



Optimización y validación de un método por RP-HPLC para determinación simultánea de cloruro de decualinio y clorhidrato de lidocaína en tabletas

Optimization and validation of an RP-HPLC method for the simultaneous determination of dequalinium chloride and lidocaine hydrochloride in tablets

ANDREA C. GARCÍA RANAUDO^{*1}, REEM MOHAMMAD ABDULKHALIK²,
ANDREA R. ROJAS SEMINARIO³, MARISABEL BOR⁴

Resumen

La combinación de cloruro de decualinio y clorhidrato de lidocaína es empleada como antiséptico bucofaríngeo en forma de tabletas masticables, específicamente para la profilaxis y tratamiento de afecciones mucosas superficiales. Actualmente, no existe un método analítico validado reportado en la literatura que permita determinar simultáneamente esta combinación de principios activos, por ello se optimizó y validó un método por cromatografía líquida de alta eficiencia en fase inversa (RP-HPLC), de acuerdo con los requerimientos establecidos por la USP en el Apartado <1225>. Las condiciones cromatográficas encontradas para la separación y cuantificación de los principios activos fueron: columna octadecilsilano (C18, 10 μm x 3,9 mm x 300 mm), temperatura ambiente, flujo de 1,2 mL/min de una fase móvil constituida por hexanosulfonato de sodio: agua: metanol 2 g :300:700 y pH final de $5,5 \pm 0,2$. El volumen de inyección fue de 20 μL y detección UV a 240 nm. El método resultó ser específico, lineal, exacto y preciso bajo las condiciones de trabajo optimizadas y puede ser empleado como análisis de rutina para la cuantificación simultánea de ambos principios activos.

Palabras clave: Decualinio, lidocaína, validación, optimización, par iónico, RP-HPLC

Abstract

The combination of dequalinium chloride and lidocaine hydrochloride is used in the form of chewable tablets as an oropharyngeal antiseptic, specifically for the prophylaxis and treatment of diseases of superficial mucosa. Currently, there are no validated analytical methods reported in the literature that allows the simultaneous determination of this drug combination, for this reason, a reverse phase high efficiency liquid chromatography (RP-HPLC) method was optimized and validated, according to the requirements established by USP in Section <1225>. The chromatographic conditions found for the separation and quantification of the drugs were: octadecylsilane column (C18, 10 μm x 3.9 mm x 300 mm), room temperature, flow rate of 1.2 mL/min, mobile phase consisting of sodium hexanesulfonate, water, and methanol (2:300:700) with final pH of 5.5 ± 0.2 ; injection volume of 20 μL and UV detection at 240 nm. The method was found to be specific, linear, accurate, and precise under the optimized analytical conditions and can be used as a routine procedure for the simultaneous quantification of both drugs.

Keywords: Dequalinium, lidocaine, validation, optimization, ion pair, RP-HPLC

Laboratorio de análisis de medicamentos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.

*Correspondencia: andreaagarciar@gmail.com

Orcid: ¹ [0000-0001-9305-8751](https://orcid.org/0000-0001-9305-8751)

² [0000-0001-6006-6915](https://orcid.org/0000-0001-6006-6915)

³ [0000-0003-0149-4615](https://orcid.org/0000-0003-0149-4615)

⁴ [0009-0009-4422-9054](https://orcid.org/0009-0009-4422-9054)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2023.86.1-2.8](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2023.86.1-2.8)

Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 27/02/2023

Aprobación: 02/05/2023

Rev. Fac. Farmacia 86(1y2): 70-82. 2023

Introducción

El cloruro de decualinio (dicloruro de 1,1'-decano-1,10-diilbis(4-amino-2-metilquinolinio)decil-2-metil-4-quinolin-1-iumamina) es un potente antiséptico dotado de actividad fungicida y bactericida frente a una gran cantidad de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Inhibe a baja concentración, el desarrollo de casi todos los gérmenes patógenos causantes de las infecciones comunes bucofaríngeas, empleado para el tratamiento de infecciones locales, siendo un fármaco comúnmente utilizado en forma de tabletas masticables (Bailly, 2021).

En este tipo de formulaciones de uso bucal suelen asociarse dos o más principios activos. Uno de los fármacos que se suele asociar al cloruro de decualinio es la lidocaína (2-(dietilamino)-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida), usualmente en forma de sal hidroclicida. La lidocaína es un anestésico local que actúa bloqueando los canales de sodio dependientes de voltaje que impide las corrientes de iones de sodio y potasio a través de los receptores del nervio y por lo tanto, la conducción nerviosa en las neuronas periféricas sensitivas (Ochoa-Anaya y col., 2017).

La asociación de cloruro de decualinio y clorhidrato de lidocaína en formulaciones sólidas bucales se comercializa en Venezuela sin receta médica y es ampliamente utilizada para el alivio del dolor de garganta, un síntoma frecuente de infecciones virales comunes.

La Farmacopea Europea 10.0 (2019) establece un método cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para la determinación de sustancias relacionadas de cloruro de decualinio, que consiste en

el uso de una columna octadecilsilano C18 (0,25 m x 4,6 mm) y una fase móvil compuesta por 2 g de hexanosulfonato de sodio en 300 mL de agua, con ajuste del pH a 4,0 con ácido acético glacial, y 700 mL de metanol. El flujo es de 1,5 mL/min, el volumen de inyección es de 10 μ L y la detección UV se realiza a 240 nm. La preparación de la muestra se realiza disolviendo 10,0 mg de la misma en la fase móvil hasta obtener un volumen final de 10,0 mL.

Actualmente no existe un método analítico validado reportado en la literatura que permita la determinación simultánea de cloruro de decualinio y clorhidrato de lidocaína en formulaciones farmacéuticas, por ello, en el presente trabajo, se optimizó y validó un método por cromatografía líquida de alta eficiencia en fase inversa (RP-HPLC), de acuerdo con los requerimientos establecidos por la USP en el Apartado <1225>, para ser aplicado en la determinación simultánea de ambos principios activos en tabletas masticables.

Materiales y Métodos

EQUIPOS

Cromatógrafo líquido de alta eficiencia Waters® compuesto por bomba modelo 600E, automuestreador plus 717 acoplado a un detector de arreglo de diodos (PDA) modelo 996. Programa Millennium® 32 para la adquisición y procesamiento de datos. Columna C18 Waters® μ Bondapak (10 μ m x 3,9 mm x 300 mm).

Balanzas electrónicas Mettler-Toledo AG245 y OHAUS Adventurer™ AR3130. pHmetro Sper Scientific Bench-Top Meter modelo SP860031, centrifugadora Gemmy Industrial modelo PLC-05.

REACTIVOS

Metanol HPLC Fermont, hexanosulfonato de sodio Kodak, ácido acético glacial Fluka, hidróxido de sodio Merck KgaA, ácido clorhídrico 37% Riedel-de Haën, peróxido de hidrógeno 35% Riedel-de Haën, agua ultrapura 18 MΩ obtenida mediante la combinación de un sistema de pretratamiento y desionización. Ultrapurificador nanopure.

PATRONES DE REFERENCIA

Se emplearon patrones de referencia secundarios provenientes de materias primas de alta pureza: clorhidrato de lidocaína 93,36% y cloruro de decualinio 95,24%, vigentes al momento de la investigación.

MUESTRAS

Producto comercial en forma de tabletas masticables, el cual declara en su composición que cada tableta contiene 0,25 mg de cloruro de decualinio y 5,00 mg de clorhidrato de lidocaína.

PREPARACIÓN DE PATRONES

Se preparó una solución patrón combinada de concentración 0,02 mg/mL de cloruro de decualinio y 0,4 mg/mL de clorhidrato de lidocaína empleando fase móvil como disolvente.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se pesó una cantidad de muestra equivalente a una tableta y se adicionaron

15 mL de fase móvil, seguido de agitación mecánica con vórtex por 30 segundos, ultrasonido por 10 minutos y nuevamente vórtex por 30 segundos. Se llevó a un volumen final de 25,0 mL con fase móvil y posteriormente se centrifugó por 5 minutos. Se transfirió una alícuota de 5,0 mL del sobrenadante a un balón aforado de 10,0 mL y se llevó a volumen con fase móvil. Cada solución fue filtrada a través de una membrana PVDF de 0,22 μm previo a su inyección en el cromatógrafo.

OPTIMIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA

La longitud de onda de trabajo se determinó mediante el estudio de espectros de barrido de ambos principios activos en un rango de longitud de onda de 200 a 400 nm (Figura 1), lo cual fue posible gracias al uso de un detector de arreglo de fotodiodos. Se determinó que ambos analitos absorben a 240 nm, y que al encontrarse cerca de la longitud de onda de máxima absorción del cloruro de decualinio (240 nm) se favorece la señal del mismo sin perjudicar la señal del clorhidrato de lidocaína, permitiendo la cuantificación simultánea de los analitos.

La selección de la fase móvil se llevó a cabo mediante ensayos con diferentes combinaciones propuestas por otras investigaciones para el análisis de uno de los principios activos.

La fase móvil que mostró mejores resultados se compone de 2 g de hexanosulfonato de sodio en 300 mL de

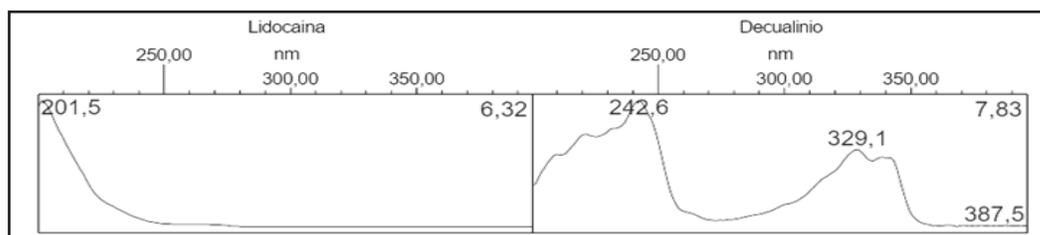


Figura 1. Espectros de absorción UV de clorhidrato de lidocaína (izquierda) y cloruro de decualinio (derecha)

agua, pH ajustado a 4,0 con ácido acético glacial, y 700 mL de metanol. En función a esto se procedió a optimizar y evaluar las condiciones cromatográficas para el análisis.

CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Las condiciones cromatográficas establecidas fueron las siguientes: Columna C18 Waters® μ Bondapak (10 μ m x 3,9 mm x 300 mm), fase móvil de 2 g de hexanosulfonato de sodio en 300 mL de agua ultrapura con ajuste de pH a 4,0 empleando ácido acético glacial, y 700 mL de metanol; flujo de 1,2 mL/min, volumen de inyección de 20 μ L y detección UV a 240 nm.

VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA

La validación del método se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos por el Apartado <1225> de la USP 42 (2019) para los procedimientos de Categoría I. Se evaluaron los parámetros de linealidad, precisión, especificidad y exactitud.

LINEALIDAD

Se determinó a partir de patrones combinados en un rango de concentración de 0,0030 a 0,0060 mg/mL para el cloruro de decualinio y 0,06 a 0,12 mg/mL para el clorhidrato de lidocaína. Se construyeron curvas de calibración graficando el área del pico obtenido en función a la concentración del analito, y se calculó la ecuación de la regresión lineal para cada analito. La linealidad de las curvas de calibración fue evaluada a través del cálculo del coeficiente de correlación (R) y coeficiente de determinación (R^2).

PRECISIÓN

Precisión del sistema

La precisión del sistema cromatográfico fue estudiada mediante la evaluación de la variación de los valores obtenidos en los tiempos de retención (tR) y áreas de los picos para cada analito, a partir de seis inyecciones consecutivas de un patrón combinado de concentración 0,02 mg/mL de cloruro de decualinio y 0,4 mg/mL para el clorhidrato de lidocaína (nivel 100%).

Repetibilidad

Se evaluó mediante el estudio de las variaciones en la concentración de los analitos a partir de seis determinaciones de muestras preparadas al 100% de concentración, realizado por un analista en un mismo equipo. Para la cuantificación de los analitos se construyó una curva de calibración.

Precisión intermedia

Se llevó a cabo por tres analistas diferentes, empleando el mismo sistema cromatográfico. Para la determinación de la precisión intermedia, se evaluó la variación de los resultados de las determinaciones obtenidos a partir de tres réplicas de muestras preparadas al 100% de concentración. Cada analista construyó una curva de calibración para la cuantificación de sus muestras.

ESPECIFICIDAD

Al no disponer de estándares de impurezas y productos relacionados de los analitos que permitan demostrar que el método propuesto no se ve afectado por la presencia de los mismos, la especificidad se

evaluó mediante estudios de degradación forzada. Esto se llevó a cabo exponiendo muestras a condiciones de estrés para su posterior inyección en el sistema y evaluación de la pureza de los picos mediante la comparación de los valores del ángulo de pureza (PA) y umbral de ruido (TH); donde, si el valor de PA es mayor al de TH se presume que hay coelución de alguna impureza con el analito.

DEGRADACIÓN FORZADA

Para cada condición, se pesó 0,25 g de la muestra en balones aforados de 25,0 mL (excepto en el caso de termólisis, en el que se empleó un balón tipo Jenna de 50,0 mL capaz de soportar los cambios de temperatura) y posteriormente se sometieron a condiciones de estrés como se indica a continuación:

Fotólisis: la muestra fue expuesta a un sistema con exposición directa a luz UV proveniente de una lámpara durante 4 días continuos.

Hidrólisis ácida: se añadió 1,00 mL de ácido clorhídrico 0,1 N a la muestra y se dejó en reposo por 4 días.

Hidrólisis básica: se añadió a la muestra 1,00 mL de hidróxido de sodio 0,1 N y se dejó en reposo por 4 días.

Oxidación: se añadió 1,00 mL de peróxido de hidrógeno al 3% a la muestra y se dejó en reposo por 4 días.

Termólisis: se sometió la muestra a calentamiento en un baño de agua durante 3 horas a una temperatura controlada de 60 °C.

Una vez concluido el tiempo de exposición, se adicionó a cada muestra 15 mL de fase

móvil y se agitaron mecánicamente en vórtex por 30 segundos, luego en baño de ultrasonido por 10 minutos y nuevamente en vórtex por 30 segundos. Se llevaron a volumen con fase móvil, las muestras luego fueron centrifugadas y posteriormente para cada una se transfirió 5,00 mL del sobrenadante a un balón aforado de 10,0 mL y se llevó a volumen con más fase móvil. Adicionalmente, se construyó una curva de calibración para llevar a cabo la cuantificación de los analitos. Las muestras fueron inyectadas en el sistema tras ser filtradas y los cromatogramas y gráficos de pureza resultantes gracias al PDA fueron evaluados para cada una de las pruebas.

EXACTITUD

La determinación de la exactitud se realizó según el método de agregado de estándar, el cual consiste en añadir a las muestras una cantidad conocida de estándar para obtener tres niveles de concentración correspondiente a 80%, 100% y 120% de la curva de calibración. Para cada nivel se realizaron tres réplicas, para un total de nueve determinaciones. El porcentaje de recuperación fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{([\text{conc. muestra enriquecida con patrón}] - [\text{conc. muestra sin enriquecer}])}{(\text{Valor aceptado como verdadero del patrón})} \times 100\%$$

En paralelo se construyó una curva de calibración para llevar a cabo la cuantificación.

Resultados

OPTIMIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA

Se determinaron las figuras de mérito con la fase móvil final y el valor de platos

teóricos (N) fue de 1156 y 1764, el factor de asimetría (As) fue de 0,75 y 1,33, el factor de capacidad (K') de 1,028 y 1,57 para el clorhidrato de lidocaína y cloruro de decualinio, respectivamente en todos los casos. En cuanto a la resolución, esta fue de 2. Al realizar la prueba con la columna final C18 Waters® μ Bondapak (10 μ m x 3,9 mm x 300 mm) la resolución de los picos fue mejorada a un valor de 4,75.

En cuanto a los tiempos de retención en la fase estacionaria de la columna, estos fueron de 3,61 y 6,21 minutos para la lidocaína y el decualinio, respectivamente.

LINEALIDAD

Al calcular los coeficientes de correlación y determinación para ambos analitos a partir de las tres curvas de calibración construidas, se observó que existe linealidad entre los resultados obtenidos por el equipo y las concentraciones de las soluciones patrón, ya que se obtuvieron, para ambos coeficientes, valores $\geq 0,999$, tal como se observa en las Figuras 2-7.

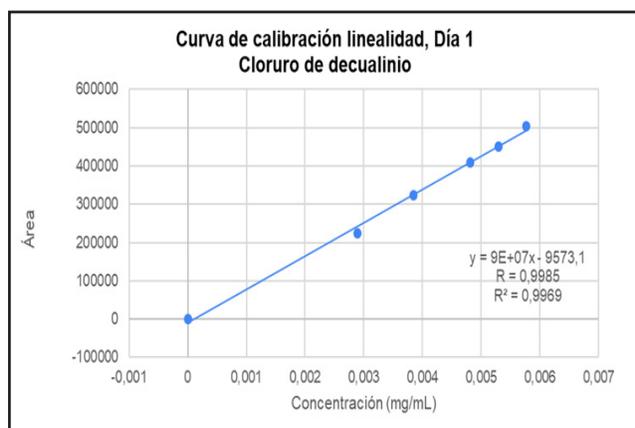


Figura 2. Curva de calibración linealidad día 1, cloruro de decualinio

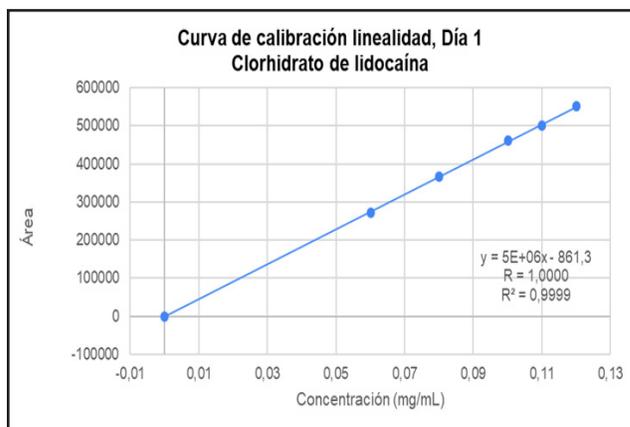


Figura 3. Curva de calibración linealidad día 1, clorhidrato de lidocaína

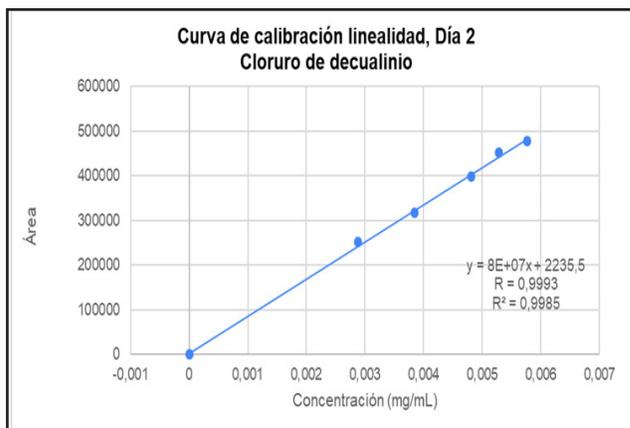


Figura 4. Curva de calibración linealidad día 2, cloruro de decualinio

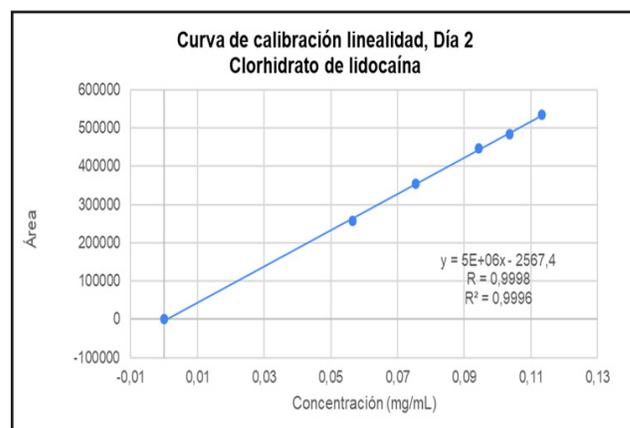


Figura 5. Curva de calibración linealidad día 2, clorhidrato de lidocaína

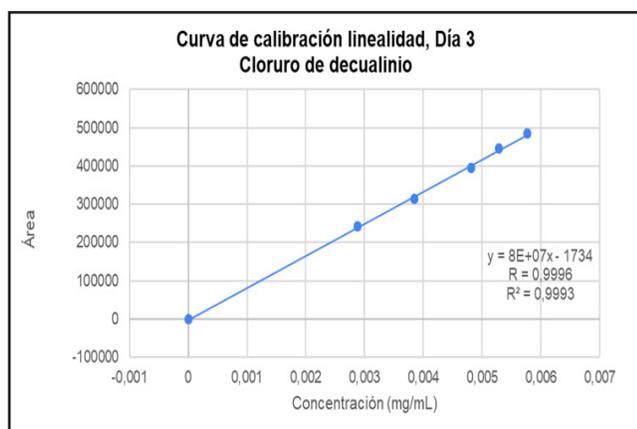


Figura 6. Curva de calibración linealidad día 3, cloruro de decualinio

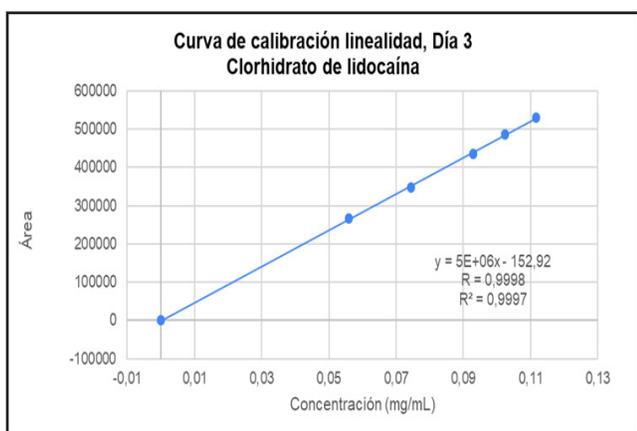


Figura 7. Curva de calibración linealidad día 3, clorhidrato de lidocaína

PRECISIÓN

Precisión del sistema

Tal como se observa en la Tabla I, se obtuvieron tiempos de retención promedio de 6,66 minutos para el cloruro de decualinio y 3,70 minutos para el clorhidrato de lidocaína, con un coeficiente de variación de 1,29% y 1,92%, respectivamente. Los coeficientes de variación (CV) obtenidos son inferiores al 2%.

Repetibilidad

Se obtuvieron coeficientes de variación inferiores al 2%, tal como se resume en las Tablas II y III, correspondientes a ambos analitos.

Tabla I.

Precisión del sistema cromatográfico clorhidrato de lidocaína

Inyección	Cloruro de decualinio		Clorhidrato de lidocaína	
	t_r (min)	Área	t_r (min)	Área
1	6,53	408151	3,67	460344
2	6,63	418522	3,72	478223
3	6,66	420015	3,69	455936
4	6,79	416992	3,75	454121
5	6,70	412447	3,71	458068
6	6,64	410246	3,69	457521
Promedio	6,66	414396	3,70	460702
DE	0,09	4803	0,03	8834
CV	1,29	1,16	0,82	1,92

Precisión intermedia

Debido a que las pruebas fueron realizadas por distintos analistas, se evaluaron los coeficientes de variación según lo que establece la AEFI (Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria). Ésta indica que se consideran aceptables valores de coeficiente de variación inferiores al doble del coeficiente de variación del ensayo de repetibilidad. Así, en el caso del cloruro de decualinio, el valor máximo aceptado es de 3,99 y para el clorhidrato de lidocaína es de 2,86. Se observa en las Tablas IV y V que ambos coeficientes de variación cumplen con los parámetros mencionados.

Especificidad

Al evaluar los cromatogramas en las Figuras 8 y 9, se observa que los picos de ambos analitos de la muestra control se corresponden con los picos de los patrones. Al evaluar los cromatogramas de hidrólisis ácida, oxidación y termólisis (Figuras 11, 13 y 14, respectivamente) se encuentra que

Tabla II.
Repetibilidad para el cloruro de decualinio

Cloruro de decualinio				
Réplicas	Masa de muestra (g ± 0,001)	Área	Concentración (mg/tab)	% Respecto a lo declarado
1	1,065	474771	0,250	100,00
2	1,055	464824	0,250	100,00
3	1,057	469526	0,250	100,00
4	1,067	465138	0,240	96,05
5	1,061	475854	0,248	99,20
6	1,052	453597	0,240	96,03
		Promedio	0,246	98,55
		DE	0,005	1,97
		CV	1,994	1,99

Tabla III.
Repetibilidad para el clorhidrato de lidocaína

Clorhidrato de lidocaína				
Réplicas	Masa de muestra (g ± 0,001)	Área	Concentración (mg/tab)	% Respecto a lo declarado
1	1,065	474771	5,05	101,00
2	1,055	464824	4,99	99,80
3	1,057	469526	5,03	100,60
4	1,067	465138	4,94	98,80
5	1,061	475854	5,08	101,60
6	1,052	453597	4,89	97,80
		Promedio	5,00	99,93
		DE	0,07	1,43
		CV	1,43	1,43

existe pureza espectral, pues el ángulo de pureza (PA) es inferior al umbral de ruido (TH) en todos los casos. Por otro lado, se observa que la hidrólisis básica afecta al cloruro de decualinio, ya que al evaluar el cromatograma (Figura 12), no se observa el pico del mismo. Para el caso de la prueba de fotólisis, se pierde la pureza espectral del cloruro de decualinio al obtener un valor de TH inferior al PA, tal como se muestra en

la Figura 10. Al evaluar las Tablas VI y VII, se concluye que para varias de las pruebas de degradación forzada existen sustancias coeluyendo con los analitos de interés.

Exactitud

Los porcentajes de recuperación fueron evaluados en función de los parámetros establecidos por la AEFI, donde indica que los valores aceptados se encuentran

Tabla IV.
Precisión intermedia. Cloruro de decualinio

Cloruro de decualinio				
Analista	Réplica	Áreas	Decualinio (mg/tab)	CV individual
Analista 1	1	426497	0,246	1,22
	2	422754	0,246	
	3	417050	0,243	
Analista 2	1	413709	0,249	0,79
	2	423284	0,254	
	3	416572	0,250	
Analista 3	1	409715	0,260	1,16
	2	418907	0,250	
	3	419778	0,260	
Promedio			0,251	
DE			0,006	
CV promedio			2,421	

Tabla V.
Precisión intermedia. Clorhidrato de lidocaína

Cloruro de decualinio				
Analista	Réplica	Áreas	Decualinio (mg/tab)	CV individual
Analista 1	1	426497	0,246	1,22
	2	422754	0,246	
	3	417050	0,243	
Analista 2	1	413709	0,249	0,79
	2	423284	0,254	
	3	416572	0,250	
Analista 3	1	409715	0,260	1,16
	2	418907	0,250	
	3	419778	0,260	
Promedio			0,251	
DE			0,006	
CV promedio			2,421	

en el rango de 97,00-103,00% para cada nivel. Los resultados de los cálculos de porcentaje de recuperación se muestran en las Tablas VIII y IX.

Discusión

Para la determinación simultánea de cloruro de decualinio y clorhidrato de lidocaína, se seleccionó la columna C18

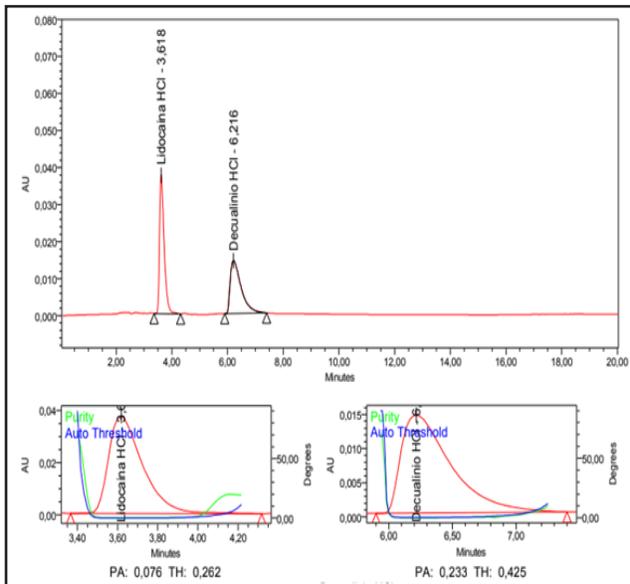


Figura 8. Cromatograma y gráficos de pureza de patrón control

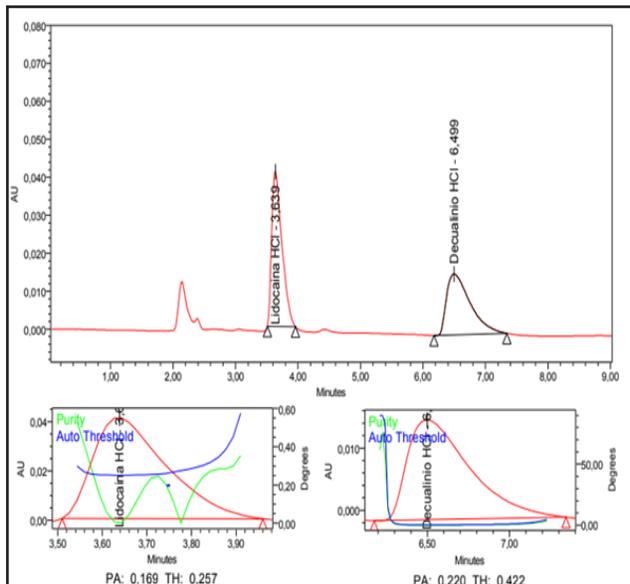


Figura 9. Cromatograma y gráficos de pureza de muestra control

Waters® μ Bondapak (10 μ m x 3,9 mm x 300 mm) ya que presenta un número de platos teóricos aceptable, buena resolución de las señales cromatográficas y por ende una separación más eficiente de los analitos. La longitud de onda de trabajo seleccionada para la detección fue de 240 nm, ya que a esta longitud de onda se favorece la señal del cloruro de decualinio sin afectar la señal de la lidocaína. Adicionalmente,

la longitud de onda seleccionada se encuentra lejos de la longitud de onda de corte del metanol (sustancia presente en la fase móvil), garantizando de esta manera que la longitud de onda de corte del metanol no interferirá en la cuantificación de los analitos estudiados. La fase móvil seleccionada cuenta con un formador de par iónico que permitió mejorar la fuerza de retención de los analitos sobre la fase estacionaria.

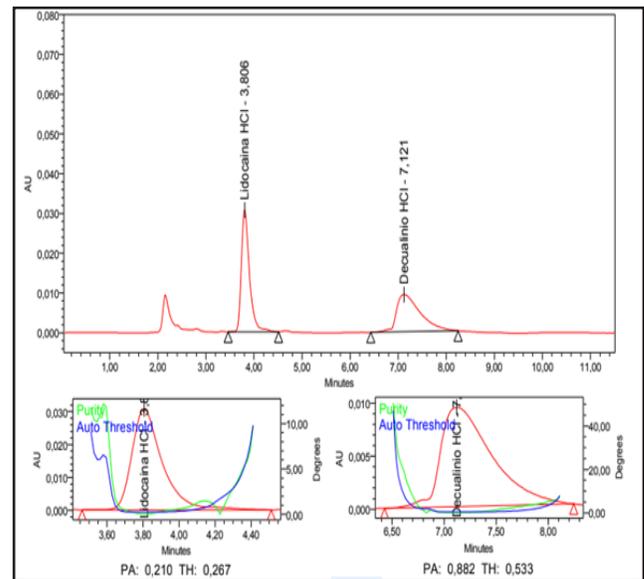


Figura 10. Cromatograma y gráficos de pureza de fotólisis

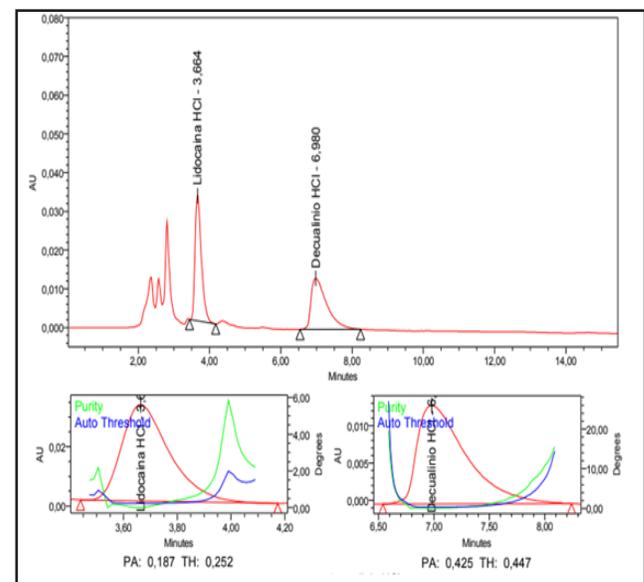


Figura 11. Cromatograma y gráficos de pureza de hidrólisis ácida

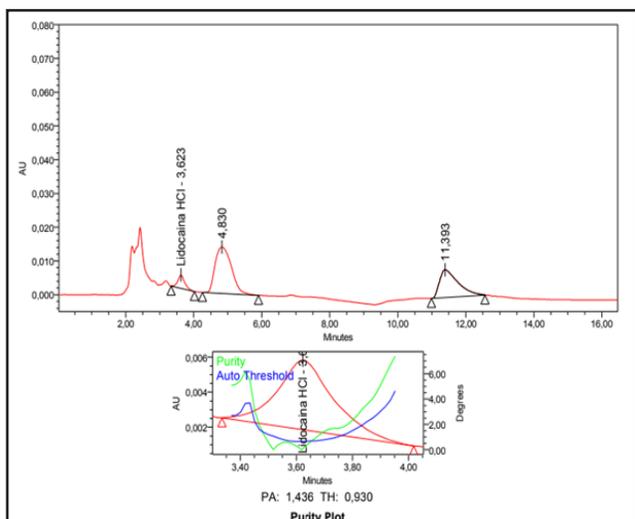


Figura 12. Cromatograma y gráficos de pureza de hidrólisis básica

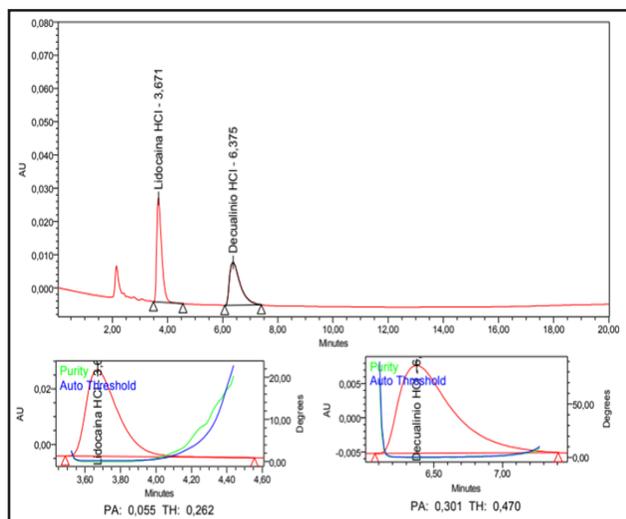


Figura 14. Cromatograma y gráficos de pureza de termólisis

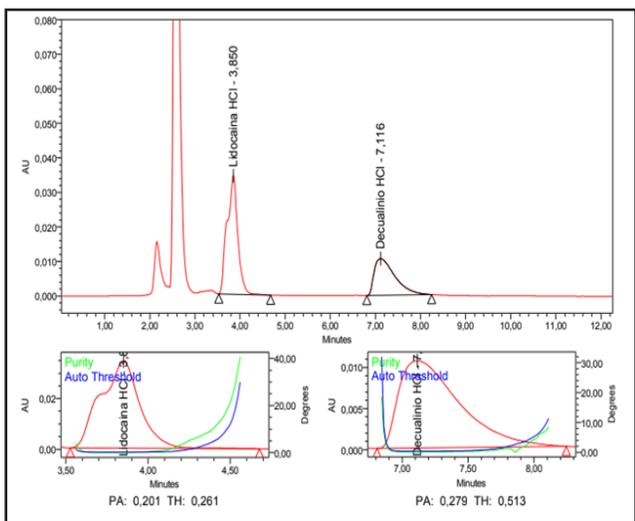


Figura 13. Cromatograma y gráficos de pureza de oxidación

Al evaluar la especificidad del método se encontró que, al someter a la muestra a distintas condiciones de degradación forzada, no se afecta la cuantificación simultánea de los analitos de interés. Sin embargo, se encontró que condiciones como la fotólisis y la hidrólisis básica, pueden afectar la estabilidad de las moléculas de los principios activos estudiados.

Al evaluar la linealidad se observó que las curvas de calibración resultantes demuestran que existe proporcionalidad entre las variables, con un rango de concentración de 0,0030 a 0,0060 mg/mL

Tabla VI.

Especificidad del método para clorhidrato de lidocaína

Condición	PA	TH	Área	Concentración (mg/tab)	% respecto al declarado	% degradación
Muestra control	0,169	0,257	467053	5,18	103,81	-
Muestra control en reposo	0,169	0,257	471368	5,02	108,66	-4,40
Fotólisis	0,210	0,267	359366	4,24	87,79	15,54
Hidrólisis ácida	0,187	0,252	401140	4,89	104,71	-0,74
Hidrólisis básica	1,436	0,930	55529	0,67	14,20	86,32
Oxidación	0,201	0,261	566241	6,68	138,30	-33,06
Termólisis	0,055	0,262	388314	4,53	92,73	10,77

PA = Ángulo de pureza; TH = Umbral de ruido

Tabla VII.

Especificidad del método para cloruro de decualinio

Condición	PA	TH	Área	Concentración (mg/tab)	% respecto a lo declarado	% degradación
Muestra control	0,220	0,422	421737	0,25	100,32	-
Muestra control en reposo	0,262	0,436	438796	0,25	108,13	-7,80
Fotólisis	0,882	0,533	320921	0,20	82,78	17,44
Hidrólisis ácida	0,425	0,447	405571	0,27	115,58	-15,40
Hidrólisis básica	-	-	-	-	-	-
Oxidación	0,279	0,513	339192	0,22	91,05	9,18
Termólisis	0,301	0,470	349252	0,22	90,05	10,22

PA = Ángulo de pureza; TH = Umbral de ruido

Tabla VIII.

Especificidad del método para cloruro de decualinio

Porcentaje de recuperación de cloruro de decualinio				
Nivel	% Recuperación	Promedio	CV	%Encontrado
80,00	99,38	99,36	0,03	79,49
	99,34			
100,00	98,63	99,93	1,26	99,93
	100,01			
120,00	101,15	98,76	0,49	118,52
	99,17			
	98,22			

Tabla IX.

Porcentaje de recuperación. Clorhidrato de lidocaína

Porcentaje de recuperación de clorhidrato de lidocaína				
Nivel	% Recuperación	Promedio	CV	%Encontrado
80,00	101,23	101,20	0,05	80,96
	101,17			
100,00	99,77	99,51	1,26	99,51
	100,61			
	98,15			
120,00	101,60	101,80	0,43	122,16
	102,30			
	101,51			

para el cloruro de decualinio y 0,06 a 0,12 mg/mL para el clorhidrato de lidocaína, con valores de coeficiente de correlación mayor de 0,999 para las curvas de calibración realizadas en tres días distintos.

Con relación a la precisión del método, se encontró que el sistema cromatográfico resultó ser preciso debido a que los valores de los CV obtenidos son inferiores al 2%, límite establecido por la USP. La precisión evaluada a través de la repetibilidad y la precisión intermedia del método se encuentra dentro de los límites establecidos, con valores de CV inferiores al 2% y cumpliendo con el parámetro establecido por la AEFI.

El método resultó ser exacto ya que los porcentajes de recuperación de ambos analitos cumplen con lo establecido por la AEFI.

Conclusiones

Se optimizó un método analítico mediante cromatografía líquida de alta eficiencia en fase inversa (RP-HPLC) que permite la determinación simultánea de

cloruro de decualinio y clorhidrato de lidocaína en tabletas masticables. Las condiciones óptimas para el análisis son: Columna Waters® μ Bondapak C18 (10 μ m x 3,9 mm x 300 mm) a temperatura ambiente, fase móvil compuesta por 2 g de hexanosulfonato de sodio en 300 mL de agua grado HPLC con ajuste de pH a 4,0 con ácido acético y 700 mL de metanol a un flujo de 1,2 mL/min; volumen de inyección de 20 μ L y detección UV a 240 nm.

Asimismo, el método analítico fue validado según lo establecido en el Apartado <1225> de la USP 42, resultando ser:

Lineal ($R \geq 0,999$) para concentraciones dentro del rango de 0,0030 a 0,0060 mg/mL para el cloruro de decualinio y 0,06 a 0,12 mg/mL para el clorhidrato de lidocaína.

Preciso, ya que al evaluar la repetibilidad y precisión intermedia se encontraron valores de CV inferiores al 2% para ambos analitos.

Exacto, pues los porcentajes de recuperación obtenidos para ambos analitos se encuentran dentro del rango permitido por la AEFI (97,00% - 103,00%).

Específico para el cloruro de decualinio y el clorhidrato de lidocaína, ya que permite cuantificarlos sin verse afectado por la presencia de productos de degradación.

Recomendaciones

Realizar estudios de reproducibilidad, robustez, límite de detección y límite de cuantificación al método propuesto, con la finalidad de conocer mejor las posibles limitantes de su uso y tener una validación completa. Asimismo, se recomienda aplicar

esta metodología a un medicamento elaborado por otro laboratorio y corroborar si el método propuesto puede aplicarse a otras presentaciones.

Agradecimientos

Al laboratorio de Análisis de Medicamentos de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela, por permitir el uso de sus espacios y hacer posible llevar a cabo esta investigación; y a los profesores María Antonieta Ranaudo y Francisco García de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, por sus aportes que permitieron la discusión y justificación de algunos de los resultados.

Referencias Bibliográficas

- Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI). Validación de métodos analíticos. 2001.
- Bailly C. 2021. Medicinal applications and molecular targets of dequalinium chloride. *Biochemical Pharmacology* 186:114467.
- Farmacopea de los Estados Unidos (USP) 42. <1225> Validación de Procedimientos Farmacopéicos. Comité de Revisión de la Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. 2019.
- Farmacopea Europea (EP) 10.0. Cloruro de decualinio. Dirección Europea de Calidad de los Medicamentos. 2019.
- Ochoa-Anaya G, Aguirre-Ibarra CP, Franco-Cabrera M. 2017. Lidocaína: aspectos generales y nuevas implicaciones en la inflamación. *Revista Mexicana de Anestesiología* 40(3): 220-225.