascos de la marca “C” varía en una gran magnitud. La media muestral del porcentaje de principio activo de la marca “C” se encontraba, empero, en los límites de aceptación.

Al generarse intervalos de confianza del 95% las marcas “A” y “B” cumplieron con el ensayo de valoración (no menos del 90% y no más del 110%); no así la marca “C”, con un intervalo que iba de 89.7% al 103%, lo cual se interpreta como que es posible que la media poblacional del porcentaje de principio activo de la marca C podría tomar un valor menor de 90%, o que es posible encontrar (con un 95% de confianza) muestras que no cumplan con el ensayo de valoración. La muestra “C”, entonces, en general no cumplió, pero como el intervalo de confianza apenas se aleja del rango de aceptación, se recomienda repetir el ensayo con la marca “C” con un mayor tamaño de muestra.

Luego, se realizó un análisis de varianza para evaluar diferencia estadísticamente significativa entre los % de principio activo de las diferentes marcas de jarabe que se incluyeron en el estudio. Se eligió la prueba T3 de

Dunnet pues al realizar una prueba de *homocedasticidad* (igualdad de varianzas), se obtuvo un estadística de Levene con un valor p menor a 0.05, lo que se interpreta como que las varianzas de las mediciones de las diferentes muestras eran diferentes, y por lo tanto la prueba más adecuada era un análisis de varianza, no paramétrico, en el que se asumiera que las varianzas fueran diferentes. El resultado de este último análisis dio un valor P menor a 0.05, y las comparaciones múltiples establecieron una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras “A” y “B”, mientras “C” presentaba medias similares a “A” y “B”, esto se puede observar también en los diagramas de tuckey (gráfica II). Se recomienda repetir esta investigación con mayor número de muestras pues por la poca cantidad de muestras usadas de cada marca (3 muestras a las que se les hicieron 3 lecturas), no se pudo evaluar la precisión de las medidas de cada marca, y así asumir que se trabajaba con datos uniformes.

Resulta relevante, que de nueve frascos (y apenas tres marcas diferentes) a los que se les hizo el ensayo de valoración, no hayan cumplido todos. Ello hace pensar que el sistema de aseguramiento de la calidad del laboratorio que produce el jarabe “C” no es el correcto: se evidenció además, mucha variabilidad en los datos obtenidos; y que se necesitan acciones por parte del ente responsable del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, para garantizar que los productos de laboratorios nacionales los que se les ha extendido un registro sanitario (y que, por ende, son comercializados actualmente) cumplan con los parámetros de calidad establecidos por la farmacopea de referencia.

10. Conclusiones

- 10.1. Las muestras de los jarabes de clorfeniramina fabricados en laboratorios nacionales seleccionados para el estudio cumplieron con la concentración de principio activo declarado en la etiqueta a excepción de la muestra 2 de la marca identificada como “C”.
- 10.2. Todas las marcas y muestras seleccionadas para el estudio de jarabe de maleato de clorfeniramina cumplieron con el ensayo de identificación.
- 10.3. Sobre la evaluación de la dispersión entre muestras del % de principio activo de la marca “C” se puede afirmar que es probable que la concentración de clorfeniramina en diferentes frascos de la marca “C” varíe en una gran magnitud.
- 10.4. Los intervalos de confianza del 95% generados para la media poblacional del % de principio activo de las marcas de jarabe analizadas indica que es posible encontrar muestras de la marca “C” que no cumplan con el ensayo de valoración (IC 95% = 89.7 – 103.0).
- 10.5. Según la comparación por medio de un análisis de varianza, las medias poblacionales del % de principio activo eran diferentes, particularmente hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las marcas “A” y “B”.

11.Recomendaciones

- 11.1. Repetir el ensayo de valoración del principio activo con un número mayor de muestras de la marca “C”.
- 11.2. Evaluar otros parámetros de calidad de los jarabes de maleato de clorfeniramina de la marca “C”.
- 11.3. Realizar más investigaciones enfocadas a la medición de la calidad de productos farmacéuticos, elaborados por laboratorios nacionales.
- 11.4. Es imprescindible que el Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, ejerza un control activo sobre los medicamentos fabricados por laboratorios nacionales, tomando muestras de productos registrados en anaqueles de establecimientos farmacéuticos que los expenden, para garantizar que durante su comercialización cumplan con los parámetros de calidad particulares.

12. Referencias

- 12.1. Genaro, A. (director). 2000. REMINGTON FARMACIA. Vigésima Edición. Buenos Aires. Editora Médica Panamericana. 2 volúmenes.
- 12.2. Le Hir, A. 1995. FARMACIA GALÉNICA. Primera Edición. Barcelona, España. Masson, S.A. 250 páginas.
- 12.3. Valdés, M. 2006. COMPARACIÓN DEL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCION (HPLC) Y EL MÉTODO DE TITULACIÓN POTENCIOMÉTRICA ÁCIDO-BASE PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ALENDRONATO DE SODIO UTILIZADOS EN EL LABORATORIO NACIONAL DE SALUD. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. 45 páginas. Tesis Licenciada en Química Farmacéutica.
- 12.4. Batres, A. 2003. EFECTO DEL AUMENTO DE LA TEMPERATURA EN LA DEGRADACIÓN DE SOLUCIONES ACUOSAS DE MULTIVITAMÍNICOS: TIAMINA CLORHIDRATO, PIRIDOXINA CLORHIDRATO Y CIANOCOBALAMINA, DETERMINADO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC) Y SU APLICACIÓN EN ESTUDIOS DE ESTABILIDAD ACELERADA. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. 60 páginas. Tesis Licenciada en Química Farmacéutica.
- 12.5. Pinzón, M. 2003. IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍA PARA ÁCIDO VALPRÓICO POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN Y VALIDACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR SELECTIVO DE MASAS EN MUESTRAS SÉRICAS / MARIO RENÉ PINZÓN MEZA. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. 70 páginas. Tesis Licenciada en Química Farmacéutica.

- 12.6. García J. 2003. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LOS JARABES DE ACETAMINOFEN MANUFACTURADOS POR LABORATORIOS NACIONALES. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. 65 páginas. Tesis Licenciada en Química Farmacéutica.
- 12.7. Villeda, F. 2001. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LOS JARABES DE SALBUTAMOL MANUFACTURADOS POR LABORATORIOS NACIONALES. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. 59 páginas. Tesis Licenciado en Química Farmacéutica.
- 12.8. León, Luis. 1998. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE PREPARADOS DE AMOXICILINA EN SUSPENSIÓN ORAL QUE SE COMERCIALIZAN EN LA CIUDAD DE GUATEMALA. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. 48 páginas. Tesis Licenciado en Química Farmacéutica.
- 12.9. Krappa, J., *et al.* 2007. LIFE QUALITY IN TWO GROUPS OF POPULATIONS. ARTÍCULO PUBLICADO EN “JOURNAL OF CLINICAL IMMUNOLOGICAL SCIENCE”, Vol. XV, No. 12. Lippincot. USA, 2007. 12 páginas.
- 12.10. USP. 2007. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA. USP 30. Trigésima Edición. USA. USP. 4500 páginas.
- 12.11. Vals, O y B. Castillo (Directores). 1998. TÉCNICAS INSTRUMENTALES EN FARMACIA Y CIENCIAS DE LA SALUD. Cuarta Edición. España. Ediciones Puros, España. 1024 páginas.
- 12.12. Hernández Sampieri, R.; C. Collado y P. Baptista: 2003. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN. Tercera Edición. México, D.F. Mc Graw-Hill Interamericana. 411 páginas.
- 12.13. Daniel. 2002. BIOESTADÍSTICA. BASE PARA EL ANÁLISIS DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD. Cuarta Edición México, D.F. Limusa Wiley. 524 páginas.

- 12.14. Skoog y Larry. 2001. PRINCIPIOS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. Quinta Edición. México. Editorial Mc Graw Hill. 670 páginas.
- 12.15. Rubinson, K. y J. Rubinson. 2003. ANÁLISIS INSTRUMENTAL. México. Pearson. 467 páginas.
- 12.16. Willard, H.; *et al.* 1991. MÉTODOS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS. Primera Edición. México, D.F. Grupo Editorial Iberoamérica. 396 páginas.
- 12.17. Kazakebich, Y. y R. Lobrutto. 2007. HPLC FOR PHARMACEUTICAL SCIENTIST. USA. WILEY. 1039 páginas.
- 12.18. Flores, J. (Director). 1998. FARMACOLOGÍA HUMANA. Tercera edición. Madrid, España. Editorial Masson. 923 páginas.
- 12.19. Hardman, J.; L. Limbird y A. Goodman. 2003. LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA. Décima Edición. México, D.F. Mc Graw-Hill Interamericana. 2 volúmenes.
- 12.20. Mycek, J; R. Harvey y P. Champe. 2003. FARMACOLOGÍA. Segunda Edición. México. Mc Graw-Hill Interamericana. 715 páginas.
- 12.21. Rodríguez, C. y A. Garfias. 2007. FARMACOLOGÍA PARA ENFERMERAS. Primera Edición. México, D.F. Mc Graw-Hill Interamericana. 889 páginas.
- 12.22. Sweetman, Sean C. (editor). 2002. MARTINDALE: The Complete Drug Reference. Trigésimotercera Edición. USA. Pharmaceutical Press. 3989 páginas.
- 12.23. Aiche, J. M.; Devisaguet y G. Herman. 1983. BIOFARMACIA. Primera Edición. México, D.F. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. 475 páginas.
- 12.24. Thompson, J. E. y L. W. Davindow. 2006. PRÁCTICA CONTEMPORÁNEA EN FARMACIA. Segunda Edición. México. Mc Graw-Hill Interamericana. 799 páginas.

- 12.25.** Shmelkes, Corina: 1988. MANUAL PARA LA PRESENTACIÓN DE ANTEPROYECTOS E INFORMES DE INVESTIGACIÓN (TESIS). Primera Edición. México. Editorial Harla. 140 páginas.

13. Anexos

13.1. Tabla anexa I. Formulaciones registradas de Maleato de Clorfeniramina por El Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines del MSPAS.

Correlativo	Registro	Marca	Laboratorio	Origen	Principios Activos
1	PF-19705	PRURISTOP 2mg/5mL Jarabe < Caja de cartón con frasco plástico ambar con 120 mL. MM 30 mL >	Wellco	Guatemala	CLORFENIRAMINA
2	PF-33094	CLORFENIRAMINA Generipharm 2 mg/5mL Jarabe < Estuche con frasco de 120 mL >	Nun'z Laboratorios, S.A.	Guatemala	CLORFENIRAMINA
3	PF-16690	CLORFENIRAMINA Maleato Industrias Bioquimicas 2 mg/5 mL Jarabe < Frasco (Poliétileno blanco) con 60 y 120 mL >	Industrias Bioquimicas, S.A.	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
4	PF-25263	CLORFENIRAMINA MALEATO Select Pharma 2mg/5 ml Jarabe < Caja con frasco (plastico) con 120 mL >	Lamfer Laboratorio	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
5	PF-36385	CLORFENIRAMINA MALEATO Lafofa 2 mg/5 mL solución oral < Envase plástico ambar con 20, 30, 60, 100 y 120 mL >	Formulas Farmaceuticas S.A. Lafofa	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
6	PF-36718	CLORFENIRAMINA MALEATO Laprin 2 mg/5 mL Jarabe < Frasco con 50, 60, 100 y 120 mL >	Laprin S.A.	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
7	PF-39917	ESPECTOFAR Jarabe < Frasco de plástico (polietileno de alta densidad color blanco) con 120 mL >	Pharmacross	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
8	PF-16721	CLORFENIRAMINA MALEATO Industrias Bioquimicas 4 mg tabletas < Blistre de 10 tabletas, Caja con 10, 20, 30, 80, 100, 200, 250, 500 y 1000 tabletas (blister PVC/transparente) >	Industrias Bioquimicas, S.A.	Guatemala	CLORFENIRAMINA
9	PF-16689	Clorfeniramina Maleato Industrias Bioquimicas 10 mg/mL Solución * < Caja con 1, 5, 10, 25, 50 y 100 ampollas (vidrio ambar) con 1 mL >	Industrias Bioquimicas, S.A.	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
10	PF-19781	Pruristop 4 mg tabletas < Caja de cartón con 40 tabletas en (blister pvc-aluminio) y M M con 2 tabletas >	Lamfer	Guatemala	CLORFENIRAMINA
11	PF-23419	CLORFENIRAMINA MALEATO SELECTPHARMA 4 mg tabletas < Caja con 20,50,100, 500 y 1000 tabletas(blistre) >	Lamfer	Guatemala	CLORFENIRAMINA
12	PF-25563	CLORFENIRAMINA MALEATO Selectpharma 10mg/mL Solución Inyectable < Caja individual con ampolla de 1 mL + jeringa+ toallita con alcohol y Caja con 100 ampollas. >	Lamfer	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
13	PF-32909	Clorfeniramina Maleato Selectpharma 8 mg Tablet de Liberación Sostenida < Dispensador con 20, 50, 100, 500 y 1000 tabletas (blister) >	Lamfer	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
14	PF-3067	Histaprin 10 mg/mL solución inyectable < Caja con 1 ampolla con 1 mL >	Laprin S.A.	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
15	PF-34289	MALEATO DE CLORFENIRAMINA Laprin 10 mg/mL solución inyectable < Caja con 1, 50, 100, 500,1000, 2000 y 3000 ampollas (vidrio) de 1 mL >	Laprin S.A.	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
16	PF-39654	ALERDRYL, 10 mg/ mL solución inyectable < Caja con 1 y 100 ampollas de vidrio ambar de 1 mL >	Mediproducts, S.A.	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
17	PF-33415	CLORFENIRAMINA Generipharm 4 mg tabletas < Estuche de texcote c14 con 100 tabletas (10 blister aluminio/pvc de 10 capsulas c/u) >	Nun'z Laboratorios, S.A.	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
18	PF-38289	MALEATO DE CLORFENIRAMINA Piersan 10 mg/mL solución inyectable < Caja con 1 ampolla (vidrio claro) con 1 mL + jeringa descartable >	Piersan, S.A.	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA
19	PF-18964	CLORFENIRAMINA QUALIPHARM 10 mg/ mL solución inyectable < Caja (cartón) con 40, 50 o 100 ampollas (vidrio ambar) con 1 mL >	Qualipharm	Guatemala	CLORFENIRAMINA
20	PF-26103	ALERMIZOL 10 mg/mL Solución Inyectable < Caja con 1, 50 y 100 ampollas (Vidrio ambar) con 1, 2, 4, 8 y 10 mL >	Ruipharma S.A.	Guatemala	MALEATO DE CLORFENIRAMINA

Fuente: Consulta realizada al MSPAS, enero de 2009.

13.2. Datos sobre las lecturas, estándares y cálculos

Tabla anexa II. Cantidad de Principio activo encontrado en las muestras en lecturas 1, 2 y 3

Muestras	Volumen de muestra	Lecturas				
		1	2	3	Media	Desv est
A1	5 mL	2.040	2.040	2.052	2.044	0.0069282
A2	5 mL	1.987	1.983	1.987	1.986	0.0023094
A3	5 mL	2.017	2.024	2.012	2.018	0.0060277
B1	5 mL	1.926	1.933	1.939	1.933	0.0065064
B2	5 mL	1.945	1.961	1.960	1.955	0.0089629
B3	5 mL	1.967	1.965	1.970	1.967	0.0025166
C1	5 mL	2.071	2.069	2.074	2.071	0.0025166
C2	5 mL	1.690	1.709	1.698	1.699	0.0095394
C3	5 mL	2.003	2.022	2.005	2.010	0.0104403

Fuente: base de datos del estudio.

Tabla Anexa III. Peso y pureza del estándar de clorfeniramina usado.

Peso estándar Clorfeniramina M. (mg)	Pureza del estándar
20	99.93

Fuente: información especificada en la etiqueta del producto.

Los cálculos fueron realizados por el software del equipo instrumental de análisis utilizado y estaban basados en la comparación del área del estándar (sustancia de concentración y pureza conocidas) y el área de cada muestra, según el volumen de muestra inyectado al HPLC. No se tuvo acceso a los cromatogramas generados por el software del equipo, adhiriéndose a las políticas del laboratorio donde fueron realizados los análisis. Sólo se tubo acceso al reporte de los resultados de concentración y cantidad de principio para cada muestra y lectura.

13.2.3. La Cromatografía Líquida de Alta Resolución Aplicada al Análisis de Medicamentos

13.2.1. Cromatografía: Definición y clasificación

La cromatografía es esencialmente un método físico de separación en el que los componentes a separarse distribuyen entre dos fases; una móvil que percola a través del lecho de la fase estacionaria (fija). Si a este sistema se le introduce una mezcla de sustancias solubles en la fase estacionaria, estas avanzarán por la misma empujadas por la fase móvil, si las sustancias que componen la mezcla interaccionan en distinta magnitud con la fase estacionaria, estas avanzarán por el sistema con distinta velocidad, pudiéndose producir una separación de las mismas (11, 14, 15, 16).

Cuando la *fase fija* o *fase estacionaria* es sólida la cromatografía se llama de *adsorción*, si es líquida recibe el nombre de cromatografía de *partición o de reparto* aún cuando esta fase líquida debe encontrarse sobre un soporte sólido que no suele intervenir en el proceso cromatográfico. La *fase móvil*, llamada también *eluyente*, puede a su vez ser líquida o gaseosa. Según ello la cromatografía se puede clasificar en cuatro tipos distintos:

- a. Adsorción (Fase estacionaria sólida): Se divide en cromatografía líquido-sólido (Fase móvil líquida) y cromatografía gas-sólido (Fase móvil gaseosa).
- b. Partición (Fase estacionaria líquida): Se divide en cromatografía líquido-líquido (Fase móvil líquida) y cromatografía gas-líquido (Fase móvil gaseosa).

En la cromatografía de líquidos la naturaleza de la fase estacionaria impone el mecanismo de separación y la clasificación en este tipo de cromatografía (11, 14, 15, 16).

Cromatografía de adsorción: Cuando la fase estacionaria es un sólido adsorbente.

- c. Cromatografía de reparto: Cuando la fase estacionaria es un líquido no miscible con la fase móvil.
- d. Cromatografía de intercambio iónico: si el sólido que forma la fase estacionaria posee iones capaces de retener a otros del mismo signo.
- e. Cromatografía de exclusión: en este caso el mecanismo de separación más bien mecánico, ya que el sólido tiene poros de tamaño controlados, permite pasar moléculas de cierto tamaño y las que tienen tamaño mayor que los poros de la fase estacionaria las dejaría fuera.
- f. Cromatografía de afinidad: el sólido que constituye la fase estacionaria tiene enlazado un determinado ligando que interaccione selectivamente con un soluto, una enzima, un anticuerpo, etc.

Según el dispositivo o forma de obtener el contacto entre la fase estacionaria y la móvil, puede distinguirse dos tipos: Cromatografía en columna y cromatografía plana. En la cromatografía en columna la fase estacionaria se distribuye de forma compacta en el interior de un tubo cilíndrico y a través del mismo se hace percolar la fase móvil. Mientras tanto, en la cromatografía plana la fase estacionaria se coloca en un soporte plano y es una cromatografía bidimensional ya que los espesores de la fase estacionaria son muy pequeños (11, 14, 15, 16).

Por lo tanto, el factor más importante del proceso cromatográfico es el equilibrio de los distintos componentes de la muestra entre las fases estacionaria y móvil. La relación entre las concentraciones de una sustancia entre estas dos fases, en estado de equilibrio, se denomina *coeficiente de reparto o de partición* (K) cuyo valor es:

$$K = \frac{C_S}{C_M} = \frac{m_S / V_S}{m_M / V_M} \quad (\text{Ec. 1.})$$

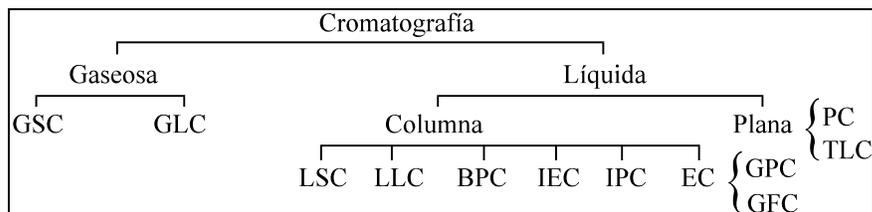
siendo m_S y m_M las masas respectivas de sustancia retenidas o disueltas en las fases estacionaria y móvil y V_S y V_M los volúmenes de estas dos fases.

En condiciones ideales la relación entre los coeficientes de partición de los distintos componentes permite conocer la facilidad de una separación. Además, el valor absoluto de estos coeficientes indica la velocidad a que se mueve cada banda en la columna, placa o tira, y la variación del coeficiente con la concentración, establece la forma de la banda cromatográfica. El coeficiente de distribución puede ser independiente de la concentración de sustancia disuelta o variar al cambiar la concentración.

Posiblemente sea la cromatografía líquida (CL) la técnica que mayor auge ha alcanzado en los últimos años. Esta afirmación se puede hacer en base a una revisión estadística de la literatura científica aparecida en los últimos años. Este aumento se ha reflejado asimismo en la variedad y complejidad de las muestras separadas, la velocidad y optimización de las separaciones logradas, diversidad de equipos instrumentales, etc.

La cromatografía de gases (CG) que también había alcanzado una alta resolución, presentaba una importante laguna, ya que no permitía el análisis de compuestos termolábiles ni termoeléctricos (11, 14, 15, 16).

El coeficiente de reparto (K) se ve menos influido en CL que en CG por la temperatura, lo cual permite extender el uso de la CL a todas aquellas sustancias que e imposible estudiar por cromatografía de gases (11, 14, 15, 16).

Cuadro 1. Clasificación de los métodos cromatográficos.

GSC: Cromatografía de gas-sólido; GLC: Cromatografía de gas-líquido;
 LSC: Cromatografía de líquido-sólido; LLC: Cromatografía de líquido-líquido;
 BPC: Cromatografía en fase ligada; IEC: Cromatografía de intercambio iónico;
 IPC: Cromatografía de par iónico; EC: Cromatografía de exclusión;
 GPC: Cromatografía de gel permeación; GFC: Cromatografía de gel filtración;
 PC: Cromatografía en papel; TLC: Cromatografía en capa delgada.

Fuente: Referencia 11.

13.2.2. Teoría de la Columna

En un proceso de cromatografía en columna la primera cuestión a plantear es por qué se produce la separación de las distintas fracciones a la salida de la columna (2, 3, 4, 5).

Si se inyecta una muestra que, por ejemplo, contenga tres solutos distintos, al final de la columna se observa que salen separados. En este hecho se han de distinguir dos procesos. En primer lugar se produce el avance de la muestra a lo largo de toda la columna: este proceso es simplemente de propagación. En segundo lugar, entre las distintas moléculas que van a avanzar por la columna, hay unas que caminan con diferente velocidad que otras, se produce por tanto una *migración diferencial* de los distintos solutos que componían la muestra problema (2, 3, 4, 5).

La migración diferencial es la base de la separación en cromatografía, porque supone que las moléculas de un compuesto integrante de la mezcla, avanzan con mayor rapidez que las del otro. Para que exista migración diferencial debe haber alguna fuerza selectiva que retenga a un tipo de moléculas con más intensidad que a otras (11, 14, 15, 16).

En definitiva, las moléculas tendrán una mayor o menor tendencia a quedar retenidas en la fase estacionaria (s) o a pasar a la fase móvil (m) (11, 14, 15, 16).

La velocidad con que cada compuesto X (bien A ó B) se mueve a través de la columna se llama u_x y está determinado por el número de moléculas de cada compuesto existentes en la fase móvil, en cualquier instante (11, 14, 15, 16).

La migración diferencial de los compuestos individuales a través de la columna, depende del equilibrio de distribución para cada componente, entre las fases móvil y estacionaria, lo cual vendrá determinado por el valor del coeficiente de partición. Por tanto, las *variables experimentales* que influyen sobre la distribución, determinarán la "migración diferencial". Estas variables son:

- a. La composición de la fase móvil.
- b. La composición de la fase estacionaria.
- c. La temperatura de separación.

Así pues, para intentar lograr la separación basada en la migración diferencial tan solo será necesario variar uno de los tres parámetros anteriores, que generalmente es la composición (o/o) de la fase móvil. Lógicamente también variará la fuerza de partición que antes ligaba o retenía a las moléculas del soluto en la fase estacionaria (11, 14, 15, 16).

En Cromatografía de Alta Eficacia (HPLC) la retención puede realizarse en medidas de tiempo y también de volumen elución de retención al considerarse los líquidos incompresibles (11, 14, 15, 16).

$$V_R' = V_R - V_0$$

Esto último no sucede en los gases la compresibilidad y el coeficiente de dilatación térmica hacen necesarios una corrección, los volúmenes de elución correspondientes deben de ser multiplicados por el factor de corrección j (2, 3, 4, 5).

$$j = \frac{3p^2 - 1}{2p^2 - 1} \quad (\text{Ec. 2}).$$

siendo p la presión relativa (P_1 / P_0), P_1 la presión a la entrada de la columna y P_0 la presión a la salida de la columna (11, 14, 15, 16).

De manera que el volumen muerto y de retención para la cromatografía de gases quedarían (2, 3, 4)

$$V'_0 = j V_0 \quad \text{y} \quad V'_R = j V_R \quad (\text{Ec. 3.})$$

13.2.3. Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia

La *cromatografía de líquidos de alta eficacia*, es una cromatografía de líquidos que está alcanzando una amplia difusión debido a una serie de ventajas sobre otros tipos de cromatografía:

- a. El proceso cromatográfico es sumamente rápido pudiéndose resolver mezclas muy complejas en pocos minutos, a diferencia de la cromatografía en columna (clásica) en que se requieren varias horas para realizar el análisis (11, 14, 15, 16).
- b. Permite la separación de sustancias termolábiles, como medicamentos altamente activos o productos biológicos (11, 14, 15, 16).
- c. Se puede lograr la resolución de sustancias con un amplio margen de pesos moleculares que oscilan desde menos de 100 hasta más de un millón (11, 14, 15, 16).

Esencialmente esta técnica consiste en hacer pasar una fase móvil líquida constituida por un disolvente adecuado, que arrastra previamente a la muestra (sólida o líquida), a una

presión muy elevada, a través de una columna que contiene la fase estacionaria líquida retenida sobre un soporte sólido (11, 14, 15, 16, 17).

Como características diferenciales de esta técnica respecto a la cromatografía en columna clásica cabe citar primeramente el empleo de presiones de líquido muy elevadas del orden de 600 atmósferas o más, la utilización de columna de muy pequeño diámetro (1 a 7 mm) y el pequeño diámetro de las partículas soporte de la fase estacionaria (menos de 50 micrómetros). La alta presión necesaria y el pequeño diámetro de las columnas han constituido durante muchos años las principales dificultades técnicas con que ha tropezado el desarrollo de este método. En la actualidad se ha superado ampliamente con el desarrollo de nuevos materiales de alta resistencia. Por tanto, con la tecnología existente actualmente, la cromatografía líquida es deseable que sea de alta resolución (11, 14, 15, 16, 17).

Los instrumentos de HPLC deben disponer de una bomba de presión, y de un sistema de inyección: de estos surge la necesidad de emplear válvulas contra-corriente, pasos de resistencia hidrodinámica, filtros frit y un sistema para el control electrónico del proceso (11, 14, 15, 16, 17).

13.2.3.1. Columnas

Según sea su constitución, la clasificación de las columnas en la actualidad se realiza atendiendo a cuatro criterios relativos a las características del relleno (11, 14, 15, 16):

a. En Función de su Consistencia:

- Sólidos rígidos: básicamente consisten en una matriz de SiO_2 . Fueron los primeros en usarse e incluso hoy su uso está ampliamente difundido. Pueden

resistir presiones elevadas, del orden de 10.000-15.000 psi (libras por pulgada cuadrada) cuando están constituidas por partículas de relleno muy pequeñas. Se las puede ligar químicamente con distintos grupos funcionales (11, 14, 15, 16).

- Geles duros: su constitución es de partículas porosas de poliestireno cuya superficie se ha rodeado con divinilbenceno. Su máxima limitación de presión es de 5000 psi. Se usan con fases móviles orgánicas, así como en cromatografía de intercambio iónico (CIO) (11, 14, 15, 16).
 - Geles blandos: pertenecen a este tipo los conocidos rellenos de Agarosa y Sephadex, que no pueden resistir las altas presiones de la técnica de HPLC, y por tanto no son usadas en ella (11, 14, 15, 16).
- b. Según la Porosidad de las Partículas:** Las partículas, básicamente, son esféricas, se fabrican sobre lechos de cristales también esféricos; según las variantes del método de producción emplead, se obtendrán lechos *porosos*, *superficialmente porosos* o *nada porosos* (11, 14, 15, 16).
- c. En Función de la Forma de las Partículas:** En la actualidad existe la tendencia a usar columnas constituidas por partículas irregulares, para lograrse mayor capacidad (11, 14, 15, 16).

- d. En Función del Diámetro Medio de Partículas:** Modernamente, en HPLC, es posible encontrar rellenos de 5 μm de diámetro de partícula, en adelante (11, 14, 15, 16).

En general, es aconsejable trabajar con partículas de tamaño pequeño y que además presenten una dispersión de tamaño pequeño, para lograr mayor resolución. Al disminuir el tamaño de partícula se necesitará aumentar la presión requerida para conservar el flujo constante (11, 14, 15, 16).

Una columna de las usadas en HPLC, podría pensarse que estará construida por un cilindro de acero uniformemente liso en su interior: pero esto supondría una menor capacidad, justamente al lado de la pared, por lo que constituiría un canal "preferencial". Un canal preferencial contribuye a aumentar el ancho de banda, por ello, a disminuir la eficiencia de la columna (11, 14, 15, 16).

13.2.3.2. Sistemas de Detección

Está situado a la salida de la columna, origina una señal eléctrica continua, que una vez amplificada y registrada da lugar al cromatograma (11, 14, 15, 16, 17).

- a. Condiciones que Debe Reunir el Detector.** Un detector ideal debería cumplir con lo siguiente: Respuesta universal con todos los solutos. Sensibilidad alta por ejemplo con concentraciones de 10^{-12} a 10^{-11} g/mL de soluto. Que el ruido de fondo del detector sea muy bajo. La célula de medida del detector debe tener un volumen muy pequeño para evitar un mayor ensanchamiento de los picos. No debe ser destructivo, es decir, no debe destruir la muestra. Debe funcionar durante mucho

tiempo seguido y ser de manejo fácil y cómodo (11, 14, 15, 16).

- b. Clasificación de los Detectores.** Se pueden clasificar como detectores de concentración y detectores de masa. Los *detectores de concentración* originan una señal proporcional a la concentración de soluto en la fase móvil se utilizan mucho en cromatografía de alta eficacia HPLC. Los *detectores de masa* relacionan la cantidad absoluta de soluto independientemente del volumen del elemento de fluido (11, 14, 15, 16).

También se puede clasificar como: *Detectores universales*: Acusan los cambios en una propiedad física muy común a todas las moléculas, por ejemplo la medida del índice de refracción. *Detectores selectivos*: Detectan una serie de propiedades muy específicas que no las tienen todas las moléculas, por ejemplo la adsorción ultravioleta-vis. *Detectores específicos*: Responden solo a un número muy limitado de moléculas, por ejemplo medidas de fluorescencia, electroquímicas. Finalmente también pueden clasificarse dependiendo de la forma de detección en: *Detectores ópticos*: Refractómetros, fotómetros, espectómetros, fluorímetros, fotómetros de llama, fotómetros de adsorción atómica. *Detectores eléctricos*: Amperímetros, conductímetros, polarografos y *otros detectores*: Espectómetros de masa, radiómetros, detectores de ionización de llama. De acuerdo a la clasificación anterior, se pueden mencionar los detectores de diodos en serie y espectrofotómetros. *Detectores espectrofotométricos*: Miden el cambio de la absorbancia A , definida por la ley de

Lambert-Beer. Las fuentes de radiaciones son lámparas que puede proporcionar espectro discontinuo (longitudes fijas), por ejemplo, la lámpara de vapor de mercurio a 254 nm y lámparas que suministren un espectro continuo, utilizándose para la selección de radiaciones un monocromador (detectores de longitud de onda variable) o filtros (detectores de longitud de onda fija). Es un detector específico ya que los solutos deben adsorber a la longitud de onda en que se está midiendo. Este tipo de detectores tiene un intervalo lineal de 10^{-5} a 2×10^{-10} g/mL de sensibilidad y es compatible con las separaciones en gradiente. Su utilización es muy generalizada ya que es raro encontrar moléculas que no adsorban en el intervalo de longitudes de onda que pueda prestar el detector. *Detectores de diodos en serie:* Estos detectores pueden obtener una detección simultánea de dos tipos de compuestos que pueden adsorber a distintas longitudes de onda, pueden realizar un espectro de adsorción del correspondiente compuesto, con ello se pueden realizar muy adecuadamente análisis de pureza, desarrollar métodos amplificación y dilución (11, 14, 15, 16).

La muestra problema recibe una radiación policromática, una vez atravesada la célula del detector, un sistema de dispersión de radiaciones las conduce a un sistema de diodos, entre 500 y 1000 diodos de silicio colocados en fila y separados unos de otros 2 nm, recibiendo simultáneamente un espectro comprendido entre 200 y 800 nm. Este instrumento puede determinar moléculas que

adsorban en el ultravioleta-visible, la gran ventaja que tiene el instrumento es la determinación simultánea de sustancias que adsorban a distintas longitudes de onda, por ejemplo extractos vegetales (2, 3, 4, 5). *Espectrómetros de masas*: Estos combinan un método analítico universal para elucidación de estructuras con otro separativo es muy atrayente. Existen muchas fases móviles, muy utilizadas, cuyo componente principal es el agua que no es muy volátil (11, 14, 15, 16).

13.2.4. Cromatografía por Intercambio Iónico

Es utilizada para separar los compuestos iónicos en base a la diferencia de carga neta entre los distintos componentes, el requisito principal para que tenga lugar la retención, es que la fase estacionaria debe portar una carga opuesta a la del compuesto de interés. Existen dos tipos de cambiadores iónicos, dependiendo de la carga neta de los compuestos que han de ser separados; cambiadores aniónicos donde los compuestos que están cargados negativamente también existe un cambiador que puede portar una carga positiva (11, 14, 15, 16).

El proceso cromatográfico se puede realizar en dos etapas, *adsorción* en donde los compuestos de interés desplazan a cargas similares del contraión del intercambiador iónico a fin de preservar la neutralidad eléctrica y *desorción*, en donde estos compuestos son retirados del cambiador iónico (11, 14, 15, 16).

13.2.4.1. Propiedades y utilización de intercambiadores

Van a depender del número de grupos funcionales existentes, así como de su accesibilidad y poder de captación de iones de resina (11, 14, 15, 16).

La capacidad total de cambio de una resina se define como "el número de miliequivalentes de grupos intercambiables por gramo de peso de intercambiador seco" (211, 14, 15, 16).

En la práctica no se consiguen alcanzar los límites teóricos (11, 14, 15, 16).

El valor a la capacidad total de cambio es de suma importancia siendo proporcionado por el fabricante (11, 14, 15, 16).

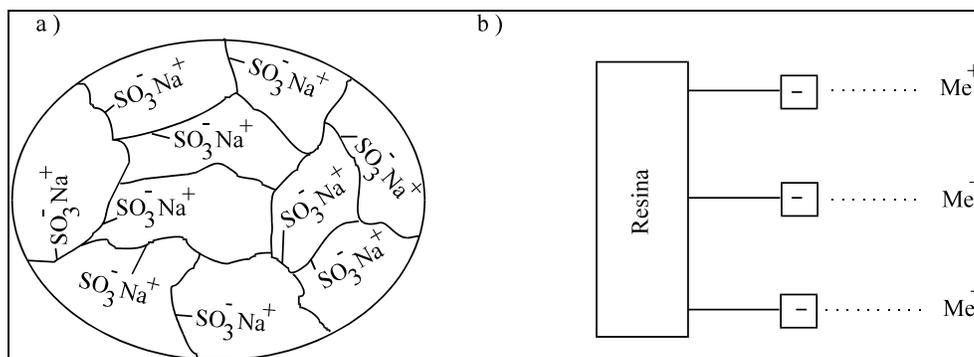
La capacidad disponible o aprovechable representa la capacidad real de cambio en unas condiciones experimentales determinadas (fuerza iónica, pH, temperatura, naturaleza, naturaleza del ión cambiante, etc.) (11, 14, 15, 16).

La influencia de la fuerza iónica del eluyente es importante, especialmente cuando la muestra es de naturaleza macromolecular (11, 14, 15, 16).

Otro factor a tener en cuenta es la *porosidad* de la matriz. Las resinas actualmente disponibles suelen estar constituidas por partículas esféricas de reducido diámetro, aunque existiendo de muy diferente tamaño. Las esferitas no son rígidas e impenetrables sino de naturaleza geliforme cuando están inmersas en un medio que posibilite la ionización de los grupos funcionales (11, 14, 15, 16)

Esquemáticamente puede observarse la ya referida resina de poliestireno sulfonada en la figura 1.

Figura 1.- a) Sección de una esfera de resina intercambiadora de poliestireno sulfonado. b) Esquema general. Me^+ = ión intercambiable, $-(\text{-})$ grupo funcional iónico



Fuente: Referencia 11.

Existen resinas de diferente *tamaño de malla*. Las mallas más gruesas poseen menor relación superficie-volumen, permiten mayores velocidades de flujo, pero su capacidad de cambio es menor (11, 14, 15, 16).

Otro parámetro a considerar es el *agua retenida* por la resina, que se especifica generalmente como el peso de agua captado por 1 g de resina seca. Consecuentemente, y a causa de las variadas propiedades presentes en los intercambiadores iónicos disponibles, es decisiva la correcta elección del idóneo para lograr la separación propuesta. En la Tabla 1 se exponen los intercambiadores iónicos más corrientes (11, 14, 15, 16).

La separación de los componentes de una muestra problema se suele efectuar en dos fases. En primer lugar, el compuesto problema en solución (estado iónico) al atravesar la columna queda fijado al grupo funcional del intercambiador, desplazando al ión móvil del mismo. A continuación los distintos componentes de la muestra problema, así retenidos,

pero cada uno con diferente carga neta, serán separados mediante la aplicación de un gradiente de fuerza iónica creciente, es decir, arrastrados del intercambiador por eluyentes líquidos (11, 14, 15, 16).

Las diferentes fracciones resultantes pasarán ante un detector adecuado (fluorimétrico, adsorciométrico, electroquímico, etc.). Registrándose sus señales o bien recogiendo en un colector de fracciones para posteriores determinaciones (11, 14, 15, 16).

13.2.4.2. Técnicas Usadas en Intercambio iónico

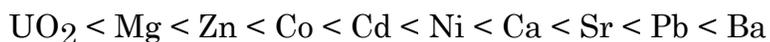
- a. **Cromatografía de Elución:** Supongamos que una cantidad de muestra ha penetrado en el sistema cromatográfico y un componente A se ha fijado en la parte superior de la columna, la cual presenta una masa m y un volumen intersticial V_1 ; el desarrollo cromatográfico se desarrolla con eluyentes en los que el coeficiente de reparto del componente A es K_A (11, 14, 15, 16).
- b. **Cromatografía por Elución Selectiva:** suponiendo que dos sustancias A y B que tienen dos coeficientes de reparto distintos $K_A < 1$ y $K_B > 5$. Como puede comprobarse A se podrá eluir muy rápidamente sin eluir B. Para que pueda eluirse el B habría que cambiar de eluyente para su coeficiente de reparto correspondiente $K_B < 1$ (11, 14, 15, 16).
- c. **Cromatografía por Elución Progresiva:** Se utiliza cuando los coeficientes de reparto de las sustancias a separar supongamos otra vez A y B, se realizan con un eluyente solo. Los picos A y B aparecen en el cromatograma uno después

del otro dependiendo de su coeficiente de reparto (11, 14, 15, 16).

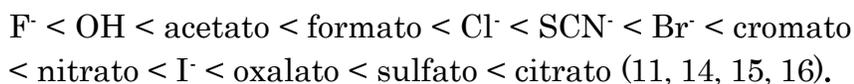
- d. Cromatografía de Desplazamiento:** suponiendo que la especie A esté como en los casos anteriores fija en la parte superior de la columna y que después se introduce una fase móvil que lleva un determinado agente (D), que sirve como desplazante de A para el desarrollo cromatográfico; es muy importante establecer las afinidades entre el intercambiador (I) y la sustancia ionizada A y el intercambiador (I) y el agente desplazante D, de manera $I < A < D$. El cromatograma obtenido sería uno de bandas (11, 14, 15, 16).

13.2.4.3. Separación por Intercambio Iónico

- a. Separación de Especies Inorgánicas;** Pueden utilizarse las dos técnicas cromatográficas ya indicadas, por elución selectiva y progresiva, también puede utilizarse una elución progresiva en medio complejante. Para una resina catiónica típica las condiciones de separación serían. El intercambiador de iones portadores de la mayor carga, los iones de menores dimensiones (iones solvatados), y los iones de polarizabilidad más fuerte, de manera que con un intercambiador de cationes del tipo sulfonato, una resina muy utilizada, el orden de elución sería:



Para las resinas aniónicas el orden de separación sería:



- b. Separación de Compuesto Orgánicos.** Intercambio catiónico: Una de las separaciones clásicas de este tipo de

cromatografía es la separación de aminoácidos, utilizando una resina catiónica. El orden de elución depende de los pK_A de disociación de los ácidos. Además intervienen fenómenos como el tamaño de los iones en disolución. Uno de los factores que más van a afectar la separación resulta ser el pH, por lo que en la separación de los aminoácidos se realiza con un sistema de gradiente de pH. Intercambio aniónico: Es muy empleada para la separación de ácidos carboxilanos tales como los ácidos maléico, fumárico, acrílico y otros. El orden de elución se explica por la configuración de los ácidos (11, 14, 15, 16).

13.2.4.4. Aplicaciones de la Cromatografía por Intercambio Iónico

En la bibliografía científica son numerosas las aplicaciones descritas de la moderna cromatografía de intercambio iónico para moléculas que se encuentren en forma polar, tales como aminoácidos, ácidos nucleicos, alcaloides, ácidos sulfónicos y sales inorgánicas. En general, es una técnica con grandes posibilidades, especialmente para compuestos termolábiles de interés biológico (11, 14, 15, 16).

En análisis farmacéutico existe la posibilidad de determinar diversos fármacos y sus metabolitos en suero y orina (antipirina con intercambiador catiónico y detección fotométrica a 254 nm), o bien los principios activos presentes en una forma farmacéutica (efedrina, teofilina y fenobarbital en comprimidos antiasmáticos con intercambiador aniónico y detección adsorciométrica a 254 nm; cafeína, fenacetina y acetanilida en comprimidos analgésicos con intercambiador aniónico y detección adsorciométrica a 254 nm; etc.) o bien distintas benzodiazepinas (oxazepan, nitrazepan, diazepan y clordiazepóxido), etc. También están citados en la bibliografía análisis de 5-fluorouracilo, metotrexato, procainamida, ácido épsilon-aminocaproico, metil-dopa, etc. En general, podrán analizarse fármacos de naturaleza

catiónica (sales de bases nitrogenadas), de naturaleza aniónica (sulfonamidas) o anfótera (11, 14, 15, 16).

Muchos compuestos de interés bioquímico, como son las proteínas con carácter anfótero, su carga neta es pH-dependiente; para evitar su desnaturalización durante el proceso cromatográfico, ha de realizarse a un intervalo de pH adecuado. Así pues, péptidos, proteínas y enzimas pueden ser fraccionados y purificados con facilidad empleando cromatografía de intercambio iónico preparativa (11, 14, 15, 16).

Los intercambiadores iónicos con matriz de celulosa son los más adecuados para proteínas y polinucleótidos (11, 14, 15, 16).

La separación de aminoácidos por esta técnica (intercambio catiónico) está muy popularizada, habiéndose alcanzado grandes niveles de automatización, constituyendo uno de los denominados "analizadores de aminoácidos" (11, 14, 15, 16).

Asimismo en química clínica, está descrito el análisis rápido de cuatro poliaminas (putrescina, cadaverina, espermina y espermidina) en sangre y orina, empleando intercambiador catiónico de detección absorciométrica a 570 nm. Para las isoenzimas de creatin-fosfoquinasa y lactato deshidrogenasa se emplea intercambiador aniónico y detección absorciométrica a 340 nm (11, 14, 15, 16).

Entre las aplicaciones industriales clásicas cabe destacar su aceptación en procesos de desmineralización, recuperación, catálisis de trazas por concentración de soluciones diluidas, purificación de iones interferentes, etc. (11, 14, 15, 16).

13.3. Farmacología Clínica de los Antihistamínicos Sedantes

13.3.1. Histamina

13.3.1.1. Localización, Biosíntesis y Metabolismo

La histamina es una amina sintetizada en 1907, que posteriormente fue aislada en los tejidos. Está compuesta por un anillo imidazólico y una cadena lateral etilamino (fig. 1). Se encuentra almacenada principalmente en los mastocitos del tejido conjuntivo y en las células basófilas de la sangre. Estas células son eminentemente secretoras y constituyen un sistema que responde a una gran variedad de estímulos endógenos y exógenos a través de múltiples mecanismos celulares (18).

En condiciones normales, toda la histamina de los mastocitos se encuentra almacenada en 500-1.000 gránulos secretores por célula. Los gránulos contienen una matriz de heparina y de diversas proteínas (18, 19, 20).

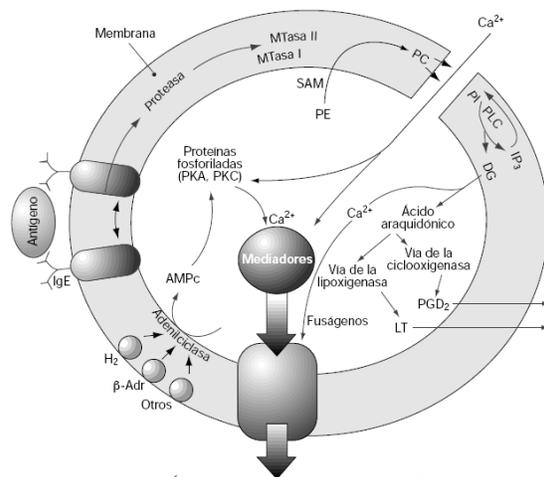
Fuera de estos grupos celulares se encuentra una pequeña fracción de histamina. El ejemplo más significativo es el del cerebro, donde la histamina se encuentra irregularmente distribuida por diversos grupos neuronales, en particular en el hipotálamo posterior, desde donde proyectan terminaciones a la corteza cerebral y a otros territorios; se tiende a considerarla un neurotransmisor central (7, 8, 9).

13.3.1.2. Mecanismos de Liberación

Para que la histamina pueda ser liberada, debe cruzar la membrana granular y la celular. La liberación puede ser citotóxica, en cuyo caso la histamina saldrá cuando ambas membranas se rompan; pero si la liberación es de carácter secretor o habrá una fusión previa de las dos membranas, de manera que el contenido granular

saldrá sin que la célula sufra deterioro alguno. La histamina es liberada en el curso de procesos fisiológicos, como la secreción de jugo gástrico, pero se conoce mucho mejor su participación en procesos patológicos en los que es liberada de forma más o menos explosiva, como sucede en las reacciones inflamatorias y en las reacciones de hipersensibilidad inmediata (18, 19).

Figura 2. Liberación de Histamina en los Basófilos



Mecanismos de liberación de mediadores (histamina) y de producción de eicosanoides como consecuencia de la interacción antígeno-anticuerpo en una célula basófila. DG: diacilglicerol; IP3: inositol-1,4,5-trifosfato; LT: leucotrienos; MTasa: metiltransferasa; PC: fosfatidilcolina; PE: fosfatidiletanolamina; PI: fosfatidilinositol; PLC: fosfolipasa C; SAM: S-adenosilmetionina.

Fuente: referencia 18.

Son múltiples los agentes físicos y químicos que provocan la liberación de histamina. Entre los primeros se encuentran el calor, las radiaciones, el frío, los traumatismos. Los segundos, cuyo número y variedad son extraordinarios, han de encontrar en la membrana moléculas receptoras, con las que interactúan; dependiendo del tipo de interacción, se desencadenarán secuencias de pasos diferentes que terminarán invariablemente por elevar la concentración intracelular de Ca^{2+} , que es el mensajero común necesario para provocar el fenómeno de la exocitosis (718, 19, 20).

Los diversos agentes que canalizan el Ca^{2+} hacia el proceso de liberación de histamina en el mastocito lo hacen por dos mecanismos fundamentales:

- facilitando su penetración desde el espacio extracelular
- promoviendo su movilización de los depósitos intracelulares (18, 19, 20).

13.3.1.3. Receptores Histamínicos y Mecanismos de Acción

Los receptores H1 se encuentran en la membrana de células musculares lisas de vasos, bronquios y tracto gastrointestinal, en el tejido de conducción del corazón, en algunas células secretoras y en terminaciones de nervios sensitivos. Los receptores H2 se hallan principalmente en la membrana de las células parietales de la mucosa gástrica, en células musculares lisas de vasos, en células miocárdicas y del nodo sinusal, en diversos leucocitos y en los propios mastocitos y células basófilas, donde se comportan como autorreceptores. Las densidades de receptores H3 son, en general, bajas, aunque se ha podido detectar la existencia de este tipo en diversos tejidos, entre ellos pulmón, estómago, intestino y páncreas. En el SNC hay receptores de los tres tipos. El receptor H3 tiene en el SNC una localización presináptica, actuando como autorreceptor (18, 19, 20).

13.3.1.4. Efectos Farmacológicos

a. Aparato Cardiovascular

Varían según la especie animal considerada. En la especie humana predomina la acción dilatadora de los vasos más pequeños: arteriolas, metaarteriolas y esfínteres precapilares; esta acción es sobre todo H1 y parcialmente H2. Como consecuencia, disminuyen la resistencia periférica y la presión arterial. Provoca

la extravasación de líquido y proteínas plasmáticas, con formación de edema. Este efecto es consecuencia de dos acciones: el efecto sobre la presión capilar, y la acción directa de la histamina sobre las células endoteliales de las vénulas poscapilares; así, se incrementa la permeabilidad vascular al quedar sola la membrana basal en amplias superficies y se facilita el paso de leucocitos circulantes. Este efecto es preferentemente H1 (18, 19, 20).

La hipotensión produce taquicardia refleja, pero la histamina aumenta directamente la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción (efecto H2), y reduce la conducción AV (efecto H1) (18, 19, 20).

En aplicación intradérmica produce la triple respuesta: a) mancha central inicialmente roja y después azul, por la acción directa vascular; b) enrojecimiento progresivo periférico por vasodilatación arteriolar debido a un reflejo axónico, y c) blanqueamiento de la zona central con hinchazón por el edema (18, 19, 20).

En diversos territorios puede producir fenómenos de vasodilatación (vasos cerebrales, músculo esquelético, coronario, mesentérico y renal) o de vasoconstricción (hígado y bazo) o mixtos (pulmonares) (18, 19, 20).

b. Músculo Liso no Vascular

En el árbol bronquial existen receptores H1, cuya activación provoca broncoconstricción, pero su participación en la enfermedad broncospástica es muy variada, de ahí el nulo o mínimo efecto broncodilatador que consiguen los antihistamínicos H1. Si la luz bronquial es ya pequeña por acción de otros factores broncoconstrictores, el aumento o la disminución de la actividad H1 puede tener mayor

repercusión; por esta razón, los enfermos asmáticos son muy sensibles a la acción de la histamina (18, 19, 20).

c. Glándulas

Destaca la gran sensibilidad de las células de la mucosa gástrica, que responden a la acción de la histamina con aumento de la secreción de pepsina y ácido clorhídrico. Esta acción es H₂ e independiente de la que producen la gastrina o la actividad parasimpática; sin embargo, los tres estímulos actúan en forma sinérgica porque el bloqueo específico de la acción de la histamina con antagonistas H₂ reduce notablemente la capacidad activadora de los otros dos factores. A dosis altas puede estimular la secreción de otras glándulas, como la médula suprarrenal (18, 19, 20).

d. Terminaciones Nerviosas Sensitivas

Mediante receptores H₁, la histamina estimula intensamente terminaciones sensoriales provocando sensaciones de picor y de dolor. Este efecto se aprecia de modo preferente en las reacciones de urticaria y de picaduras de insectos, pero la histamina puede ser uno de los mediadores químicos naturales que participan en la respuesta dolorosa a estímulos lesivos tisulares. En la descripción de la triple respuesta se ha expuesto la capacidad de la histamina para iniciar reflejos axónicos (18, 19, 20).

e. Respuesta General

Cuando la histamina se inyecta en la circulación general, produce síntomas cuya intensidad depende de la dosis. Destacan el enrojecimiento de la piel, la taquicardia, la cefalea pulsátil y la hipotensión (18, 19, 20).

Cuando la histamina es liberada localmente, en el curso de una reacción inmunitaria, producirá síntomas que dependerán de la localización, entre los que destacan el edema, el prurito y la urticaria, o la broncoconstricción, pero debe recordarse que en estos casos, así como en las reacciones inmunitarias generalizadas, la histamina es sólo uno más de los mediadores liberados. En las reacciones inmunitarias generalizadas, los efectos de la histamina y demás mediadores contribuyen a la sintomatología del shock anafiláctico (7, 8, 9).

Cuadro 1. Sustancias liberadoras de histamina

Agentes sensibilizantes: antígenos cuya actividad depende del receptor para IgE
Agentes citotóxicos
Enzimas proteolíticas: tripsina y fosfolipasa A2
Agentes tensioactivos
Moléculas grandes
Polisacáridos (dextrano)
Lectinas: concanavalina A y fitohemaglutininas
Anafilotoxinas: fragmentos peptídicos derivados de componentes del complemento, C3a y C5a
Compuestos polibásicos: compuesto 48/80, polipéptidos (polimixina B, protamina, bradicinina, sustancia P, etc.)
Compuestos oligobásicos: fármacos diversos (curare, morfina, etc.)
Calcio y sustancias ionóforas de calcio

Fuente: Referencia 19.

13.3.1.5. Fármacos Agonistas Histamínicos

Se han desarrollado varios agonistas histamínicos con actividad preferente por uno u otro tipo de receptor. Son agonistas H1: 2-metilhistamina, betahistina, 2-(2-piridil)-etilamina y 2-(2-tiazolil)-etilamina (18, 19, 20).

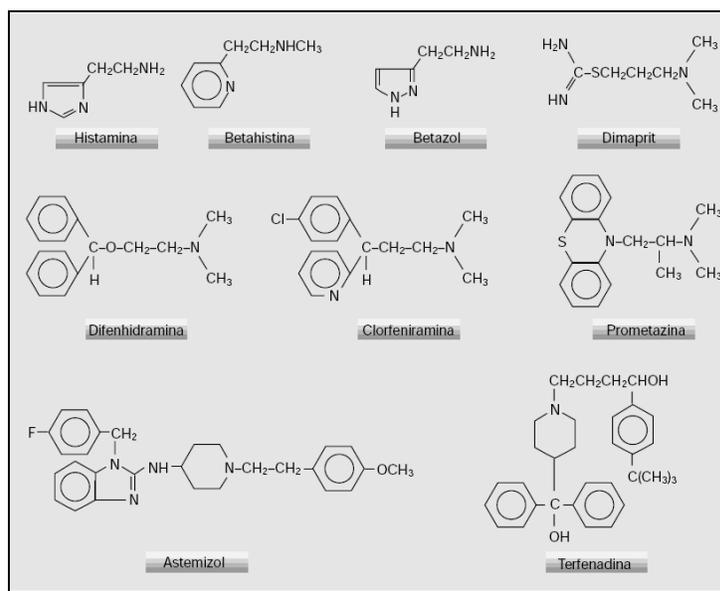
Son agonistas H2: 4-(5)-metilhistamina, impromidina, dimaprit y betazol, pero éste tiene también cierta actividad H1 (18, 19, 20).

a. Aplicaciones Clínicas

En la práctica, sólo se emplean en la prueba de la secreción gástrica. Ésta sirve para valorar la

capacidad de la mucosa para segregar jugo gástrico ácido; si no hay respuesta, se establece el diagnóstico de aclorhidria (18, 19, 20, 21).

Figura 3. Estructuras de Algunos Histamínicos



Fuente: referencia 18.

El fosfato de histamina es inyectado por vía subcutánea a la dosis de 0,01-0,03 mg/kg. Para evitar los efectos H1 que son molestos, la histamina se ha sustituido por el betazol, cuyas acciones preferentes son H2, a la dosis de 0,5 mg/kg SC o IM, o por la pentagastrina. En el caso de los agonistas H3 se ha propuesto su posible utilidad en el tratamiento del asma, pero su eficacia real en clínica está pendiente de demostración (18, 19, 20, 21).

13.3.2. Antagonistas de los Receptores H1

Concepto, estructura y mecanismo de acción Son sustancias que antagonizan los efectos H1 de la histamina por inhibir competitivamente dichos receptores; sin embargo su acción no es del todo selectiva porque inhiben también con frecuencia receptores colinérgicos periféricos y centrales, receptores

serotonérgicos y otros, y ejercen otras acciones farmacológicas con utilización terapéutica o con consecuencias adversas (18, 19, 20).

En su mayoría conservan el grupo etilamino (X-CH₂-CH₂-N) de la cadena lateral de la histamina, asociado a diversos radicales cíclicos, donde X puede ser O: etanolaminas, N: etilendiaminas y C: alquilaminas. Otros fármacos presentan estructuras químicas muy diversas (18, 19, 20).

La mayor parte de los antihistamínicos desarrollados inicialmente producen, en mayor o menor grado, sedación. De igual forma, todos ellos presentan cierta actividad antimuscarínica. Ambos hechos constituyen, con frecuencia, un factor limitante para su utilización continuada (18, 19, 20).

Sin embargo, en los últimos años se ha comenzado a desarrollar una serie de fármacos carentes tanto de acción depresora central como de efectos anticolinérgicos. Estos antihistamínicos, que podrían considerarse la segunda generación de esta familia, abren una nueva perspectiva terapéutica, sobre todo en el área de la patología alérgica (18, 19, 20).

13.3.2.1. Acciones Farmacológicas

Los antihistamínicos surgieron en la terapéutica como respuesta al descubrimiento de la participación de la histamina en algunos cuadros patológicos; pero inicialmente la histamina se relacionó con más patología de la real, por lo que se incorporaron a fórmulas antigripales y anticatarrales (18, 19, 20, 21).

Este uso terapéutico carece de fundamento. Simultáneamente se fueron descubriendo nuevas acciones farmacológicas no relacionables con la acción antihistamínica, con evidente aplicabilidad terapéutica (18, 19, 20, 21).

a. Relacionadas con el antagonismo H1 periférico

Antagonizan bien el aumento de la permeabilidad capilar, el prurito, la broncoconstricción y la contracción intestinal cuando son producidos estrictamente por la histamina, la liberación de adrenalina en la célula cromafín y la médula suprarrenal, y el reflejo axónico de la triple respuesta. Sólo parcialmente antagonizan la hipotensión y el edema secundarios a la vasodilatación, ya que en ésta existe también un componente H2 (18, 19, 20, 21).

b. Sistema Nervioso Central

Predomina la acción sedante e hipnótica, que varía según el grupo de fármacos y las personas; este efecto puede ser molesto para el trabajo diario y beneficioso para el sueño nocturno, hasta el punto de que en ocasiones se utilizan como hipnóticos. El efecto sedante que caracteriza a los antihistamínicos de primera generación depende de su capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica (18, 19, 20, 21).

Además, existe cierta relación entre el efecto depresor del SNC y el componente de bloqueo colinérgico que la mayoría de estos fármacos presenta. En niños y a veces en adultos, dosis incluso terapéuticas pueden producir un cuadro de excitación y agitación (18, 19, 20, 21).

A dosis tóxicas producen habitualmente una intensa estimulación, que puede llegar a convulsiones y activación de focos epilépticos (18, 19, 20, 21).

Es importante por su eficacia y utilidad su acción anticinetósica (18, 19, 20, 21).

c. Acción Anticolinérgica

Variable de unos productos a otros, origina sequedad de boca y mucosas, dificultades de micción y otros efectos según la dosis (18, 19, 20, 21).

d. Acción Anestésica Local

Algunos antihistamínicos H1 bloquean los canales de Na⁺ en las membranas excitables del modo en que lo hacen los anestésicos locales. Por esta razón pueden actuar sobre el corazón aumentando el período refractario y reduciendo la velocidad de conducción (18, 19, 20, 21).

e. Inhibición de la Liberación de Histamina

Algunos antihistamínicos H1, como el ketotifeno, la azclastina, la cetirizina y la azatadina, poseen además la propiedad de inhibir la actividad histaminopéxica de ciertos agentes liberadores de histamina, al menos parcialmente (18, 19, 20, 21).

Su mecanismo no es idéntico al del cromoglicato sódico, pero parece que depende de su capacidad para proteger la membrana de la célula frente al estímulo desencadenante de la liberación. Por esta razón, estos productos también pueden ser útiles en el tratamiento del asma bronquial y las rinitis alérgicas con una eficacia superior a la de los demás antihistamínicos (18, 19, 20, 21).

f. Otras Acciones

Algunos derivados, sobre todo los fenotiazínicos, ejercen un débil antagonismo de los α -adrenoceptores. La difenhidramina y la trimeprazina presentan una actividad antitusígena moderada (18, 19, 20, 21).

13.3.2.2. Características Específicas de los Diversos Antihistamínicos H1

La actual tendencia es utilizar fármacos que produzcan menor afectación del SNC, de acuerdo con lo comentado para los antihistamínicos de segunda generación (18, 22).

Las etanolaminas tienden a producir intensa sedación y poseen bastante actividad anticolinérgica; presentan, en cambio, baja incidencia de problemas gastrointestinales (18, 22).

Las alquilaminas, como la clorfeniramina, son algo menos sedantes, pero provocan con mayor frecuencia efectos estimulantes centrales (18, 22).

Las piperazinas, como la hidroxizina, en conjunto presentan una duración de acción algo más prolongada que la de los grupos anteriores, con una capacidad sedante algo menor que la de las etilendiaminas; dentro de este grupo destaca la cetirizina, un antihistamínico no sedante que inhibe además la liberación de histamina durante la respuesta de hipersensibilidad (18, 22).

Las piperidinas, como el astemizol es el prototipo de los antihistamínicos de segunda generación, libres de efectos sedantes y anticolinérgicos (18, 22).

Los derivados fenotiazínicos unen a su acción anti- H1 la actividad anticolinérgica, antiserotonérgica e, incluso, antidopaminérgica. Su parentesco con los neurolépticos es evidente, por lo que pueden producir cuadros serios de depresión central (hipotensión, hipotermia y depresión respiratoria) en personas sensibles, por sobredosificación o cuando se asocian a otros fármacos depresores. La prometazina se utiliza con bastante frecuencia, incluso para usos que nada tienen que ver con la acción H1, como estados infantiles de irritación, tos e insomnio (18, 22).

La cinarizina y la flunarizina tienen, además, acción vasodilatadora en algunos territorios porque bloquean el canal de Ca^{2+} y reducen la respuesta vasoconstrictora a la despolarización y a la acción de ciertas sustancias vasoconstrictoras. La ciproheptadina es activa sobre los receptores serotoninérgicos, empleados fundamentalmente en el tratamiento de la migraña (18, 22).

a. Características Farmacocinéticas

Todos se absorben bien por vía oral, pero la biodisponibilidad suele ser inferior al 50 % porque están sometidos a un elevado fenómeno de primer paso. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan habitualmente a las 2-3 horas. El metabolismo hepático es abundante, pero muchos de estos productos originan metabolitos activos. Éste es el caso de los derivados piperidínicos, como la terfenadina y el astemizol, cuyos metabolitos activos duplican la duración de acción antihistamínica (18, 22).

Asimismo, como ya se ha mencionado, los derivados piperidínicos no atraviesan la barrera hematoencefálica. La mayor parte de los antihistamínicos H_1 (18, 22).

b. Reacciones adversas

Son abundantes y relativamente frecuentes, si bien dependen del grupo al que cada antihistamínico pertenece y de la sensibilidad individual. En el caso de los antihistamínicos de primera generación, las más frecuentes corresponden a la acción en el SNC y al bloqueo colinérgico, si bien con el uso continuado se desarrolla cierto grado de tolerancia a la acción sedante (18, 19, 20).

En el sistema nervioso puede aparecer:

- Somnolencia, sedación, cansancio, debilidad, ataxia, hiporreflexia, conducta delirante (en particular, ancianos) y coma.
- Vértigo, diplopía, visión borrosa y dilatación de pupilas.
- Insomnio, cefalea, nerviosismo, temblores y parestesias; no son infrecuentes en los niños los síntomas excitadores.
- Convulsiones.

En el aparato cardiovascular: Taquicardia, hipertensión o hipotensión (sobre todo las fenotiazinas que produzcan bloqueo α -adrenérgico) y anomalías del ECG. En este sentido, debe tenerse en cuenta la posible aparición de arritmias, a veces graves, cuando el antihistamínico no sedante terfenadina se administra conjuntamente con los antibióticos macrólidos eritromicina o claritromicina, o con el antimicótico ketoconazol, debido a que los fármacos mencionados inhiben el metabolismo de la terfenadina por CYP3A4 (18, 19, 20).

En el aparato digestivo: Náuseas, molestias epigástricas (en especial, las alquilaminas), vómitos, pérdida de apetito, estreñimiento o diarrea (18, 19, 20).

La acción anticolinérgica provoca sequedad de boca, nariz y garganta, disuria, polaquiuria y retención urinaria (18, 19, 20).

También han aparecido leucopenia, agranulocitosis y anemia hemolítica. En aplicación tópica a menudo producen reacciones de hipersensibilidad y de fotosensibilidad dérmica (18, 19, 20).

13.3.2.3. Antihistamínicos en Asociación con Otros Fármacos

Con mucha frecuencia, los antihistamínicos se asocian con gran variedad de otros productos en preparados antigripal, en los que no falta un analgésico menor, a veces un sedante o un opioide menor (codeína) y un

simpaticomimético (fenilefrina, pseudoefedrina o fenilpropanolamina). De hecho, varios antihistamínicos (de primera generación) sólo están comercializados en productos que contienen estas asociaciones (18, 19, 20).

El antihistamínico carece de eficacia como tal, pero sus acciones sedantes y secante pueden ser beneficiosas sintomáticamente. La ingestión no controlada de estos productos de alto consumo es peligrosa porque: a) suele desconocerse su composición completa; b) favorecen la sedación, el sopor y el aturdimiento; c) asociados con alcohol potencian esta acción depresora; d) en niños, la asociación de antihistamínico y simpaticomimético puede ser excitante, y e) la necesidad de mantener controlado un síntoma (p. ej., el malestar o la fiebre) obliga a ingerir el resto de los productos (18, 19, 20).

13.3.2.4. Aplicaciones Terapéuticas

a. Procesos de Carácter Alérgico

Los antihistamínicos H1 se utilizan con gran frecuencia en procesos de tipo alérgico exudativo. Su efecto es paliativo, restringido a la supresión de los síntomas derivados de la acción de la histamina liberada, sin actuar sobre la reacción antígeno-anticuerpo. Por lo tanto, su eficacia depende exclusivamente del grado en que la histamina contribuya a la patogenia y la sintomatología de la afección (18, 19, 20, 21).

En la rinitis y la conjuntivitis alérgicas, de carácter estacional, alivian la rinorrea, el estornudo y el picor de ojos, nariz y garganta; no mejoran, en cambio, la congestión nasal. Como los síntomas son más intensos a primera hora de la mañana, se recomienda tomar un preparado de acción prolongada al acostarse. Son menos útiles en las rinitis perennes, dado que en estos cuadros predomina el componente congestivo. En las rinitis

catarrales y gripales, su pretendida eficacia se debe sólo a la acción anticolinérgica que reduce la rinorrea. En la urticaria aguda actúan particularmente sobre el picor y menos sobre el edema. En la urticaria crónica idiopática, la utilidad de los antagonistas H1 es algo menor, debiendo utilizarse preparados exentos de acción sedante (18, 19, 20, 21).

En las dermatitis atópicas así como en ciertos tipos de dermatitis de contacto, su utilidad radica en el alivio del intenso prurito. Este efecto parece que se debe fundamentalmente a la acción sedante, por lo que deben emplearse antihistamínicos «clásicos» con marcado componente de sedación. La aplicación dérmica repetida provoca con frecuencia reacciones locales de hipersensibilidad y fotosensibilidad (18, 19, 20, 21).

En el angioedema, su eficacia es variable. Si es grave por afectar la laringe, es necesario recurrir inicialmente a adrenalina SC, seguida de hidrocortisona, en infusión IV, y un antihistamínico por vía IM a dosis en el límite superior de su intervalo (18, 19, 20, 21).

En las reacciones anafilácticas, si son graves y amenazan la vida del enfermo, es necesario recurrir de entrada a la adrenalina y el cortisol; en las menos graves, los antihistamínicos H1 sirven para controlar la urticaria, el edema y el picor; pueden prevenir la hipotensión, pero una vez que ésta se ha desarrollado, su efecto es escaso (18, 19, 20, 21).

Su eficacia es también escasa en el broncoespasmo, porque en la reacción pulmonar intervienen otros muchos mediadores. Solos, o asociados a corticoides, sirven para prevenir las reacciones a inyecciones de medios de contraste, reacciones alérgicas a fármacos diversos o a transfusiones sanguíneas. Alivian

igualmente los síntomas agudos de las picaduras de insectos (18, 19, 20, 21).

En la enfermedad del suero mejoran las lesiones urticariales y edematosas, pero no influyen sobre la artralgia o la fiebre. Son poco eficaces en las alergias alimentarias. La utilidad de los antihistamínicos H1 en el asma bronquial es, en general, muy limitada, sobre todo si se considera la intensa sedación que pueden producir, pero por vía intravenosa algunos han mostrado cierta eficacia. Los antihistamínicos que presentan actividad inhibidora de la liberación de histamina, como el ketotifeno, deben considerarse de forma algo diferente (18, 19, 20, 21).

b. Procesos de carácter no alérgico

Se utilizan en el tratamiento de las cinetosis, el vértigo y los vómitos de otro origen y como hipnóticos. Se encuentran incluidos en múltiples preparaciones anticatarrales y fórmulas de antitusígenos (18, 19, 20, 21).

13.4. Ensayos de calidad de las soluciones orales

13.4.1. Medicamentos administrados por vía oral

La absorción de medicamentos suele considerarse en otras disciplinas del currículo de farmacia, particularmente en fisiología y farmacodinamia. En la administración de medicamentos por vía oral, la forma medicamentosa, los excipientes y las condiciones de fabricación desempeñan un importante papel en relación con la liberación del principio activo en la luz del tubo digestivo y también en lo relativo a velocidad de penetración, en el organismo. Entre los factores que pueden ejercer influencia sobre los principios activos se pueden mencionar los siguientes factores:

- Jugos digestivos: volumen, pH, enzimas, etc.
- Presencia de bolo alimenticio.
- Zona o zonas de absorción.
- Efectos de primer paso intestinal y hepático.

Las formas líquidas no plantean problemas de disgregación o de disolución en el tubo digestivo, lo que entraña una acción más rápida. Por el contrario no están protegidas en caso de reactividad con los jugos digestivos. Resultan con elección particularmente en los niños (1, 2, 23, 24).

Los líquidos para administración oral son habitualmente soluciones, emulsiones o suspensiones que contienen uno o más principios activos en un vehículo apropiado: Ciertos líquidos para administración oral pueden consistir en principios activos utilizados como tal (1, 2, 23, 24).

Los líquidos para administración oral son preparados que se ingieren sin diluir o previa dilución. Pueden prepararse extemporáneamente, partir de preparaciones líquidas concentradas, polvos o granulados, mediante su dilución en un vehículo apropiado (1, 2, 23, 24).

Pueden contener conservantes antimicrobianos apropiados, antioxidantes y otras sustancias auxiliares, como dispersantes, agentes de suspensión, espesantes, emulsionante, tampones, humectantes, solubilizantes, estabilizantes, aromatizantes, edulcorantes y colorantes autorizados. Los líquidos para

administración oral se acondicionan en recipientes multidosis o de dosis unitarias (1, 2, 23, 24).

Los jarabes son preparaciones acuosas azucaradas de consistencia viscosa (1, 2, 23, 24).

Por lo general se preparan con sacarosa que, a una concentración próxima al 65% y una densidad alrededor de 1,32, garantiza, tomando un mínimo de precauciones, protección antimicrobiana. Por convenio, solo se denomina jarabes las soluciones de sacarosa con una concentración superior al 45%. Recientemente se propuso la posible sustitución de sacarosa por glucosa, fructosa, azúcar invertido u otra azúcar, así como la obtención de jarabes a partir de polioles de sabor azucarado (glicerol, sorbitol, xilitol, etc.), edulcorantes artificiales y espesantes para alcanzar una viscosidad próxima a la del jarabe de sacarosa (1, 2, 23, 24).

Los jarabes pueden contener uno o varios principios activos y también sustancias auxiliares, como colorantes, aromatizantes y agentes antimicrobianos (1, 2, 23, 24).

Los jarabes se fabrican en recipientes de acero inoxidable provistos de una camisa calefactora que permita el calentamiento con vapor de agua a presión (1, 2, 23, 24).

Un sistema de agitación de paletas o de hélice facilite la disolución (1, 2, 23, 24).

La mayoría de los jarabes deben presentar un aspecto externo limpio para su dispensación. En general es suficiente una simple filtración (diversos tipos de tejidos: algodón, lana o fibras sintéticas; papel de filtro o placas filtrantes de textura adaptada a la viscosidad del jarabe y a las cantidades que hay que tratar; filtros de manga y filtros prensa). Cuando se requiere una clarificación, esta puede realizarse mediante carbón absorbente o kieselguhr, con la condición de que estas materias no absorban los principios activos u otros componentes del jarabe (colorantes, conservantes, etc.), (1, 2, 23, 24).

13.4.2. Ensayos Generales

13.4.2.1. Microbiología

En la fabricación, envasado, conservación y distribución de preparaciones líquidas para uso oral, se adoptan medidas adecuadas para garantizar su calidad microbiológica; se dan recomendaciones en este sentido en el texto *Calidad microbiológica de las preparaciones farmacéuticas*. En la fabricación, envasado, conservación y distribución de preparaciones líquidas para uso oral, se adoptan medidas adecuadas para garantizar su calidad microbiológica (1, 2).

13.4.2.2. Uniformidad de contenido

Salvo indicación contraria o excepción justificada y autorizada, las preparaciones tipo unidosis que son suspensiones satisfacen el siguiente ensayo: agitar y vaciar lo más completamente posible cada envase y efectuar el ensayo de los contenidos individuales. Satisfacen el ensayo B de uniformidad de contenido de preparaciones en dosis única (1, 2).

13.4.2.3. Uniformidad de masa

Las preparaciones líquidas envasadas en dosis única en forma de disoluciones o emulsiones satisfacen el siguiente ensayo: pesar individualmente el contenido de 20 envases, una vez vaciados tanto como sea posible, y determinar la masa media. No más de dos de las masas individuales se desvían más del 10 por ciento de la masa media, y ninguna se desvía más del 20 por ciento (1, 2).

13.4.2.4. Dosis y uniformidad de dosis de las gotas orales

Introducir en una probeta graduada apropiada, mediante el cuentagotas, el número de gotas habitualmente prescrito para una dosis o introducir mediante el dispositivo de medida la cantidad habitualmente prescrita (1, 2).

13.4.3. Monografía del Maleato de Clorfeniramina

13.4.3.1. Descripción del Maleato de Clorfeniramina

La Farmacopea Estadounidense hace referencia a Polvo cristalino blanco, inodoro, las soluciones son ácidas al tornasol pH 4 ó 5; se funde alrededor de 130-135 C pK 9.2 (1).

Se prepara por condensación de con dimetilamina en presencia de sodamida. El tratamiento de la base con una fracción equimolar de ácido maleico trae como consecuencia la formación de maleato (1).

Un gramo del principio activo se disuelve en 4mL de agua, 10 mL de alcohol o 10 mL de cloroformo; ligeramente soluble en éter o benceno (10).

13.4.3.2. Ensayos Propuestos por la USP 30

Los ensayos propuestos por la USP 30 incluyen identificación, cuantificación del principio activo, contenido de alcohol, así como los requerimientos de etiquetado, empaque y almacenamiento (10).