



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS**

**“CALIDAD DE LA VITAMINA B<sub>12</sub> INYECTABLE DISTRIBUIDA EN EL  
CENTRO MÉDICO NAVAL CIRUJANO MAYOR SANTIAGO TÁVARA,  
BELLAVISTA, JUNIO - OCTUBRE 2015”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**BACHILLER: CAVERO MEDINA, MARIO ROBERTO**

**ASESOR: Q.F. GRANDE ORTIZ, MIGUEL ANGEL**

**LIMA – PERÚ**

**2015**

A Dios y mi familia, por ser la razón que  
me impulsa a seguir adelante día a día.

Mi más sincero agradecimiento al Q.F. Miguel Grande por todo su apoyo durante la realización de esta investigación.

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar y evaluar la calidad de las ampollas de vitamina B<sub>12</sub> distribuidas en el Centro Medico Naval (CEMENA), así como hallar la concentración e identificar el principio activo hidroxocobalamina presente en las ampollas.

La técnica fue transversal porque la investigación se desarrolló en el periodo de junio a octubre de 2015.

El estudio fue experimental, pues se empleó la espectrofotometría Ultravioleta-Visible (UV-VIS); se utilizaron 10 ampollas de vitamina B<sub>12</sub> (hidroxocobalamina) que se distribuyen de manera regular en el CEMENA, específicamente en pacientes con problemas de anemia perniciosa, anemia megaloblastica y otras enfermedades relacionadas con el sistema hematopoyético.

Los resultados arrojaron que el contenido de las muestras analizadas presentaron una concentración promedio de 0,96 mg/mL, correspondiente al 96,16% de hidroxocobalamina. Así también, se midió el pH en las muestras seleccionadas, dando un promedio de 4.0 unidades de pH.

Al finalizar la investigación, se llegó a la conclusión que la identificación, concentración de la hidroxocobalamina, el porcentaje de principio activo y el pH, cumplen con los límites establecidos por la Farmacopea Británica (BP) 2014.

Palabras claves: hidroxocobalamina, anemia megaloblastica, Farmacopea Británica, espectrofotometría UV-VIS.

## ABSTRACT

This paper aims to identify and assess the quality of ampoules of vitamin B12 distributed Naval Medical Center (CEMENA) and find the concentration and identify the active substance hydroxocobalamin present in blisters.

The technique was cross because the study was conducted in the period from June to October 2015.

The study was experimental, because the UV-Visible (UV-VIS) spectrophotometry was used; 10 ampoules of vitamin B12 (hydroxocobalamin) which are distributed regularly in the CEMENA, specifically in patients suffering from pernicious anemia, megaloblastic anemia and other hematopoietic system related diseases were used.

The results showed that the content of the samples analyzed had an average concentration of 0.96 mg / mL, corresponding to 96.16% of hydroxocobalamin. Also, the pH was measured on selected samples, giving a 4.0 pH units.

After the investigation, it was concluded that the identification, hydroxocobalamin concentration, the percentage of active ingredient and pH meet the limits set by the British Pharmacopoeia (BP) 2014.

Keywords: hydroxocobalamin, megaloblastic anemia, British Pharmacopoeia, UV-VIS spectrophotometry.

# ÍNDICE

<b>CARATULA</b> .....	i
<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iii
<b>RESUMEN</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	xii
<b>ÍNDICE DE GRAFICOS</b> .....	xiii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	xiv
<b>CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	15
<b>1.1 Descripción de la Realidad Problemática</b> .....	15
<b>1.2 Formulación del Problema</b> .....	16
<b>1.3 Objetivos de la Investigación</b> .....	16
1.3.1 Objetivo General.....	16
1.3.2 Objetivos Específicos.....	16
<b>1.4 Hipótesis de la Investigación</b> .....	17
1.4.1 Hipótesis General.....	17
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	17

<b>1.5 Justificación e Importancia de la Investigación</b> .....	18
1.5.1 Justificación de la Investigación.....	18
1.5.2 Importancia de la Investigación .....	<b>18</b>
<b>CAPITULO II: MARCO TEÓRICO</b> .....	20
<b>2.1 Antecedentes de la Investigación</b> .....	20
2.1.1 Antecedentes Nacionales.....	20
2.1.2 Antecedentes Internacionales .....	20
<b>2.2 Bases Teóricas</b> .....	23
2.2.1 Control de Calidad.....	23
2.2.2 Evolución histórica de normativa farmacéutica .....	24
2.2.3 Departamento de control de calidad.....	24
2.2.4 Requisitos básicos para Control de Calidad .....	25
2.2.5 Requerimientos básicos para Control de Calidad .....	26
2.2.6 Controles de rutina farmacéuticos .....	26
2.2.7 Validación de métodos de análisis.....	30
2.2.8 Espectrofotometría UV–VIS.....	35
2.2.9 Vitamina B <sub>12</sub> : fuentes, funciones e importancia .....	43
<b>2.3 Definición de términos básicos</b> .....	65

<b>CAPITULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>69</b>
<b>3.1 Tipo de Investigación .....</b>	<b>69</b>
3.1.1 Método .....	69
3.1.2 Técnica.....	69
3.1.3 Diseño .....	69
<b>3.2 Población y Muestreo de la Investigación .....</b>	<b>70</b>
3.2.1 Población .....	70
3.2.2. Muestra .....	70
<b>3.3 Variables e Indicadores.....</b>	<b>70</b>
<b>3.4 Técnicas e Instrumentos .....</b>	<b>70</b>
3.4.1 Técnicas.....	70
3.4.2 Instrumentos.....	71
<b>CAPITULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>72</b>
<b>4.1 Resultados.....</b>	<b>72</b>
<b>4.2 Análisis e Interpretación de Resultados .....</b>	<b>77</b>
4.2.2 Especificaciones .....	77
<b>DISCUSION.....</b>	<b>79</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>82</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>83</b>
<b>FUENTES DE INFORMACIÓN .....</b>	<b>84</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA N° 1: DATOS DE LA MUESTRA.....</b>	<b>72</b>
<b>TABLA N° 2: DATOS DE LA CANTIDAD DE MUESTRA EMPLEADA DE HIDROXOCOBALAMINA.....</b>	<b>72</b>
<b>TABLA N° 3: LECTURAS PROMEDIO DE LA MUESTRA OBTENIDOS POR EL ESPECTROFOTÓMETRO.....</b>	<b>74</b>
<b>TABLA N° 4: CUANTIFICACIÓN DE LA MUESTRA.....</b>	<b>76</b>
<b>TABLA N° 5: DETERMINACIÓN DEL PH.....</b>	<b>77</b>

## ÍNDICE DE GRAFICOS

<b>FIGURA N° 1:</b> PARTES Y MECANISMO DEL ESPECTROFOTÓMETRO UV-VIS...	38
<b>FIGURA N° 2:</b> ESQUEMA DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA (REM).....	39
<b>FIGURA N° 3:</b> ESTRUCTURA DE LA VITAMINA B <sub>12</sub> .....	46
<b>FIGURA N° 4:</b> METABOLISMO Y MECANISMO DE ACCIÓN DE LA VITAMINA B <sub>12</sub> .....	50
<b>FIGURA N° 5:</b> PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	76

## INTRODUCCIÓN

La vitamina B<sub>12</sub> está indicada en múltiples enfermedades del sistema hematopoyético, siendo la más frecuente aquella que es causada por deficiencia del factor intrínseco, la anemia perniciosa. Esta es empleada también en la profilaxis de anemia macrocítica, malabsorción de vitamina B<sub>12</sub>, problemas ópticos (ambliopía por tabaco), anemias macrocíticas asociadas a alteraciones neurológicas.

En este trabajo, se utilizó el método analítico por espectrofotometría UV-VIS, por ser un método económico, sencillo, rápido y que permite controlar la calidad del producto terminado, al utilizar un método analítico previamente validado, lo cual demuestra que el método es seguro para obtener los resultados previstos.

Se utilizaron como referencia los parámetros descritos en la Farmacopea Británica (BP) 2014, así como diferentes antecedentes con respecto al tema.

El presente trabajo no solo tiene como objetivo evaluar el nivel de calidad de la vitamina B<sub>12</sub> inyectable distribuida en el Centro Medico Naval, también, garantizar la seguridad y eficacia que presenta este fármaco, para que su comercialización y distribución en los establecimientos de salud a nivel nacional, no sea un motivo de preocupación.

# CAPÍTULO I:

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 Descripción de la Realidad Problemática:

Hoy en día se tiene como objetivo reducir la cantidad de fármacos sin calidad como resultado del mayor número de pesquisas y la nueva Ley de Medicamentos 29459, la cual rige desde el año 2009 y en la que se establecen requisitos para solicitar el registro sanitario de los productos farmacéuticos y así garantizar su eficacia, calidad y seguridad.

Uno de los informes realizados por el Observatorio de la Calidad de los Medicamentos de la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID) en el año 2012, arrojó una cantidad considerable de fármacos de dudoso origen; según el documento de las 450 evaluaciones realizadas, se tuvo como resultado la existencia de 123 medicamentos que no cumplen con los estándares de calidad que establece el Ministerio de Salud (MINSA).

El dato más impactante de esta evaluación es que en la actualidad hay 9 medicamentos con una calificación de deficiente crítico, los que en pocas palabras, ponen en riesgo la salud de la población del país.

Para poder erradicar y detener esta situación, uno de los factores es el cambio normativo que entró en vigencia en enero de 2009 con la Ley de medicamentos y los

Reglamentos adjuntos, los cuales están poniendo en orden tanto a los laboratorios como a las droguerías, en lo que respecta a la calidad de sus productos.

Otra de las acciones realizadas es el incremento de las pesquisas a nivel nacional, que junto con lo mencionado líneas arriba, buscará reducir aún más este tipo de problemas que no solo afecta a nuestro país, sino también a gran parte de nuestro continente.<sup>1</sup>

## **1.2 Formulación del Problema:**

¿Cuál será el nivel de calidad de la vitamina B<sub>12</sub> inyectable distribuida en el Centro Medico Naval (CEMENA) Cirujano Mayor Santiago Távara, Bellavista de junio a octubre de 2015?

## **1.3 Objetivos de la Investigación:**

### **1.3.1 Objetivo General:**

Determinar la calidad de la vitamina B<sub>12</sub> inyectable distribuida en el Centro Medico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, Bellavista de junio a octubre de 2015.

### **1.3.2 Objetivos Específicos:**

- ✓ Identificar el principio activo hidroxocobalamina presente en la vitamina B<sub>12</sub> inyectable.

- ✓ Determinar la concentración de hidroxocobalamina presente en la vitamina B<sub>12</sub> inyectable.
  
- ✓ Determinar el pH de hidroxocobalamina presente en la vitamina B<sub>12</sub> inyectable.

#### **1.4 Hipótesis de la Investigación:**

##### 1.4.1 Hipótesis General

La vitamina B<sub>12</sub> inyectable distribuida en el Centro Medico Naval Cirujano Mayor Santiago Távora presentaría un nivel de calidad bajo.

##### 1.4.2 Hipótesis Secundarias

- ✓ La vitamina B<sub>12</sub> inyectable no presentaría el principio activo hidroxocobalamina.
  
- ✓ La vitamina B<sub>12</sub> inyectable no presentaría una concentración de hidroxocobalamina dentro de los límites especificados por la Farmacopea Británica (BP) 2014.
  
- ✓ La vitamina B<sub>12</sub> inyectable no presentaría un pH adecuado de hidroxocobalamina dentro de los límites establecidos por la Farmacopea Británica (BP) 2014.

## **1.5 Justificación e Importancia de la Investigación:**

### 1.5.1 Justificación de la Investigación

Los medicamentos de calidad deficiente perjudican las prestaciones de atención de salud y son, desgraciadamente, muy frecuentes en muchos países.

Existen normas de calidad aceptadas al análisis de fármacos publicadas en varias farmacopeas, como la de los Estados Unidos (EE.UU), la Británica, la Europea y las Farmacopeas Internacionales.

Los criterios de calidad son: identidad, concentración, uniformidad de contenido de la forma farmacéutica, biodisponibilidad y estabilidad.

Todos estos aspectos de la calidad pueden verse afectados por el proceso de fabricación, el envasado, el almacenamiento y otros factores. Una calidad deficiente puede dejar al medicamento sin efecto terapéutico y puede ocasionar reacciones adversas o tóxicas; estas, a su vez, pueden producir daños a los pacientes prolongando su enfermedad o induciendo un problema de salud nuevo, además de malgastar recursos limitados.<sup>4</sup>

### 1.5.2 Importancia de la Investigación

Esta investigación es importante porque nos permite conocer y determinar si la calidad y la concentración del principio activo cumplen o no con los estándares referidos en la Farmacopea Británica (BP), y de esta manera saber

si es un medicamento seguro y eficaz para poder ser distribuido y ponerlo al alcance de la población.

El control de la calidad es la parte de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) que consiste en el análisis de muestras de los fármacos para comprobar si cumplen determinados parámetros de calidad. Durante el proceso de fabricación, el fabricante analiza en el laboratorio muestras de fármacos y los resultados se reflejan en un certificado de análisis de cada lote.

La detección en esa etapa de muestras de calidad deficiente, que no cumplen las normas, puede deberse a diversas causas, como al empleo de prácticas incorrectas de fabricación, almacenamiento o manipulación.

Los problemas de seguridad de los medicamentos se deben habitualmente a errores de medicación, a deficiencias de calidad y a la inseguridad inherente de ciertos fármacos.

Estos problemas de seguridad se manifiestan como Reacciones Adversas a los Medicamentos (RAMs), que pueden producir daños graves a los pacientes o una prolongación de su estancia en el hospital y ocasionar un gran consumo de recursos.<sup>2</sup>

## **CAPÍTULO II:**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 Antecedentes de la Investigación:**

##### 2.1.1 Antecedentes Nacionales

No se encontraron antecedentes con respecto al tema.

##### 2.1.2 Antecedentes Internacionales

- Gonzales O, Rodríguez P, Francis L, Bergado J, (Desarrollo de la formulación Compvit-B® inyectable, Revista Cubana de Farmacia.) En este estudio lo que se buscó fue desarrollar una formulación de vitaminas del complejo B con una concentración alta y adecuada para combatir las neuropatías que en ese momento eran muy frecuentes en Cuba, se propusieron 8 variantes y solo se escogió una, la cual contenía Tiamina (B<sub>1</sub>), Piridoxina (B<sub>6</sub>) y Hidroxocobalamina (B<sub>12</sub>), se determinó la concentración de esta última por espectrofotometría, con un estándar de la misma al 0,03%. En conclusión, se obtuvo un producto farmacéutico inyectable, liofilizado de factura llamado Compvit-B®, compuesto por 100 mg de B<sub>1</sub>, 100 mg de B<sub>6</sub> y 5 000 µg de B<sub>12</sub>, que cumple con las especificaciones propuestas y que exigen los órganos regulatorios en la producción de medicamentos para uso humano.<sup>3</sup>

- Botet M, Garcia C, Troche Y, Cañizares Y, Moreno B, (Validación de método analítico para el control de la calidad de vitamina B<sub>12</sub> 10000 inyección, Revista Cubana de Farmacia.) En este estudio se validó el método de análisis por espectrofotometría para cuantificar la cianocobalamina en las ampollas de vitamina B<sub>12</sub> teniendo como referencia la Farmacopea Americana USP 30, del año 2007. La sustancia de referencia química cianocobalamina fue suministrada por el grupo de sustancias de referencia del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), la cual fue analizada por el método cromatográfico establecido para realizar el control de la calidad de la materia prima, con una pureza de 99,5 %. El producto terminado en forma de inyectable fue elaborado en la empresa farmacéutica "Julio Trigo", identificado como el lote 7001, fabricado en enero de 2007, el cual cumplió con las especificaciones de calidad establecidas para el control de la calidad del inyectable.

Los resultados del estudio de linealidad realizado muestran coeficientes de regresión y de determinación superiores a los exigidos por la USP 30, 2007 y la Regulación 41-2007 del CIDEM, 0,99 y 0,98 respectivamente, lo cual demuestra con el valor del coeficiente de correlación obtenido, cercano a la unidad, la existencia de correlación, así como el grado de relación entre las variables concentración y respuesta detectada por el equipo empleado. En el estudio de la repetibilidad realizado a una misma muestra, por el mismo analista, el mismo día, a través de 6 réplicas, se alcanzó un

coeficiente de variación adecuado (0,59 %), lo que demostró la buena precisión del método, según el límite para los métodos espectrofotométricos:  $CV \leq 3,0\%$ , esto evidencia que el método era repetible en las condiciones del laboratorio. Los resultados del estudio de especificidad, permitieron afirmar que el método fue específico en relación con los excipientes que componían la solución y que era aplicable al control de la calidad y al estudio de estabilidad del producto terminado, porque no se observó interferencia de estos en la determinación del principio activo, ya que los valores de absorbancia correspondientes al placebo son menores del 1 %, con respecto al valor de la sustancia de referencia, por lo tanto se demuestra la especificidad del método.

El estudio concluye que el método analítico validado por espectrofotometría UV para la cuantificación del principio activo del inyectable de vitamina B<sub>12</sub> para el control de la calidad y el estudio de estabilidad resultó ser lineal, preciso, exacto, robusto y específico, en el intervalo de concentraciones establecido y puede ser establecido como método de control de calidad químico al producto terminado.<sup>4</sup>

- Sánchez J, (Estabilidad de la Hidroxocobalamina en agua para inyección como antídoto contra cianuros.) Se evaluó la estabilidad de la Hidroxocobalamina en ampolla como antídoto para cianuros utilizando la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando como referencia la Farmacopea Europea séptima edición. También se aplicó la

espectrofotometría ultravioleta visible; en este caso se utilizó como diluyente de las muestras ácido clorhídrico 0,01 N, mientras el rango de longitud de onda fue de 350 a 200 nm.

Se concluyó que la solución inyectable de cloruro de hidroxocobalamina en agua para inyección a la concentración indicada como antídoto contra cianuros, lista para administrar, es estable a temperaturas inferiores a 25° C, al menos durante un periodo de 15 meses. Por su inercia química y propiedades físicas, los viales de polipropileno constituyen el envase más adecuado para esta solución, que no puede ser autoclavada, y debe ser preparada por vía aséptica sin esterilización terminal.<sup>5</sup>

## **2.2 Bases Teóricas:**

### **2.2.1 Control de Calidad**

El control de calidad consiste en realizar mediciones de parámetros del producto, determinando si los valores obtenidos están en concordancia con unas especificaciones preestablecidas. Generalmente, dicho control de calidad es aplicado a los productos producidos y utilizados por una empresa, ya se trate de productos finales, intermediarios o materias.

### 2.2.2 Evolución histórica de normativa farmacéutica:

- En 1906, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) legislaba sobre el transporte interestatal de alimentos y medicamentos adulterados (Acta 1906).
- En 1938, mueren más de 100 niños en (EE.UU) como consecuencia de la comercialización de una solución de sulfanilamida en dietilenglicol, esto dio origen a una enmienda del Acta Federal de 1906 en la cual se incluyó el concepto de seguridad de los medicamentos.
- En la década del 60, el desastre de la talidomida marca un punto de inflexión en lo referente a normativa farmacéutica. Se introducen en todos los países desarrollados una serie de leyes que exigen seguridad y eficacia demostrada con ensayos clínicos controlados.

### 2.2.3 Departamento de control de calidad

- Cada ente que tenga una autorización de fabricación debe tener un departamento de Control de Calidad.
- La independencia del departamento de producción y, de otros departamentos se considera fundamental.

- Debe estar bajo la autoridad de una persona debidamente calificada y con experiencia de uno o varios laboratorios de control a su disposición.

#### 2.2.4 Requisitos básicos para Control de Calidad

##### ✓ Recursos

- Instalaciones físicas adecuadas
- Personal capacitado
- Procedimientos aprobados

##### ✓ Tareas

- Muestreo
- Preparación de patrones de trabajo
- Inspección
- Ensayos
- Vigilancia
- Liberación/Rechazo

##### ✓ Objetos

- Materia prima
- Materiales de empaque
- Productos intermediarios
- Productos a granel
- Productos terminados

- Condiciones ambientales

#### 2.2.5 Requerimientos básicos para Control de Calidad

- Muestreo aprobado por el Departamento de Control de Calidad
- Método de análisis validado
- Registros
- Revisión y producción de la documentación de producción
- Investigaciones de las fallas para todas las desviaciones
- Ingredientes que cumplan con la autorización de comercialización
- Ingredientes que tengan la pureza requerida
- Envases adecuados
- Etiquetado correcto
- Liberación de los lotes por la persona autorizada
- Muestras de retención de las materias primas y de los productos

#### 2.2.6 Controles de rutina farmacéuticos:

- ✓ Ensayos habituales en control de calidad:
  - Las analíticas que se realizan en un Departamento de Control de Calidad son numerosas y variadas, debido al gran número de productos distintos que se analizan y a las exigencias de cada producto.

- Algunas pruebas son específicas para algunos productos, mientras que otros ensayos son más generales y se realizan para casi todos los productos.
- Aspecto: se trata de realizar una descripción cualitativa sobre el producto, tanto si es materia prima como producto acabado o intermedio. Se comprueban distintas características del producto como pueden ser: apariencia (sólido, líquido, suspensión), color, forma, tamaño, entre otros.
- Identificación: estos ensayos deben establecer la identidad del producto analizado y ser capaces de discriminar entre compuestos parecidos o de estructura relacionada que pueden formar parte de la muestra. Este ensayo debe ser lo más específico posible. La falta de especificidad de un método de identificación puede ser resuelta mediante la combinación de varios métodos.
- Ensayo de contenido: consiste en una determinación cuantitativa del producto, para establecer su grado de pureza o bien para determinar el contenido de uno o más componentes.

- Sustancias relacionadas: bajo este nombre se recogen posibles impurezas que puede contener una muestra, tanto derivadas de la degradación de algunos de los componentes de la muestra como del proceso de producción.
- Propiedades físico-químicas: estas propiedades varían en función de la naturaleza del producto. En preparados líquidos pH, acidez, en sólidos tamaño de la partícula, dureza, entre otros.
- Ensayo de disolución: es una medida cómo el producto es liberado de la forma farmacéutica. Es una prueba muy importante en control de calidad de preparados sólidos ya que da una aproximación del comportamiento del medicamento, en el cuerpo.
- Ensayo de uniformidad de unidades de dosificación: es la medida de homogeneidad del producto.
- Ensayos biológicos: este tipo de ensayos se realiza utilizando organismos microbiológicos para evaluar determinadas propiedades del fármaco. Se suelen realizar para muestras líquidas de las cuales debe evaluarse su esterilidad o su carga

microbiológica, o bien para antibióticos y vacunas para determinar su efectividad.

✓ Métodos instrumentales

- Cromatografía de líquidos de alta eficiencia: aplicación en ensayos de contenido, caracterización de impurezas (acopladas con espectroscopia de masas), determinación de impurezas y ensayos de estabilidad.
- Cromatografía de Gases: aplicación en ensayos de contenido, caracterización de impurezas (acopladas con espectroscopia de masas), determinación de impurezas e impurezas orgánicas volátiles (solventes residuales).
- Espectrofotometría UV-VIS: aplicación en ensayos de contenido, ensayos de disolución y determinación de impurezas.
- Espectrofotometría en el infrarrojo cercano: aplicación en ensayos en proceso.
- Espectrofotometría de absorción y emisión atómica: aplicación en ensayos de contenido de metales (Na, Li, K) y determinación de impurezas metálicas (Al, Fe).

- Polarimetría: aplicación en determinación de pureza óptica y determinación de excesos enantioméricos.
  
- ✓ Nuevos métodos instrumentales:
  - Métodos de análisis térmico: calorimetría diferencial de barrido (DSC), termogravimetría (TG).
  
  - Electroforesis Capilar: tendencia a reemplazar a la HPLC.

#### 2.2.7 Validación de métodos de análisis:

- Los métodos de análisis utilizados en el control de calidad de productos farmacéuticos deben haber sido validados, previo a su uso, en rutina.
  
- La validación de un método de ensayo tiene como finalidad demostrar la idoneidad de dicho método, para llevar a cabo un análisis determinado.
  
- Mediante la validación de un método se establece si los parámetros de calidad satisfacen los requisitos de una aplicación analítica concreta.
  
- Se requiere experimentación y comparación con valores de referencia bien conocidos.

Los objetivos de una validación analítica son:

- Garantizar la coherencia entre los resultados obtenidos y las necesidades.
- Asegurar la calidad y constancia de la calidad de la información obtenida.
- Caracterizar métodos y herramientas analíticas.
- Facilitar las auditorías de calidad, fundamentar la transferencia (de métodos y herramientas) y la armonización de los resultados entre los laboratorios, con el objetivo de conseguir el reconocimiento mutuo entre laboratorios.

Según la metódica de análisis que se realice, las validaciones pueden ser:

- Prospectivas: para metódicas nuevas.
- Retrospectivas: para metódicas muy utilizadas que no han sido validadas, de las cuales se posee suficiente información para ser validadas.
- Revalidaciones: para metódicas validadas en las cuales se han introducido cambios. El grado de validación dependerá de la naturaleza de los cambios.

✓ Selectividad:

La selectividad de un método, también denominada especificidad, es la capacidad del método para asegurar que se está evaluando el analito de interés en presencia de una matriz con otros componentes. La conferencia internacional sobre armonización de requisitos técnicos para el registro de productos farmacéuticos para uso humano (ICH) distingue dos categorías, en la evaluación de la selectividad:

- Identificación: Puede confirmarse con resultados positivos al comparar con muestras de referencia que contengan el analito, en conjunción con resultados negativos con muestras que no lo contienen.
- Métodos Cuantitativos: Estos incluyen determinación de contenidos y ensayos de impurezas. Cuando se valida un método cuantitativo en cuanto a la selectividad, se debe demostrar que se discrimina entre el analito a determinar de impurezas o excipientes.

✓ Linealidad:

Demostrar la linealidad de un método implica obtener en todo el intervalo de concentraciones estudiado, una respuesta proporcional

entre la concentración del analito y la magnitud física medida descrita correctamente, por el modelo o ecuación de calibración.

✓ Intervalo:

Es el intervalo entre los niveles extremos de concentraciones que puede ser determinado de forma precisa, exacta y lineal. ICH aconseja cubrir intervalos de 80-120 %, para análisis cuantitativo o bien 70-130 %, para ensayos de uniformidad de dosis.

✓ Exactitud

La exactitud de un método analítico expresa la proximidad entre los valores obtenidos por dicho método con los valores reales, obtenidos mediante pesada de un estándar o bien con valores obtenidos por un método de referencia adecuado. ICH recomienda realizar un mínimo de 9 determinaciones, cubriendo tres niveles de concentración (3 niveles x 3 replicados). Para preparados farmacéuticos puede evaluarse la exactitud realizando un mínimo de 6 determinaciones distintas.

✓ Precisión

Es una medida del error aleatorio asociado al método analítico. Los resultados pueden expresarse en términos de desviación estándar absoluta o bien relativa (%CV). El nivel de exigencia de los resultados dependerá del tipo de muestra y del método utilizado.

Según ICH, tres niveles:

- Repetibilidad
- Precisión intermedia
- Reproducibilidad

✓ Límite de detección

Se define como la cantidad más pequeña de analito que puede ser detectada en una muestra, aunque no sea posible determinarla a ese nivel de concentración. Existen diversas aproximaciones para obtener este valor:

- Inspección visual en métodos no instrumentales.
- Cálculos estadísticos basados en la relación señal/ruido, aplicables a métodos con línea de base.
- Cálculos estadísticos basados en la desviación estándar de la respuesta obtenida, ya sea de los valores obtenidos o bien de parámetros de la curva de calibración o del blanco.
- Este es un parámetro para métodos de análisis de trazas y puede ser necesario en ensayos de uniformidad y de disolución.

✓ Límite de cuantificación

Es el nivel de concentración mínimo que puede ser determinado de forma exacta y precisa, bajo las condiciones operacionales normales. Es un compromiso entre la concentración del analito y la precisión y exactitud deseadas. Se suelen utilizar para su cálculo los mismos parámetros que en el límite de detección, aunque con criterios de aceptación ligeramente distintos.

✓ Robustez

Es la evaluación de la susceptibilidad del método de análisis a variaciones de las condiciones analíticas, como variaciones en reactivos y variaciones instrumentales.<sup>6</sup>

### 2.2.8 Espectrofotometría UV–VIS

La espectrofotometría UV-VIS es una de las técnicas más utilizadas en química analítica; se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética (REM), en el rango de longitudes de onda del ultravioleta y visible, que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente. En otras palabras, se encarga de estudiar la interacción de la radiación electromagnética con la materia, mide la cantidad de luz absorbida en función a la longitud de onda utilizada, que comprende la región entre 160 y 780 nm.

Para que la radiación electromagnética incidente reaccione con la materia, tiene que tener una longitud de onda ( $\lambda$ ) del mismo tamaño o menor que las dimensiones del cuerpo irradiado. Es por ello que la radiación de la región ultravioleta nos permite obtener información de las transiciones electrónicas de las moléculas.

Todas las técnicas de absorción suponen que cuando una radiación incide sobre una muestra, se produce una absorción parcial de esta radiación, lo que hace que se produzca una transición entre los niveles energéticos de la sustancia; átomo, molécula o ion X, pasando esta al estado excitado,  $X^*$ , el resto de radiación es transmitida. Así analizando una u otra podemos relacionar la cantidad de especie activa presente en la muestra.

Concluyendo, entonces, que esta técnica nos permite identificar sustancias químicas (análisis cualitativo) y determinar su concentración (análisis cuantitativo).<sup>7, 8</sup>

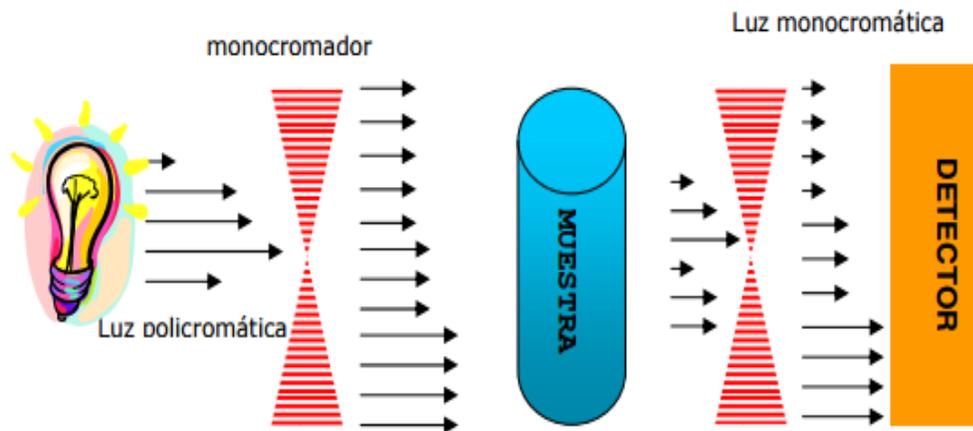
✓ Espectrofotómetro

Es el equipo que utilizamos para medir la absorción o transmisión de luz por parte de una muestra. Consta de las siguientes partes:

- Fuente de luz: suele ser una lámpara que emite una luz (por incandescencia de un filamento) policromática, es decir que contiene distintas longitudes de onda con distintas intensidades.

- Sistema óptico: a través de filtros, lentes y redes de difracción se focaliza el haz de luz y se selecciona una longitud de onda fija.
- Compartimiento muestra: es donde se coloca la muestra, con un espesor conocido, normalmente disuelta y en una cubeta de 1 cm de paso óptico, sobre la que se hace incidir el haz de luz monocromática.
- Sistema óptico: recibe la luz transmitida por la muestra, la focaliza y selecciona por longitudes de onda.
- Detector: recibe la señal de la intensidad de la luz transmitida a cada longitud de onda y la transforma en señal eléctrica que un ordenador pueda procesar.<sup>8</sup>

## FIGURA N° 1: PARTES Y MECANISMO DEL ESPECTROFOTÓMETRO UV-VIS



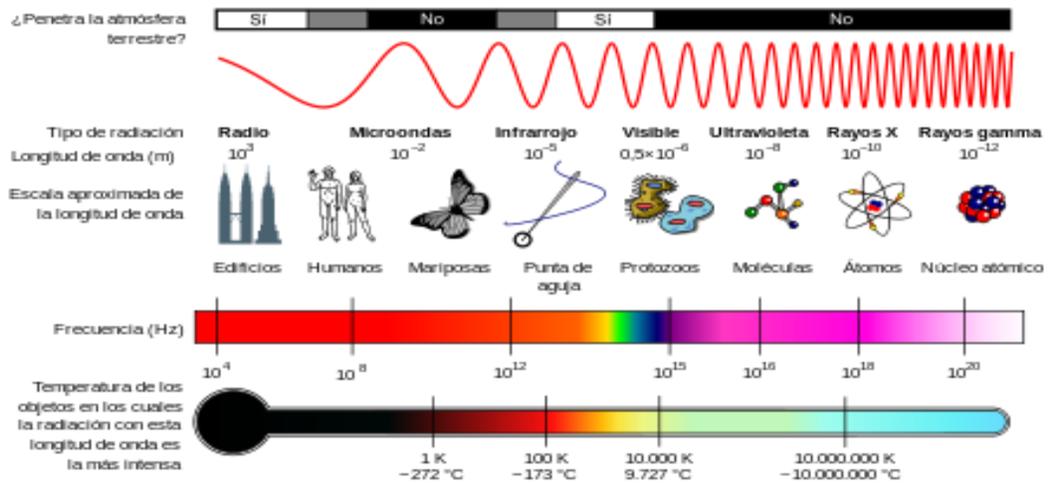
Fuente: espectroscopia ultravioleta-visible. Disponible en: <http://ocw.uc3m.es/ingenieria-quimica/quimica-ii/practicas-1/PR-F-Anexos.pdf>

### ✓ Radiación Electromagnética

Es la propagación de energía a través del espacio sin soporte de materia, a través de ondas producidas por la oscilación o aceleración de una carga eléctrica.

Esta radiación se puede ordenar en un espectro que se extiende desde ondas de frecuencia muy elevadas (rayos gamma) hasta frecuencias muy bajas (ondas de radio). La luz ultravioleta – visible es solo una pequeña parte del espectro electromagnético, visible (380 a 780 nm) y ultravioleta (160 a 380 nm).<sup>8</sup>

## FIGURA N° 2: ESQUEMA DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA (REM)



Fuente: Radiaciones ionizantes y no ionizantes. Disponible en:

[http://www.rinconeducativo.org/radiacio/2radiaciones\\_ionizantes\\_y\\_no\\_ionizantes.html](http://www.rinconeducativo.org/radiacio/2radiaciones_ionizantes_y_no_ionizantes.html)

### ✓ Ley de Beer–Lambert–Bouguer

Esta Ley fue descubierta de formas diferentes e independientes, en primer lugar por el matemático y astrónomo francés Pierre Bouguer en 1729; luego, por el filósofo y matemático alemán Johann Heinrich Lamber en 1760; y por último, el matemático y físico también alemán, August Beer en el año 1852.

Se puede decir que esta Ley se trata de un medio o método matemático, el cual es utilizado para expresar de qué modo la materia absorbe la luz. En óptica (Rama de la física que se encarga

del estudio de la luz) La ley de Beer afirma que la totalidad de luz que emana de una muestra puede disminuir debido a tres fenómenos de la física, que serían los siguientes:

- El número de materiales de absorción en su trayectoria, el cual se denomina concentración.
- Las distancias que la luz debe atravesar a través de las muestra. Denominamos a este fenómeno, distancia del trayecto óptico.
- Las probabilidades que hay de que el fotón de esa amplitud particular de onda pueda absorberse por el material, esto es la absortividad o también coeficiente de extinción.

La relación anterior puede expresarse de la siguiente manera:

$$A = -\epsilon cd$$

Donde:

- A = Absorbancia
- E = Constante de absortividad
- D = Recorrido en cm
- C = Concentración

A medida que la luz atraviesa un medio que la absorbe, la cantidad de luz absorbida en cualquier volumen corresponde a la intensidad de luz que incide, luego se multiplica por el coeficiente de la absorción. Frecuentemente, la intensidad de un haz de luz incidente declina significativamente a medida que pasa a través del medio absorbente. Cuando esta relación se expresa como Ley de Bouguer-Lambert-Beer, tenemos que:

$$T = 10^{-\epsilon cd} \quad \text{o} \quad T = 10^{-A}$$

Donde:

- T = Transmitancia
- E = Constante de absortividad
- D = Recorrido en cm
- C = Concentración

La transmitancia se puede expresar como la intensidad de la radiación incidente, esto puede dividirse a la luz que emerge de la muestra. La transmitancia se puede trazar con relación a la concentración, pero esta relación no sería lineal. Aunque el logaritmo negativo en base 10 de la transmitancia sí es lineal con la concentración. De esta forma, la absorción es medida como:

$$A = -\log_{10}\left(\frac{I}{I_0}\right) \quad \circ \quad A = -\log_{10}(T)$$

En resumen, esta Ley nos permite hallar la concentración de una especie química a partir de la medida de la intensidad de la luz absorbida.<sup>9</sup>

✓ Limitaciones de la Ley de Beer-Lambert:

- Solo describe bien el comportamiento de soluciones diluidas (menores a 10 Mm), esto se debe a que a mayores concentraciones, la distancia entre las moléculas disminuye y son afectadas electrostáticamente, por lo que disminuye su capacidad de absorción.
- Desviaciones químicas: son moléculas estables en disolución y sin partículas en suspensión. No se cumple cuando el analito se asocia, disocia o reacciona con el disolvente para dar lugar a un producto que presenta un espectro de absorción diferente.
- Desviaciones instrumentales: solo se cumple con radiaciones monocromáticas.<sup>10</sup>

### 2.2.9 Vitamina B<sub>12</sub>: fuentes, funciones e importancia

La vitamina B<sub>12</sub> es una de las vitaminas esenciales y de mayor importancia en la dieta, guarda relación con el ácido fólico ya que estos actúan juntos, en algunas funciones metabólicas. La carencia de cualquiera de los dos da por resultado síntesis defectuosa de ADN en cualquier célula en la cual esté ocurriendo replicación y división de los cromosomas. Puesto que los tejidos con la mayor tasa de recambio celular son aquellos que sufren los cambios más notorios, el sistema hematopoyético es especialmente sensible a la carencia de estas vitaminas.

Un signo temprano de carencia es una anemia megaloblástica. Se producen eritrocitos macrocíticos anormales y sobreviene anemia grave. Esta forma de hematopoyesis anormal, que se reconoció en el siglo XIX, denominada anemia perniciosa, estimuló investigaciones que condujeron, por último, al descubrimiento de la vitamina B<sub>12</sub> y el ácido fólico.

Incluso hoy, la anomalía característica de la morfología de los eritrocitos tiene importancia para el diagnóstico y como guía terapéutica, después de la administración de las vitaminas.

#### ✓ Historia

El descubrimiento de la vitamina B<sub>12</sub> constituye un hecho histórico que se inició hace más de 180 años. Las primeras descripciones de lo que debieron ser anemias megaloblásticas aparecieron en el

trabajo de Combe y Addison, quienes publicaron una serie de informes de casos a partir de 1824; todavía es frecuente que se llame anemia perniciosa addisoniana a la anemia megaloblástica. Si bien Combe sugirió que el trastorno podría tener cierta relación con los procesos digestivos, fue Austin Flint quien, en 1860, describió por primera vez la atrofia gástrica grave y llamó la atención respecto a su posible vínculo con la anemia.

Después que, en 1925, Whipple observó que el hígado es fuente de una potente sustancia hematopoyética para perros con deficiencia de hierro, Minot y Murphy llevaron a cabo experimentos que les hicieron acreedores del premio Nobel, donde demostraban la eficacia de la alimentación con hígado para revertir la anemia perniciosa. Años después, Castle definió la necesidad tanto de factor intrínseco, una sustancia secretada por las células parietales de la mucosa gástrica, como de factor extrínseco, material similar a la vitamina presente en extractos de hígado crudo. Sin embargo, tuvieron que pasar casi 20 años para que Rickes, así como Smith y Parker, aislaran la vitamina B<sub>12</sub> y la cristalizaran; Dorothy Hodgkin recibió el premio Nobel por determinar su estructura cristalina mediante rayos X.

Investigaciones recientes han demostrado que la vitamina B<sub>12</sub> purificada en productos alimenticios, no es la coenzima activa en el ser humano. Durante los procedimientos de extracción, la forma lábil

activa se convierte en congénere estable de la vitamina, la cianocobalamina; este debe modificarse in vivo para que resulte eficaz.

Si bien se ha aprendido mucho sobre las vías metabólicas donde actúan esta vitamina, persisten muchas preguntas por responder. La más importante es la relación de la vitamina B<sub>12</sub> y las anomalías neurológicas que conlleva este trastorno.

✓ Propiedades químicas

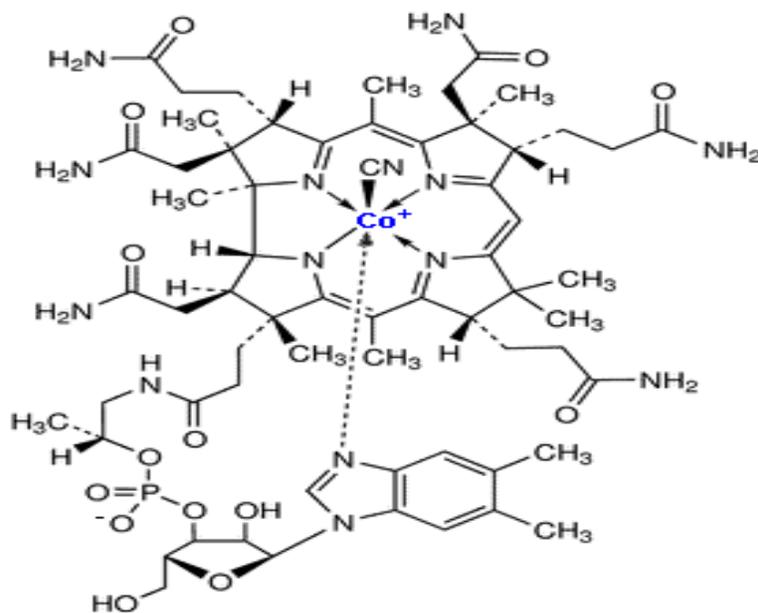
La fórmula estructural de la vitamina está dividida en 3 porciones fundamentales:

- Un grupo planar o núcleo corrina: una estructura en anillo similar a la de porfirina, con cuatro anillos pirrol reducidos, enlazados a un átomo central de Cobalto, y extensamente sustituidos con residuos metil, acetamida y propionamida.
- Un nucleótido 5,6-dimetilbenzimidazolil, que se enlaza casi en ángulo recto con el núcleo corrina unido al átomo de cobalto y a la cadena lateral propionato del anillo pirrol C.
- Un grupo R variable, cuyo tipo más importante se encuentra en los compuestos estables cianocobalamina e hidroxocobalamina

y las coenzimas activas metilcobalamina y dexosiadenosilcobalamina.

- Los términos vitamina B<sub>12</sub> y cianocobalamina se aplican como sinónimos para todas las cobamidas activas en seres humanos. Los preparados de vitamina B<sub>12</sub> para uso terapéutico contienen cianocobalamina o hidroxocobalamina, puesto que solo esos derivados permanecen activos después de almacenamiento.

**FIGURA N° 3: ESTRUCTURA DE LA VITAMINA B<sub>12</sub>**



**Fuente: Scientific Psychic.** Disponible:

<http://www.scientificpsychic.com/health/vitaminas-y-minerales.html>

✓ Funciones metabólicas

Las coenzimas activas metilcobalamina y desoxiadenosilcobalamina son esenciales para el crecimiento y replicación celular. La metilcobalamina se requiere para la formación de metionina a partir de homocisteina. Además, cuando las concentraciones de vitamina B<sub>12</sub> son inadecuadas, el folato queda atrapado como metiltetrahidrofolato para causar una carencia de otras formas intracelulares requeridas de ácido fólico. Las anormalidades hematológicas que se observan en pacientes con carencia de vitamina B<sub>12</sub> son resultado de este proceso. La desoxiadenosilcobalamina se requiere para la isomerización de L-metilmalonil CoA hacia succinil CoA.

✓ Fuentes naturales:

Los seres humanos dependen de fuentes exógenas de vitamina B<sub>12</sub>. En la naturaleza, las fuentes primarias son ciertos microorganismos capaces de sintetizar la vitamina, aguas negras, agua o la luz intestinal de los animales y que sintetizan la vitamina. Los productos vegetales no contienen la vitamina, a menos que se hayan contaminado con esos microorganismos, de modo que los animales dependen de la síntesis en su propio tubo digestivo, o de la ingestión de productos animales que contengan la vitamina.

La ración diaria recomendada es 3 a 5 microgramos; debe obtenerse de subproductos animales en la dieta. Al mismo tiempo los vegetarianos estrictos rara vez presentan deficiencia de la vitamina; esta, está presente en legumbres que fueron contaminadas con microorganismos que sintetizan la vitamina, y los vegetarianos por lo general, enriquecen su dieta con vitaminas y minerales.

✓ Farmacología

La vitamina B<sub>12</sub> de la dieta, en presencia de ácido gástrico y proteasas pancreáticas, se libera a partir de una proteína de unión salival y alimento, y se une al factor intrínseco gástrico. Cuando el complejo de vitamina B<sub>12</sub>-factor intrínseco llega al íleon, interactúa con un receptor en las células de la mucosa y se transporta de forma activa a la circulación. El transporte ileal requiere de factor intrínseco, bilis y bicarbonato de sodio (pH idóneo) adecuados.

La carencia de vitamina B<sub>12</sub> en adultos rara vez depende de una dieta deficiente en sí; más bien, por lo general, refleja un defecto en esta compleja secuencia de absorción. La aclorhidria y la secreción disminuida de factor intrínseco por las células parietales consecutivas a atrofia gástrica o intervención quirúrgica del estómago constituyen causas frecuentes de disminución de vitamina

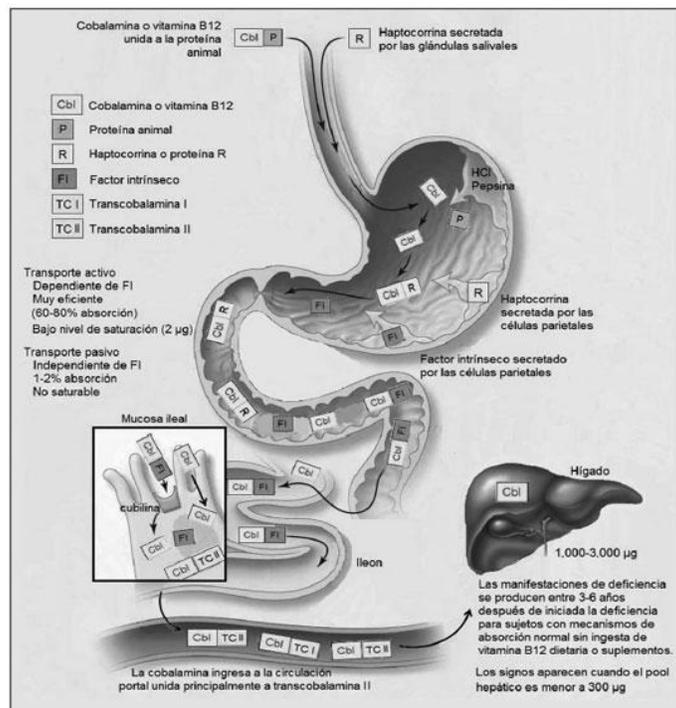
B<sub>12</sub> en adultos. Los anticuerpos contra células parietales o complejo de factor intrínseco también pueden ser importantes en la producción de una insuficiencia.

Diversas enfermedades intestinales pueden interferir con la absorción, por ejemplo trastornos pancreáticos (pérdida de secreción de proteasa pancreática), crecimiento bacteriano excesivo, parásitos intestinales, esprue y daño localizado de células en la mucosa ileal por enfermedad o como resultado de intervención quirúrgica.

Una vez absorbida la vitamina B<sub>12</sub> se une a la transcobalamina II, una globulina beta plasmática, para transporte hacia los tejidos. En el plasma hay también otras dos transcobalaminas (I y III), cuyas concentraciones se relacionan con la tasa de recambio de granulocitos; pueden representar proteínas de almacenamiento intracelular que se liberan con la muerte celular. La vitamina B<sub>12</sub> unida a transcobalamina II se elimina con rapidez del plasma y se distribuye de preferencia a las células del parénquima hepático. El hígado es un depósito de almacenamiento para otros tejidos.

En adultos normales, hasta 90% de las reservas corporales de vitamina B<sub>12</sub> se almacena como coenzima activa, con una tasa de recambio de 0,5 a 8 microgramos por día, dependiendo del sitio de las reservas corporales. La ingesta diaria recomendada en adultos es de 2,4 microgramos.

**FIGURA N°4: METABOLISMO Y MECANISMO DE ACCIÓN DE LA VITAMINA B<sub>12</sub>**



Fuente: Revista Médica de Chile. Disponible en:

<https://dub128.mail.live.com/?fid=flinbox>

Cada día se secretan en la bilis aproximadamente 3 microgramos de cobalaminas, 50 a 60%, de lo cual no se destina a resorción. Este ciclo entero hepático es importante, puesto que la interferencia con la resorción por enfermedad intestinal puede dar por resultado agotamiento continuo de las reservas hepáticas de la vitamina. Este proceso puede ayudar a explicar porque los pacientes presentaran carencia de vitamina B<sub>12</sub> en el transcurso de 3 a 4 años después de intervención quirúrgica gástrica mayor; aun cuando no se esperaba

que una ración diaria requerida de 1 a 2 microgramos agotara las reservas hepáticas de más de 2 a 3 mg durante este tiempo.

El aporte de vitamina B<sub>12</sub> disponible para los tejidos se relaciona de manera directa con el tamaño del fondo común hepático de almacenamiento y la cantidad de vitamina B<sub>12</sub> unida a la transcobalamina II. La concentración en plasma de vitamina B<sub>12</sub> es la mejor medida sistemática de la carencia de esta y normalmente varía de 150 a 660 pmol (alrededor de 200 a 900 pg/ml). Debe sospecharse carencia siempre que la concentración sea menor de 150 pmol.

La correlación es excelente, excepto cuando están aumentadas las concentraciones en plasma de transcobalamina I y III, como ocurre en una afección hepática o en un trastorno mielo proliferativo. Tomando en cuenta que la vitamina B<sub>12</sub> unida a estas proteínas no está relativamente disponible para las células, los tejidos pueden tener insuficiencia cuando la concentración de vitamina B<sub>12</sub> es normal o incluso alta. En pacientes con ausencia congénita de transcobalamina II, se presenta anemia megaloblastica a pesar de concentraciones de vitamina B<sub>12</sub> en plasma relativamente normales; la anemia responderá a dosis parenterales de vitamina B<sub>12</sub> mayores que la depuración renal.

Se han informado defectos del metabolismo intracelular de vitamina B<sub>12</sub> en niños con aciduria metilmalónica y homocistinuria. Los mecanismos posibles son la incapacidad de las células para transportar vitamina B<sub>12</sub> o para acumularla, debido al fracaso para sintetizar un aceptor intracelular, un defecto en la formación de desoxiadenosilcobalamina una falta de isomerasa de metilmalonil coenzima A (CoA).

✓ Carencia de vitamina B<sub>12</sub>

Se reconoce en clínica por su impacto en los sistemas hematopoyéticos y nervioso. La sensibilidad del sistema hematopoyético se relaciona con su tasa alta de recambio celular. Otros tejidos con tasas altas de recambio celular (p. ej., mucosas y epitelio cervical) muestran necesidades igual de grandes de la vitamina.

A causa del aporte inadecuado de la vitamina B<sub>12</sub>, la replicación de ADN se vuelve muy anormal. Una vez que una célula madre hematopoyética queda comprometida para ingresar en una serie programada de divisiones celulares, el defecto de la replicación cromosómica lleva a la incapacidad de las células en maduración en maduración para terminar divisiones nucleares, si bien la maduración citoplasmática continúa a un ritmo relativamente normal. Esto origina la producción de células morfológicamente anormales y muerte de

células durante la maduración, fenómeno denominado hematopoyesis ineficaz. Esas anormalidades se identifican con facilidad mediante examen de la médula ósea y de sangre periférica. La maduración de precursores eritrocíticos es altamente anormal (eritropoyesis megaloblástica). Las células que salen de la médula ósea también son anormales, y aparecen en sangre periférica muchos fragmentos de células, poiquilocitos y macrocitos; el volumen eritrocítico medio aumenta. Cuando la carencia es notoria, puede haber afección de todas las líneas celulares y sobreviene pancitopenia pronunciada.

La carencia de vitamina B<sub>12</sub> por lo general puede diagnosticarse por medio de mediciones de las cifras séricas de dicha vitamina, o de la concentración sérica de ácido metilmalónico. Esta última es un poco más sensible y se ha utilizado para identificar insuficiencia metabólica en pacientes con cifras séricas normales de vitamina B<sub>12</sub>. Como parte del tratamiento clínico de un paciente con anemia megaloblástica, puede utilizarse una prueba terapéutica con dosis muy pequeñas de la vitamina para confirmar el diagnóstico. Se efectúan mediciones seriadas del recuento de reticulocitos, el hierro sérico y el hematocrito; para definir la recuperación característica de la producción de eritrocitos normales.

La prueba de Schilling se utiliza para cuantificar la absorción de la vitamina y delinear el mecanismo de la enfermedad. Al efectuar la prueba de Schilling con factor intrínseco agregado y sin él, es posible distinguir entre insuficiencia de factor intrínseco, por sí misma, y enfermedad primaria de células ileales.

La carencia de vitamina B<sub>12</sub> puede ocasionar daño irreversible del sistema nervioso. Se observan tumefacción progresiva de neuronas mielinizadas, desmielinización y muerte de células neuronales en la médula espinal y la corteza cerebral. Esto causa una amplia gama de signos y síntomas neurológicos, entre ellos, parestesias de las manos y los pies, disminución de los sentidos de vibración y posición, con inestabilidad resultante, merma de los reflejos tendinosos profundos y, en etapas más tardías, confusión, mal humor, pérdida de memoria e incluso pérdida de la visión central.

El paciente puede mostrar ideas delirantes, alucinaciones o incluso una psicosis manifiesta. Dado que el daño neurológico puede disociarse de los cambios del sistema hematopoyético, la carencia de vitamina B<sub>12</sub> debe considerarse como una posibilidad en pacientes con demencia y trastornos psiquiátricos, incluso en ausencia de anemia.

✓ Tratamiento con vitamina B<sub>12</sub>

La vitamina B<sub>12</sub> está disponible para inyección o administración oral, o en combinación con otras vitaminas y minerales para darse por vía oral o parenteral. El preparado debe elegirse siempre con base en el reconocimiento de la causa de la carencia. Aun cuando los preparados en presentación oral pueden usarse para complementar dietas insuficientes, tienen relativamente poca utilidad en el tratamiento de enfermos con insuficiencia de factor intrínseco o enfermedad ileal. Si bien cantidades pequeñas de vitamina B<sub>12</sub> pueden absorberse mediante difusión simple, no es posible confiar en la vía oral para el tratamiento eficaz en pacientes con carencia notoria de vitamina B<sub>12</sub> y hematopoyesis anormal o déficit neurológico. Por tanto, el preparado más conveniente para tratar un estado de carencia de vitamina B<sub>12</sub> es la cianocobalamina, y debe administrarse por vía intramuscular o subcutánea profunda.

La inyección de cianocobalamina es segura si se administra por vía intramuscular o subcutánea profunda, pero nunca debe aplicarse por vía intravenosa. Se han emitido raros informes de exantema transitorio y anafilaxia después de la inyección. Si un paciente señala sensibilidad previa a inyecciones de vitamina B<sub>12</sub>, debe llevarse a cabo una prueba cutánea intradérmica antes de administrar la dosis completa.

La cianocobalamina se utiliza en dosis de 1 a 1000 microgramos. Su captación, almacenamiento y utilización en los tejidos dependen de la disponibilidad de la transcobalamina II. Dosis de más de 100 microgramos se depuran con rapidez del plasma hacia la orina, y la administración de cantidades mayores de vitamina B<sub>12</sub> no dará por resultado mayor retención de la vitamina. La administración de 1000 microgramos es útil en la práctica de la prueba de Schilling. Luego de la administración oral de vitamina B<sub>12</sub> marcada con isotopos, el compuesto que se absorbe puede recuperarse cuantitativamente en la orina si se aplican 1000 microgramos de cianocobalamina por vía intramuscular. Este material no marcado satura el sistema de transporte y los sitios de unión en los tejidos, de modo que durante las 24 horas siguientes se excreta más de 90% de la vitamina marcada y no marcada.

Diversos preparados multivitamínicos se comercializan como complementos alimenticios o para el tratamiento de la anemia. Muchos de ellos contienen hasta 80 microgramos de cianocobalamina; en algunos casos, combinada con concentrado de factor intrínseco obtenido de estómago de cerdo u otros animales domésticos. Una unidad oral de factor intrínseco se define como la cantidad de material que se unirá a 15 microgramos de cianocobalamina y la transportara.

Casi todos los preparados multivitamínicos complementados con factor intrínseco contienen 0,5 unidades orales por tableta. Si bien la combinación de vitamina B<sub>12</sub> y factor intrínseco para administración oral parecería ideal para pacientes con insuficiencia de dicho factor, estos preparados no son confiables. Con el tratamiento prolongado, algunos pacientes presentan fenómeno refractario al factor intrínseco por vía oral, quizá relacionado con producción de un anticuerpo intraluminal contra la proteína de cerdo. Los pacientes que toman esos preparados deben someterse a revaloración periódica a fin de identificar cualquier signo de recurrencia de anemia perniciosa.

Se ha informado que la hidroxocobalamina, 100 microgramos por vía intramuscular, tiene efecto más sostenido que la cianocobalamina; una sola dosis conserva las concentraciones plasmáticas de la vitamina B<sub>12</sub> dentro de los límites durante hasta 3 meses. Aun así, algunos enfermos muestran reducciones de las concentraciones plasmáticas de vitamina B<sub>12</sub> en el transcurso de 30 días, similar a lo que se observa después de administrar cianocobalamina. Además, la administración de hidroxocobalamina ha dado por resultado la formación de anticuerpos contra el complejo de transcobalamina II-vitamina B<sub>12</sub>.

La vitamina B<sub>12</sub> tiene una reputación inmerecida como “tónico de la salud”, y se ha usado en diversos estados morbosos. El uso eficaz

de la vitamina depende del diagnóstico exacto y de una comprensión de los principios generales del tratamiento:

- La vitamina B<sub>12</sub> debe administrarse con fines meramente profilácticos cuando haya una probabilidad razonable de carencia. La falta de esta vitamina en la dieta vegetariana estricta, su malabsorción predecible en pacientes sometidos a gastrectomía, y ciertas enfermedades de intestino delgado constituyen esas indicaciones. Cuando la función gastrointestinal es normal, puede estar indicada la administración oral de un complemento profiláctico de vitaminas y minerales, incluso vitamina B<sub>12</sub>. De otro modo, el paciente debe recibir inyecciones mensuales de cianocobalamina.
- La facilidad relativa del tratamiento con vitamina B<sub>12</sub> no debe evitar una investigación completa de la causa de la carencia. El diagnóstico inicial suele estar sugerido por una anemia macrocítica o un trastorno neuropsiquiátrico inexplicable. La comprensión completa de la causa de la carencia de vitamina B<sub>12</sub> comprende estudios de aporte de la dieta, absorción gastrointestinal y transporte.

- El tratamiento siempre ha de ser lo más específico posible. Si bien hay muchos preparados multivitamínicos, el uso de regímenes vitamínicos de “escopetazo” en el tratamiento de la carencia de vitamina B<sub>12</sub> puede ser peligroso. Dicha estrategia conlleva el peligro de administrar tal cantidad de ácido fólico que se produzca recuperación hematológica, con el consecuente enmascaramiento de una insuficiencia continua de vitamina B<sub>12</sub>, y el surgimiento o agravamiento de un posible daño neurológico.
- Si bien la prueba terapéutica clásica que consiste en dar cantidades pequeñas de vitamina B<sub>12</sub> puede ayudar a confirmar el diagnóstico, los ancianos con enfermedad aguda pueden no tolerar retrasos en la corrección de una anemia grave. Esos pacientes requieren transfusiones sanguíneas complementarias y tratamiento inmediato, tanto con ácido fólico como con vitamina B<sub>12</sub>, para asegurar una pronta recuperación.
- El tratamiento a largo plazo con vitamina B<sub>12</sub> debe valorarse a intervalos de 6 a 12 meses en pacientes que por lo demás están sanos. En caso de otra enfermedad o situaciones que puedan aumentar la necesidad de la vitamina (p. ej.,

embarazo), la revaloración debe efectuarse con mayor frecuencia.

✓ Tratamiento de pacientes con enfermedad aguda

El método terapéutico depende de la gravedad de la enfermedad.

Los individuos con anemia perniciosa no complicada, en quienes la anormalidad se restringe a anemia leve o moderada sin leucopenia, trombocitopenia ni signos o síntomas neurológicos, mostrarán respuesta a la administración de vitamina B<sub>12</sub> sola. Además, el tratamiento puede retrasarse hasta haber excluido otras causas de anemia megaloblástica, y haber efectuado suficientes estudios de la función gastrointestinal, para revelar la causa fundamental de la enfermedad. En estas circunstancias, una prueba terapéutica con volúmenes pequeños de vitamina B<sub>12</sub> por vía parenteral (1 a 10 microgramos por día) puede confirmar la presencia de una carencia no complicada de vitamina B<sub>12</sub>.

Por el contrario, los enfermos con cambios neurológicos o leucopenia o trombocitopenia graves en relación con infección o hemorragia requieren tratamiento urgente. Es probable que las personas de mayor edad con anemia grave (hematocrito de menos de 20%) tengan hipoxia histica (tisular), insuficiencia cerebrovascular e insuficiencia cardiaca congestiva. El tratamiento eficaz no debe

esperar a la práctica de pruebas diagnósticas detalladas. Una vez confirmada la eritropoyesis megaloblástica, y reunida la cantidad suficiente de sangre para mediciones posteriores de las cifras de vitamina B<sub>12</sub> y ácido fólico, el paciente debe recibir inyecciones intramusculares de 100 microgramos de cianocobalamina, y 1 a 5 mg de ácido fólico. Durante las primeras o primeras dos semanas siguientes, se administraran a diario inyecciones intramusculares de 100 microgramos de cianocobalamina, junto con un complemento diario por vía oral de 1 a 2 mg de ácido fólico.

Dado que no ocurrirá incremento efectivo de la masa eritrocítica durante 10 a 20 días; los enfermos con notorio decremento del hematocrito e hipoxia histica también deben recibir una transfusión de 2 a 3 unidades de eritrocitos aglomerados. En caso de insuficiencia cardiaca congestiva, pueden administrarse diuréticos para prevenir sobrecarga de volumen.

Los pacientes suelen informar incremento de la sensación de bienestar durante las primeras 24 horas que siguen al inicio del tratamiento. De manera objetiva, la memoria y la orientación pueden mostrar mejoría notoria, aunque la recuperación completa de la función mental puede llevar meses o, en realidad, nunca ocurrir. Además, incluso antes que quede de manifiesto una respuesta hematológica obvia, el paciente puede informar incremento de la

fuerza, mejor apetito y disminución de las molestias en la boca y la lengua.

El primer cambio hematológico objetivo es la desaparición de la morfología megaloblástica de la médula ósea. Al corregirse la eritropoyesis ineficaz, la concentración plasmática de hierro disminuye en grado notorio, conforme el metal se utiliza en la formación de hemoglobina. Esto suele ocurrir en el transcurso de las primeras 48 horas. La corrección completa de la maduración de precursores en la médula ósea, con producción de un mayor número de reticulocitos, empieza hacia el segundo o tercer día, y alcanza un máximo 3 a 5 días, más tarde.

Cuando la anemia es moderada a grave, el índice máximo de reticulocitos será 3 a 5 veces mayor que la cifra normal (es decir, un recuento de reticulocitos de 20 a 40%). La capacidad de la médula ósea para sostener una alta tasa de producción determina la tasa de recuperación del hematocrito. Los pacientes con carencia de hierro complicante, una infección u otro estado inflamatorio, o nefropatía, pueden no ser capaces de corregir la anemia. Por tanto, es importante vigilar el índice de reticulocitos durante las primeras semanas. Si dicho índice no continúa a cifras altas, pese a un hematocrito de menos de 35%, se cuantificarán de nuevo las cifras plasmáticas de hierro y ácido fólico, y se revalorará al paciente en

busca de alguna enfermedad que pueda estar inhibiendo la respuesta de la médula ósea.

El grado y la rapidez de disminución de los síntomas y signos neurológicos dependen de la gravedad y la duración de las anormalidades. Las que solo han estado presentes muchos meses tienen probabilidades de desaparecer con rapidez relativa. Cuando un defecto ha estado presente muchos meses o años, es posible que nunca se recupere por completo la función normal.

✓ Tratamiento a largo plazo con vitamina B<sub>12</sub>

Una vez iniciado, el tratamiento con vitamina B<sub>12</sub> debe conservarse de por vida. Es necesario que esto quede claro para el paciente y la familia, así como establecer un sistema que asegure inyecciones mensuales continuas de cianocobalamina. Una inyección de 100 microgramos de cianocobalamina cada cuatro semanas por vía intramuscular basta para conservar cifras plasmáticas normales de vitamina B<sub>12</sub> y el aporte adecuado para los tejidos.

Los pacientes con síntomas y signos neurológicos graves pueden tratarse con dosis mayores de vitamina B<sub>12</sub>, durante el periodo que sigue inmediatamente al diagnóstico. Pueden prescribirse dosis de 100 microgramos por día o varias veces a la semana durante varios

meses, con la esperanza de estimular una recuperación más rápida y más completa.

Es importante vigilar las concentraciones de vitamina B<sub>12</sub> en el plasma y hacer biometría hemática a intervalos de 3 a 6 meses, para confirmar la utilidad del tratamiento. Dado que el fenómeno refractario ante este último puede aparecer en cualquier momento, la valoración debe continuar durante toda la vida del enfermo.

✓ Otros usos terapéuticos de la vitamina B<sub>12</sub>

La vitamina B<sub>12</sub> se ha utilizado en el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas neuralgia del trigémino, esclerosis múltiple y otras neuropatías, diversos trastornos psiquiátricos, crecimiento o nutrición inadecuados, y como “tónico” para pacientes que se quejan de cansancio o fatigabilidad fácil. No hay pruebas de la validez de ese tipo de tratamiento en alguna de dichas enfermedades. Se ha constatado cierta eficacia de un régimen de sostén de vitamina B<sub>12</sub> para el tratamiento de la aciduria metilmalónica en niños.<sup>11</sup>

### 2.3 Definición de términos básicos:

- **Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA):** agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos, medicamentos, cosméticos, aparatos médicos, productos biológicos y derivados sanguíneos.
- **Anemia megaloblástica:** enfermedad caracterizada por deficiencia de vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico o ambas. El termino megaloblastico se refiere al gran tamaño de las células precursoras de la medula ósea (blastos), entre ellos los eritrocitos.
- **Anemia perniciosa:** tipo de anemia megaloblastica caracterizada por deficiencia del factor intrínseco, el cual es esencial para su absorción.
- **Aclorhidria:** estado clínico en el que la producción de ácido gástrico en el estómago es inexistente.
- **Aciduria metilmalónica:** enfermedad congénita y hereditaria. Se caracteriza por la ausencia o defecto de la enzima metilmalonil CoA-mutasa, ocasionando acumulación de ácido metilmalónico en fluidos, como la orina.
- **Anafilaxia:** reacción alérgica grave en todo el cuerpo a un químico que se ha convertido en alérgeno.
- **Biometría hemática:** prueba de sangre para evaluar el estado general de salud y detectar una amplia gama de enfermedades, anemias, infecciones y leucemia.
- **Cromatografía:** método físico de separación en el que los componentes que se han de separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales está en reposo (fase estacionaria), mientras que la otra se mueve en una dirección definida (fase móvil).

- **Coenzima:** cofactor orgánico no proteico, que unido a una apoenzima, constituye la holoenzima (forma activa de las enzimas).
- **Cobamidas:** coenzima de la vitamina B<sub>12</sub>
- **Diurético:** sustancia que favorece la eliminación de líquidos.
- **Eritrocitos:** células sanguíneas (glóbulos rojos)
- **Eritropoyesis megaloblásticas:** formación de glóbulos rojos anormales
- **Exantema:** erupción cutánea que aparece de forma aguda, frecuentemente con enfermedades infecciosas.
- **Esclerosis múltiple:** enfermedad auto inmunitaria que afecta el cerebro y la medula espinal (sistema nervioso central).
- **Esprue:** atrofia anormal de las vellosidades intestinales e inflamación del revestimiento del intestino delgado, se relaciona con la malabsorción.
- **Factor intrínseco:** glicoproteína sintetizada por las células parietales de la mucosa gástrica, necesarias para la absorción de vitamina B<sub>12</sub>.
- **Fármaco:** molécula inactiva que, al interactuar con otras sustancias y/o receptores, ejerce una actividad terapéutica en una determinada célula o conjunto de células.
- **Granulocitos:** células sanguíneas (leucocitos) que se caracterizan por la presencia de gránulos en su citoplasma, entre ellas tenemos: neutrófilos, basófilos, eosinófilos.
- **Gastrectomía:** intervención quirúrgica que consiste en la remoción parcial o total del estómago.

- **Homocisteina:** aminoácido azufrado importante en la transferencia de grupos metilos en el metabolismo celular.
- **Homocistinuria:** enfermedad metabólica caracterizada por presentar un nivel elevado del aminoácido homocisteina en el plasma sanguíneo y en la orina
- **Hematocrito:** examen de sangre que mide el porcentaje del volumen de toda la sangre que está compuesta por glóbulos rojos.
- **Hematopoyesis:** proceso de formación, desarrollo y maduración de los elementos formes de la sangre.
- **Hipoxia:** estado de deficiencia de oxígeno en los tejidos.
- **Insuficiencia cerebrovascular:** enfermedad caracterizada por la disminución de flujo sanguíneo al cerebro (isquemia cerebral).
- **Insuficiencia cardiaca congestiva:** enfermedad por la cual el corazón no bombea de manera normal, de tal modo no se cubren las necesidades metabólicas que requieren las células para su óptimo funcionamiento. Es la incapacidad del corazón de bombear cantidad suficiente de sangre.
- **Medicamento:** sustancia química que es útil en el diagnóstico, tratamiento y prevención de enfermedades, de síntomas o signos patológicos, que es capaz de modificar los ritmos biológicos. El medicamento es un fármaco útil con fines médicos.
- **Materia prima:** materia extraída de la naturaleza y que se transforma para elaborar materiales que más tarde se convertirá en bienes de consumo.
- **Metionina:** aminoácido esencial de carácter hidrófobo.
- **Macroцитos:** eritrocitos de tamaño anormalmente grande.

- **Nefropatías:** enfermedades del aparato urinario.
- **Neuralgia del trigémino:** trastorno nervioso que causa un dolor punzante o de tipo electrochoque en partes de la cara.
- **Neuropatías:** enfermedades del sistema nervioso.
- **Parénquima hepático:** componente fundamental del hígado, compuesto por hepatocitos.
- **Pancitopenia:** trastorno que se caracteriza por la disminución de todas las células sanguíneas (eritrocitos, leucocitos y plaquetas).
- **Poiquilocitos:** células sanguíneas desiguales y variables encontradas en una misma muestra.
- **Proteasas:** enzimas encargadas de la degradación de las proteínas.
- **Reticulocitos:** células precursoras de los glóbulos rojos.
- **Transcobalamina:** proteína encargada del transporte y distribución de cianocobalamina.
- **Tumefacción:** hinchazón de una parte del cuerpo.

## **CAPÍTULO III:**

### **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.1 Tipo de Investigación:**

La investigación es descriptiva porque se utilizó y describieron los procedimientos para determinar la calidad de la vitamina B<sub>12</sub> inyectable, a su vez se expusieron los resultados obtenidos con su respectivo análisis.

##### **3.1.1 Método**

Se utilizó el método científico, ya que cumplió con todos los parámetros de una investigación científica. Inductivo porque se tomaron los datos de las muestras, se analizaron y se compararon los resultados para obtener las conclusiones respectivas.

##### **3.1.2 Técnica**

Es transversal, pues se realizó la investigación en un periodo de junio a octubre de 2015.

##### **3.1.3 Diseño**

Experimental porque se prepararon muestras en el laboratorio y se analizaron en el espectrofotómetro UV-VIS; para ello, se tomó como referencia la Farmacopea Británica (BP) 2014.

### 3.2 Población y Muestreo de la Investigación:

#### 3.2.1 Población

Abarca las ampollas de vitamina B<sub>12</sub> distribuidas en el CEMENA.

#### 3.2.2. Muestra

Se seleccionaron 10 ampollas de vitamina B<sub>12</sub>.

### 3.3 Variables e Indicadores:

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES
Calidad de vitamina B <sub>12</sub>	Identificación	Presenta – no presenta
	Concentración	95 – 110 %
	pH	3.8 – 5.5

### 3.4 Técnicas e Instrumentos:

#### 3.4.1 Técnicas:

Se llevó a cabo el procedimiento sin presencia de luz; se diluyó la cantidad que contiene el equivalente de 2.5 mg de anhídrido de hidroxocobalamina 100 ml con una solución que contiene 0,8% v/v de ácido acético glacial y 1,09% w/v de acetato de sodio y se midió la absorbancia de la solución resultante a un máximo de 351 nm.<sup>12</sup>

### 3.4.2 Instrumentos:

Los instrumentos que se utilizaron son:

- Espectrofotómetro UV-VIS (Hewlett Packard modelo 8453)
- Cubetas con 1 cm de paso óptico
- Fiolas de 100 mL
- Pipetas volumétricas
- Beakers de 50 mL

## CAPÍTULO IV:

### PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Resultados:

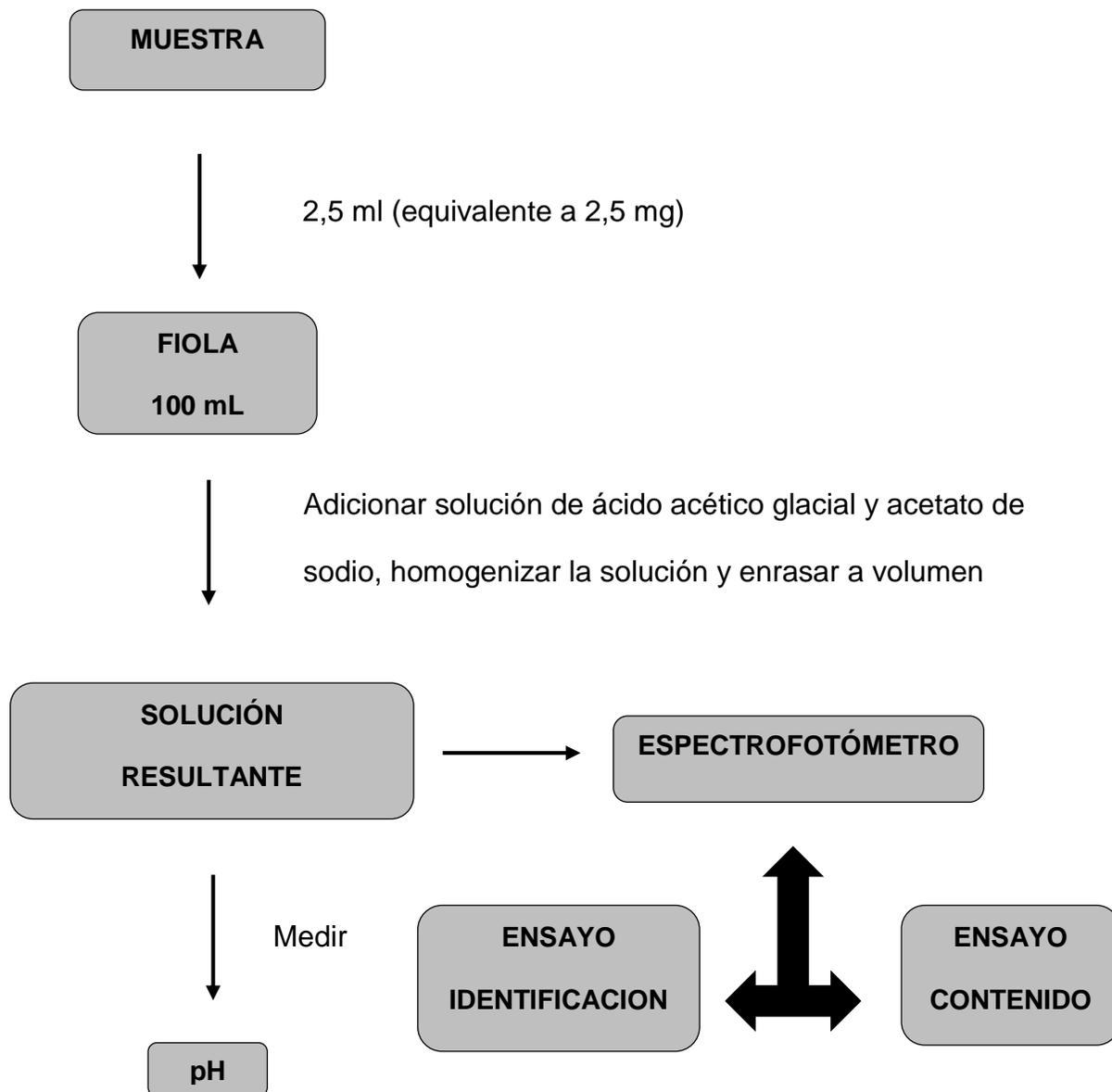
<b>TABLA N° 1: DATOS DE LA MUESTRA</b>	
NOMBRE	HIDROXOCOBALAMINA
N° DE LOTE	141118
LABORATORIO	PHARMAGEN S.A.C

Fuente extraída del trabajo de investigación

<b>TABLA N°2: DATOS DE LA CANTIDAD DE MUESTRA EMPLEADA DE HIDROXOCOBALAMINA</b>	
<b>MUESTRA</b>	<b>VOLUMEN</b>
M <sub>1</sub>	2,5 ml
M <sub>2</sub>	2,5 ml
M <sub>3</sub>	2,5 ml

Fuente extraída del trabajo de investigación

**FIGURA N° 5: PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**



Fuente extraída del trabajo de investigación. Elaboración propia.

TABLA N°3: LECTURAS PROMEDIO DE LA MUESTRA OBTENIDAS POR EL ESPECTROFOTÓMETRO	
MUESTRA	ABSORBANCIA
M <sub>1</sub>	0.46451
M <sub>2</sub>	0,47013
M <sub>3</sub>	0,47186

Fuente extraída del trabajo de investigación

CÁLCULOS:

$$[ ]M = \frac{A}{a \cdot c} FD$$

Donde:

[ ]M = Concentración de la muestra

A = Absorbancia

a = Coeficiente de absortividad

c = Longitud de la celda

FD = Factor de dilución

### CONCENTRACIÓN MUESTRA 1:

$$[ ]M = \frac{0.46451}{195 \times 1}$$

$$[ ]M = \frac{0.002382 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}$$

$$[ ]M = 0,02382 \text{ mg/mL} \times \text{FD}$$

$$1 \text{ mg} \text{ ——— } 100 \%$$

$$[ ]M = \frac{0,02382 \times 100}{2,5}$$

$$0,9528 \text{ ——— } \% \text{ muestra}$$

**% muestra = 95,28%**

$$[ ]M = 0,9528 \text{ mg/mL}$$

### CONCENTRACIÓN MUESTRA 2:

$$[ ]M = \frac{0.47013}{195 \times 1}$$

$$[ ]M = \frac{0.002410 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}$$

$$[ ]M = 0,02410 \text{ mg/mL} \times \text{FD}$$

$$1 \text{ mg} \text{ ——— } 100 \%$$

$$[ ]M = \frac{0,02410 \times 100}{2,5}$$

$$0,9644 \text{ ——— } \% \text{ muestra}$$

**% muestra = 96,44%**

$$[ ]M = 0,9644 \text{ mg/mL}$$

### CONCENTRACIÓN MUESTRA 3:

$$[ ]M = \frac{0.47186}{195 \times 1}$$

$$[ ]M = 0.002419 \frac{\text{g}}{100 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}$$

$$[ ]M = 0,02419 \text{ mg/mL} \times \text{FD} \qquad 1 \text{ mg} \text{ ——— } 100 \%$$

$$[ ]M = 0,02419 \times \frac{100}{2,5} \qquad 0,9676 \text{ ——— } \times$$

**% muestra = 96,76%**

$$[ ]M = 0,9676 \text{ mg/mL}$$

TABLA N°4: CUANTIFICACIÓN DE LA MUESTRA		
MUESTRA	CONCENTRACION mg/mL	HIDROXOCOBALAMINA %
M <sub>1</sub>	0,95	95,28
M <sub>2</sub>	0,96	96,44
M <sub>3</sub>	0,96	96,76
<b>PROMEDIO</b>	0,96	96,16

Fuente extraída del trabajo de investigación

<b>TABLA N° 5: DETERMINACIÓN DEL pH</b>	
<b>MUESTRA</b>	<b>UNIDADES</b>
M <sub>1</sub>	3,9
M <sub>2</sub>	4,1
M <sub>3</sub>	4,0
<b>PROMEDIO</b>	4,0

Fuente extraída del trabajo de investigación

## 4.2 Análisis e Interpretación de Resultados:

### 4.2.2 Especificaciones

- Luego del análisis, se considera satisfactorio el contenido de vitamina B<sub>12</sub> (hidroxocobalamina), ya que se encuentra dentro del rango comprendido entre 95,0 y 110,0%, tal y como indica la Farmacopea Británica (BP) 2014.
- Identificación de hidroxocobalamina: Luego de preparar la solución, se midió la absorbancia a 351 nm y a 361 nm, dando por resultado una proporción alrededor de 0.6435, muy cercano a lo que indica la Farmacopea Británica (BP) 2014, para las longitudes de ondas utilizadas, alrededor de 0.65. Considerando satisfactoria la identificación de la vitamina B<sub>12</sub>.

- pH: La medición del pH se considera satisfactoria, ya que se encuentra dentro del rango establecido por la Farmacopea Británica (BP) 2014, de 3,8 a 5,5. Siendo el resultado de 4,0 unidades de pH.

## DISCUSION

- Tras haber concluido los análisis y pruebas respectivas, los resultados obtenidos durante el desarrollo de la investigación pudieron establecer la presencia del principio activo hidroxocobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) en las ampollas distribuidas en el Centro Medico Naval, así como su cuantificación mediante el método de espectrofotometría UV-VIS, cuyos resultados (0,96 mg/mL correspondiente a 96.16% de hidroxocobalamina) lo cual permitio concluir que la muestra analizada cumplio con los criterios de calidad establecidos por la Farmacopea Británica (BP) 2014.
- En la investigación realizada por Martha Botet, Caridad García, Yenilen Troche, Yanara Cañizares y Bárbara moreno, titulada **“Validación de método analítico para el control de la calidad de la vitamina B12 10000 inyección”**, se obtuvieron resultados positivos en todas las pruebas realizadas a las ampollas de vitamina B<sub>12</sub>, al igual que esta investigación, utilizaron el método de espectrofotometría UV-VIS, lo que demuestra que es un método seguro y confiable.
- En la investigación de Olivia Gonzales, Publio Rodríguez, Liliana Francis y José Bergado, titulada **“Desarrollo de la formulación Compvit-B inyectable”**, se evaluó la concentración de la vitamina B<sub>12</sub> con un patrón de referencia cuya concentración fue de 0,03 mg/mL, lo que diferencia de esta investigación ya que

al aplicar los fundamentos teóricos de la ecuación de Lambert y Beer por medio del cálculo con el coeficiente de absorción de la hidroxocobalamina, se evitó el uso de estándares de referencia, en algunos casos de difícil acceso y alto costo. Este procedimiento es válido y es aplicable por las farmacopeas internacionales.

El método validado es sencillo, rápido y barato al compararlo con otros métodos analíticos, tales como: métodos por HPLC, pues el tiempo de análisis es menor, se obtiene la respuesta analítica con mayor rapidez, además brinda la posibilidad de su uso en el control de la calidad y el estudio de estabilidad del producto terminado.

- En la investigación realizada por Sánchez Ramos, titulada “**Estabilidad de la hidroxocobalamina en agua para inyección como antídoto contra cianuros**”, la vitamina B<sub>12</sub> fue analizada por tres métodos: HPLC, espectrofotometría infrarroja y espectrofotometría UV-Vis. Al evaluar la estabilidad de dicha vitamina como antídoto para cianuros, los estudios fueron más amplios y los datos arrojados tenían que ser lo más exacto posible, podemos decir que los resultados obtenidos por espectrofotometría UV-Vis fueron satisfactorios dentro del rango establecido por la Farmacopea Europea séptima edición, al igual que la presente investigación.
- Los tipos de investigaciones sobre evaluación de medicamentos distribuidos en el Centro Médico Naval son importantes, ya que productos con baja calidad

podrían afectar el tratamiento de muchos pacientes, generalmente, con enfermedades hematopoyéticas, tales como anemia perniciosa, anemia megaloblastica, y problemas en el metabolismo del ácido fólico.

## CONCLUSIONES

1. Se determinó la calidad de la vitamina B<sub>12</sub> inyectable distribuida en el Centro Médico Naval, la cual cumple con lo establecido por la Farmacopea Británica (BP) 2014.
2. Se identificó el principio activo hidroxocobalamina en las ampollas de vitamina B<sub>12</sub> distribuidas en el Centro Médico Naval, el cual cumple con los límites establecidos en la Farmacopea Británica (BP) 2014.
3. Se determinó la concentración de hidroxocobalamina en las ampollas de vitamina B<sub>12</sub> distribuidas en el Centro Médico Naval, la cual se encuentra dentro del rango establecido por la Farmacopea Británica (BP) 2014.
4. Se determinó el pH de la hidroxocobalamina en las ampollas de vitamina B<sub>12</sub> distribuidas en el Centro Médico Naval, el cual se encuentra dentro de los límites establecidos por la Farmacopea Británica (BP) 2014.
5. La hidroxocobalamina, en las ampollas de vitamina B<sub>12</sub> distribuidas en el Centro Médico Naval, cumple con la evaluación de calidad de acuerdo a lo establecido por la Farmacopea Británica (BP) 2014.

## RECOMENDACIONES

Realizar diversas pruebas de calidad a las ampollas que contengan hidroxocobalamina; asimismo, ensayos de bioequivalencia y biodisponibilidad también puede ser útiles para garantizar la seguridad, calidad y eficacia de los productos que, no solamente se comercializan en el Centro Medico Naval, sino también en todos los establecimientos de salud a nivel nacional.

El análisis y la evaluación cuantitativa y cualitativa del principio activo hidroxocobalamina, establecida por la Farmacopea Británica (BP) 2014, debe ser una prueba de calidad obligatoria y solicitada a los laboratorios, tanto nacionales como internacionales, al optar el registro sanitario para poder autorizar su ingreso a los establecimientos de salud y garantizar su eficacia, seguridad y confiabilidad para el paciente.

## FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Gestión. 123 Medicinas que no cumplen con estándares de calidad en MINSA.  
Disponible en: <http://gestion.pe/economia/hay-123-medicinas-que-no-cumplen-estandares-calidad-minsa-2052644>. Consultado: 24 de junio de 2015
2. Portal de información. Medicamentos Esenciales y Productos de Salud.  
Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js8121s/7.3.html>.  
Consultado: 27 de junio de 2015
3. Teresa O, Gonzales G, Rodríguez P, Francis L, Bergado J. Desarrollo de la formulación Compvit-B inyectable. Revista Cubana de Farmacia [en línea] 2012 [fecha de acceso 27 de junio de 2015]; 46 (4) 383-393. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152012000400002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152012000400002).
4. Botet M, García C, Troche Y, Cañizares Y, Moreno B. Validación de método analítico para el control de la calidad de vitamina B12 10000 inyección. Revista Cubana de Farmacia [en línea] 2009 [fecha de acceso 27 de junio de 2015]; 43 (4) 53-60. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152009000400006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152009000400006).

5. Sánchez Ramos J.J. Estabilidad de la hidroxocobalamina en agua para inyección como antídoto contra cianuros. Elaborado de farmacia militar. Sanidad militar [en línea] 2012 [fecha de acceso 29 de junio de 2015]; 68 (2) 87-96.
  
6. Área Análisis de Medicamentos, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Control de Calidad en la Industria Farmacéutica. Disponible en: [http://www.fbioyf.unr.edu.ar/rrii/varios/pdf2010sharapin/sharapin2010\\_castellano.pdf](http://www.fbioyf.unr.edu.ar/rrii/varios/pdf2010sharapin/sharapin2010_castellano.pdf). Consultado: 6 de setiembre de 2015
  
7. Skoog D, James F, Nieman T. Principios de Análisis Instrumental. 5° ed. Madrid: McGraw-Hill; 2001.
  
8. Espectroscopia Ultravioleta-Visible. Disponible en: <http://ocw.uc3m.es/ingenieria-quimica/quimica-ii/practicas-1/PR-F-Anexos.pdf>. Consultado: 11 de setiembre de 2015.
  
9. Ley de Beer-Bouguer-Lambert. Disponible en: <http://www.uv.mx/personal/aherrera/files/2014/05/L.-Ley-de-Bouguer-Lambert-Beer-0.pdf>. Consultado: 15 de setiembre de 2015.
  
10. García E. Aplicación de la Ley de Lambert-Beer en espectroscopia UV-Visible [video]. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia; 2013.

11. Brunton L, Lazo J, Parker K. Goodman y Gilman, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 11° ed. México: McGraw-Hill; 2010.

12. British Pharmacopoeia. Hydroxocobalamin injection, volumen II. British Pharmacopoeia 2014.

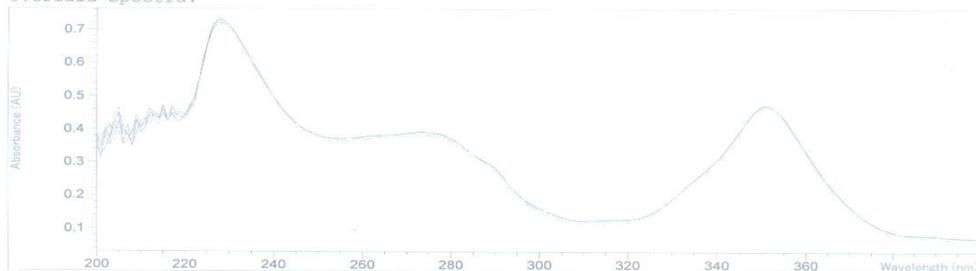
# ANEXOS

## DATOS OBTENIDOS DEL ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS CON RESPECTO A LA CONCENTRACION DE LA HIDROXOCOBALAMINA:

Fixed Wavelength Report Date 08/09/2015 Time 16:37:51 Page 1 of 1  
CONTENIDO DE HIDROXICOBALAMINA INYECCION 1 mg/mL SEGUN BP 2014

Method file : C:\CHEM32\1\METHODS\CONTENIDO\LTORRES\HIDROXC-.M (modified)  
Last update: Date 08/09/2015 Time 04:37:36 p.m.  
Information : CONTENIDO DE HIDROXICOBALAMINA INYECCION 1 mg/mL SEGUN BP 2014  
Data File : C:\CHEM32\1\DATA\CONTENIDO\LTORRES\HIDROXC2.SD Created :  
9/8/15 16:24:36

Overlaid Spectra:



#	Name	Abs<351nm>	#	Name	Abs<351nm>
1	MP1	0.46471	6	MP2	0.47016
2	MP1	0.46445	7	MP3	0.47157
3	MP1	0.46439	8	MP3	0.47178
4	MP2	0.47017	9	MP3	0.47223
5	MP2	0.47008			

Report generated by : MGO

Signature: .....

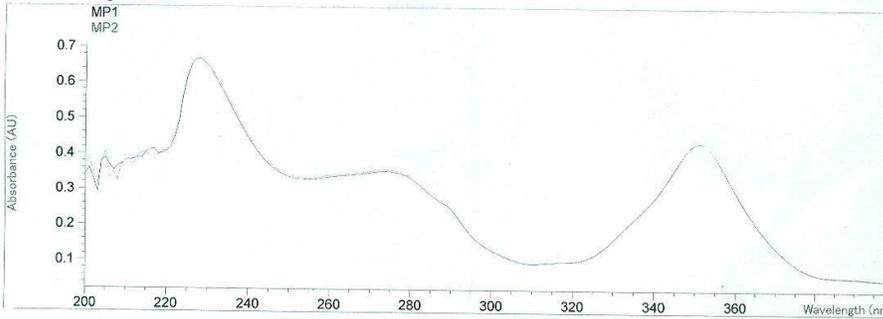
\*\*\* End Fixed Wavelength Report \*\*\*

**DATOS OBTENIDOS DEL ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS CON RESPECTO A LA IDENTIFICACION DE LA HIDROXOCOBALAMINA:**

Ratio/Equation Report Date 31/08/2015 Time 14:51:11 Page 1 of 1  
 ENSAYO DE IDENTIFICACION DE HIDROXICOBALAMINA INYECTABLE SEGUN BP 2014

Method file : C:\CHEM32\1\METHODS\CONTENIDO\LTORRES\AMOXIC.M (modified)  
 Last update: Date 31/08/2015 Time 02:50:52 p.m.  
 Information : ENSAYO DE IDENTIFICACION DE HIDROXICOBALAMINA INYECTABLE SEGUN BP 2014  
 Data File : <data not saved>

Overlaid Spectra:



Equation : Ratio = WL1/WL2  
 Where : WL1 = Abs(361nm), WL2 = Abs(351nm), Wt = Weight, V = Volume

#	Name	Dilut. Factor	Ratio	Abs<361nm>	Abs<351nm>
1	MP1	1.00000	0.64276	0.28069	0.43670
2	MP2	1.00000	0.64414	0.28137	0.43681

Report generated by : MGO

Signature: .....

\*\*\* End Ratio/Equation Report \*\*\*

