



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales

"ZARAGOZA"

**"VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA  
CUANTIFICAR PEROXIDO DE BENZOILO EN UN  
GEL POR YODOMETRIA"**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P R E S E N T A**  
**PASTORA BERNARDITA CAMARILLO CRUZ**

**TESIS CON  
MALLA DE ORIGEN**



MEXICO. D. F.

1989



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

	<u>Página</u>
INTRODUCCION . . . . .	1
I. FUNDAMENTACION DEL TEMA . . . . .	2
A. GENERALIDADES . . . . .	2
1. Validación . . . . .	2
2. Requisitos para validar un método . . . . .	3
a. Especificidad . . . . .	3
b. Linealidad . . . . .	5
c. Exactitud . . . . .	5
d. Precisión . . . . .	6
1) Repetibilidad . . . . .	7
2) Reproducibilidad . . . . .	8
e. Sensibilidad . . . . .	8
B. MONOGRAFIA . . . . .	11
1. Peróxido de benzoflo . . . . .	11
a. Sinónimos . . . . .	11
b. Fórmula Desarrollada . . . . .	11
c. Fórmula Semidesarrollada . . . . .	11
d. Fórmula Condensada . . . . .	11
e. Peso Molecular . . . . .	11
f. Empaque y Almacenamiento . . . . .	11

	<u>Página</u>
g. Descripción . . . . .	12
h. Contenido . . . . .	12
i. Solubilidad . . . . .	12
j. Punto de Fusión . . . . .	12
k. Precaución . . . . .	12
l. Usos Terapéuticos . . . . .	12
m. Identificación . . . . .	13
n. Ensayo . . . . .	14
C. YODOMETRIA . . . . .	14
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA . . . . .	16
III. OBJETIVO . . . . .	17
IV. HIPOTESIS . . . . .	18
V. PARTE EXPERIMENTAL . . . . .	19
A. MATERIAL Y EQUIPO . . . . .	19
1. Material . . . . .	19
2. Sustancias . . . . .	19
3. Equipo . . . . .	20
B. PROCEDIMIENTO . . . . .	20
1. Preparación del placebo . . . . .	20
2. Determinación de la Especificidad . . . . .	20
a. Placebo . . . . .	20
b. Estándar . . . . .	21

	<u>Página</u>
c. Placebo Cargado . . . . .	22
3. Determinación de la Precisión . . . . .	22
a. Repetibilidad . . . . .	22
b. Reproducibilidad . . . . .	22
4. Linealidad . . . . .	22
5. Exactitud . . . . .	23
6. Sensibilidad . . . . .	23
VI. RESULTADOS . . . . .	24
A. ESPECIFICIDAD . . . . .	24
B. PRECISION (Repetibilidad) . . . . .	25
C. EXACTITUD . . . . .	27
D. LINEALIDAD . . . . .	30
E. REPRODUCIBILIDAD . . . . .	37
F. SENSIBILIDAD . . . . .	40
VII. ANALISIS DE RESULTADOS . . . . .	42
VIII. CONCLUSION . . . . .	44
IX. PROPUESTAS . . . . .	45
APENDICE . . . . .	46
Propiedades de los excipientes . . . . .	46

	<u>Página</u>
Carbomer . . . . .	46
2, 2', 2''-Nitrilotrietanol . . . . .	47
p-Hidróxibenzoato de Metilo . . . . .	48
p-Hidróxibenzoato de Propilo . . . . .	49
<b>APENDICE II</b> . . . . .	<b>50</b>
<b>Fórmulas</b> . . . . .	<b>50</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> . . . . .	<b>55</b>

## INTRODUCCION

Durante los últimos años la Industria Farmacéutica está especialmente interesada en la validación de métodos analíticos, para comprobar que los resultados obtenidos son confiables, y aseguran de una manera eficaz la calidad de los productos que tienen que ver con la salud.

El método analítico para el gel de peróxido de benzofilo para el ensayo de contenido de principio activo (P.a) descrito en farmacopea, establece un método por cromatografía de líquidos de alta resolución. Este método es muy sensible pero requiere de disolventes y equipo que por su costo lo hacen inaccesible, por lo que en Representaciones Mex-América, S.A., se emplea para el análisis de calidad del gel de peróxido de benzofilo el ensayo reportado en la USP XXI para materia prima, el cual establece un método volumétrico (yodométrico) con tiosulfato de sodio 0.10 N, basado en el carácter oxidante proporcionado por el grupo funcional peróxido que posee la molécula.

El peróxido de benzofilo USP se administra por vía tópica como loción, crema, o como gel a una concentración del 5% de fármaco. Libera lentamente oxígeno, a el cual se le atribuye la acción antimicrobiana, también es queratolítico, anticeboreico e irritante.

## I. FUNDAMENTACION DEL TEMA

### A. GENERALIDADES

1. Validación. Los beneficios que aporta la validación de métodos analíticos son grandes, ya que ésta permite, conocer el comportamiento de un proceso bajo diferentes condiciones de operación, y posteriormente utilizarlo en lo posible para procesos rutinarios.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad. La validación general incluye una evaluación de la precisión, linealidad y exactitud, y proporciona una medida del comportamiento del método. (5,20)

La validación puede ser definida como:

- "Un documento desarrollado por los pasos críticos en un proceso de fabricación, el cual requiere control a través del uso apropiado de procesos rutinarios de los productos con una propiedad". (12)
- "Programa documentado que asegura que un proceso determinado proporciona de manera homogénea y reproducible que un producto cumple con las especificaciones previamente establecidas". (4)

- "Representa las buenas prácticas de manufactura (GMP) mide la seguridad de calidad destinada a proteger la aptitud del producto final".(14)

La validación de un método analítico es una medida del cumplimiento de el sistema total analítico. En otras palabras el investigador puede asegurar que el método, los instrumentos, los solventes, y reactivos usados durante el ensayo son adecuados para el compuesto que se esté analizando.(10,2,1)

Los métodos que son establecidos por la USP, la AOAC, o de algunas otras fuentes reconocidas de estándares de referencia, deben ser adecuadamente validados porque nuevas condiciones, reactivos, e instrumentos pueden alterar sus características.(10)

2. Requisitos para Validar un Método. Cada vez que un problema requiere el empleo de datos susceptibles de errores experimentales, los métodos estadísticos constituyen el medio seguro y lógico para tratarlos.

a. Especificidad: El procedimiento no solamente debe distinguir las moléculas del fármaco dentro de varias moléculas, sino también algunas veces debe distinguir las moléculas de un fármaco de otros fármacos. Idealmente el fármaco medido debe estar libre de interferencias por todos los materiales conocidos, en particular, que

los excipientes no interfieran con la medida de la potencia del principio activo.

La especificidad mide el grado de interacción (o ausencia)- en el análisis de mezclas. En el método analítico específico, es la medida usada para la determinación de un compuesto y que no esté influenciada por la presencia de otros materiales. (7,20)

**Criterio:**

<b>Muestra</b>	<b>Respuesta</b>
Placebo . . . . . (todos los excipientes de la forma farmacéutica sin principio activo)	No da respuesta (menor del 2%)
Estándar . . . . .	Da respuesta (100%)
Placebo cargado . . . . . (excipientes + una canti- dad del principio activo igual al estándar)	Da respuesta Igual al estándar (100%)

b. Linealidad. La linealidad de un método analítico es la habilidad de éste para asegurar que los resultados experimentales son proporcionales a la concentración de fármaco dentro de un rango determinado. La linealidad de un método analítico mide el grado en que la respuesta del método, al trabajar a diferentes concentraciones se aproxime a una función lineal del tipo  $Y = BX + A$ .

Se determina con placebos cargados, cada uno de manera independiente, utilizando cuando menos tres diferentes niveles de concentración que incluyen el 100%, este análisis se realiza por triplicado para cada concentración. El estudio deberá llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación. (5,20)

Criterio:

- B = Pendiente = 1
- A = Ordenada al origen = 0
- r = Coeficiente de correlación  $\geq 0.99$
- r = Coeficiente de determinación  $\geq 0.98$
- CV = Coeficiente de variación  $\leq 2\%$

c. Exactitud. El método debe ser exacto y debe revelar dentro de un límite aceptable la cantidad de fármaco que está presente en la forma farmacéutica.

La exactitud se expresa como el porcentaje de recobro obtenido de el análisis de muestras a las que se les a adicionado cantidades conocidas de la sustancia. Se evalua utilizando placebos cargados, se maneja en porcentos de recobro.

**Criterio:**

El estadígrafo de contraste utilizado es t de student

Area de Aceptación

$$t_{\alpha/2} < t_{cal} < t_{1-\alpha/2}$$

El intervalo de confianza para la media, debe incluir el 100%.

Intervalo de Confianza

$$\bar{X} + (t_{\alpha/2} * S / \sqrt{n}) < \bar{X} < \bar{X} + (t_{1-\alpha/2} * S / \sqrt{n})$$

El CV debe cumplir con los criterios establecidos en la linealidad del método.

d. Precisión. Es la variación de los resultados obtenidos entre mediciones repetidas de la misma cantidad. Usualmente se exp

sa en términos de desviación o del coeficiente de variación. Es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método.

1). Repetibilidad. Es la precisión de el método analítico expresado como la variación obtenida entre los resultados obtenidos en determinaciones independientes realizadas por un solo analista, bajo las mismas condiciones de operación.

Se lleva a cabo mediante la evaluación de la varianza muestral, y requiere de la desviación estándar del porciento de recobro.

Criterio:

Estadígrafo de contraste  $\chi_{\text{Cal}}^2 < \chi_{1-\alpha}^2, \sqrt{}$

Intervalo de Confianza

$$\sqrt{\frac{(n-1)S^2}{\chi_{1-\alpha/2}^2}} < \sigma \leq \sqrt{\frac{(n-1)S^2}{\chi_{\alpha/2}^2}}$$

$$CV \leq 2\%$$

2) Reproducibilidad. Es la evaluación de error por analista y error por día en que se lleva a cabo.

Se debe llevar a cabo cuando menos por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado cada muestra. Se debe trabajar de manera independiente partiendo de una muestra del producto al 100% de la concentración teórica. La reproducibilidad se maneja en porcentaje de recobro.

Criterio:

El estadígrafo de contraste es F

Se evalúa utilizando la tabla de análisis y varianza (ANADEVA) que mide los efectos de los factores analista y día.

Modelo Matemático

$$Y = \mu + A_i + D_j(i) + E_k(ij)$$

e. Sensibilidad. La sensibilidad es la mínima cantidad de sustancia que puede detectar el método analítico cuantitativamente bajo las condiciones de operación establecidas.

Experimentalmente se evalúa disminuyendo la cantidad de sus

ANADEVA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F de Cálculo
Analista A <sub>i</sub>	a-1	$\frac{\sum Y_{i..}^2}{bc} - \frac{Y^2}{abc}$	$\frac{SC_A}{a-1}$	$\frac{MC_A}{MC_{DJ(i)}}$
Día D <sub>J(i)</sub>	(b-1)a	$\frac{\sum \sum Y_{ij.}^2}{c} - \frac{\sum Y_{i..}^2}{bc}$	$\frac{SC_D}{b-1}$	$\frac{MC_D}{MC_{Ek(ij)}}$
Error E <sub>k(ij)</sub>	(c-1)ab	$\frac{\sum \sum \sum Y_{ijk}^2}{c} - \frac{Y_{ij.}^2}{bc}$	$\frac{SC_E}{ab(c-1)}$	
Total	n-1	$\sum \sum \sum Y_{ijk}^2 - \frac{Y^2}{abc}$		

tancia en un 50% del nivel establecido que detecta el método y se va disminuyendo de 10 en 10% hasta que el método da señal de ruido.

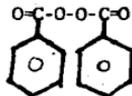
f. Adicionalmente se requiere que el método analítico sea práctico, sencillo, rápido y económico.

B. MONOGRAFIA

1. Peróxido de Benzofilo.

a. Sinónimos. Peróxido de dibenzofilo, Superóxido de benzofilo, Benoxil, Perkadox, lucidol.

b. Fórmula Desarrollada.



c. Fórmula Semidesarrollada.  $(C_6H_5CO)_2/O_2$

d. Fórmula Condensada.  $C_{14}H_{10}O_4$

e. Peso Molecular. Hidratado 242.23 g/mol

f. Empaque y Almacenamiento. Almacenar en el contenedor original a temperatura ambiente. (NOTA - No transferir el peróxido de benzofilo hidratado a contenedores de metal o vidrio con tapones que produzcan fricción. No regresar el material usado a el contener original, destruirlo por tratamiento con solución (1:10) de hidróxido de sodio hasta que al adicionar un cristal de yoduro de potasio no se libere yodo).

g. Descripción. Polvo granular o cristales blancos o casi blancos con un ligero olor característico, contiene cerca del 6% de oxígeno libre.

h. Contenido. No menos del 65% y no más del 82%.<sup>(19)</sup>

i. Solubilidad. Insoluble en agua, ligeramente soluble en alcohol, soluble en acetona, benceno, cloroformo, y éter, un gramo se disuelve en 40 ml de disulfuro de carbono, en aproximadamente 50 ml de aceite de olivo. (18,19)

j. Punto de Fusión. 103 - 106°C.

k. Precaución. El peróxido de benzoflona puede explotar a temperaturas superiores a 60°C, produce fuego en presencia de sustancias reductoras. Almacenar en el contenedor original, tratarlo para reducir cargas electrostáticas.

l) Usos Terapéuticos. El peróxido de benzoflona es usado para el tratamiento del acné, usualmente como cremas y lociones conteniendo de 5 al 10%. Está especialmente indicado en el acné vulgar y el acné rosácea, que guardan relación con una corinebacteria anaerobia. En ungüentos para el tratamiento de quemaduras, úlceras y dermatitis debido al veneno de hiedra. Después de la aplicación puede haber sensación pasajera de picadura o quemadura, que desaparece con

el uso continuo. Es especialmente irritante para la piel del cuello y la región peribucal, y no debe aplicarse cerca de los ojos. Es usada como agente blanqueador en la industria de alimentos. <sup>(9,13)</sup>

m. Identificación

1). Preparar una solución en metanol con una concentración de 10 mg/ml de peróxido de benzofilo. Colocar 5  $\mu$ l de esta solución y 5  $\mu$ l de una solución estándar recientemente preparada de peróxido de benzofilo previamente sujeta al ensayo, en una línea paralela y aproximadamente a 2.5 cm de la base de una placa cromatográfica, cubierta con una capa de 0.25 mm de mezcla de sílica gel cromatográfica. Colocar la placa en una cámara cromatográfica saturada con una mezcla de tolueno, diclorometano, y ácido acético glacial (50:2:1). Desarrollar el cromatograma hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 3/4 partes de la longitud de la placa. Sacar la placa y dejar evaporar el solvente. Observar la placa bajo la lámpara de luz ultravioleta de onda larga. El valor de Rf de la mancha principal obtenida por la solución bajo estudio corresponde a la obtenida por la solución estándar. <sup>(19)</sup>

2). A 500 mg de la muestra adicionar 50 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0.5 N, calentar gradualmente a ebullición, y continuar ebulliendo por 15 minutos. Enfriar, diluir a 200 ml con agua, y hacer la solución fuertemente ácida con ácido clorhídrico 0.5 N.

Extraer con éter, secar el extracto con sulfato de sodio anhidro, después evaporar a sequedad en un baño de vapor. El residuo obtenido como ácido benzoico funde entre 121°C y 123°C. (8)

n. Ensayo. Colocar aproximadamente 500 mg de peróxido de benzofio hidratado en un matraz yodométrico exactamente pesado, pesar nuevamente para obtener el peso de la muestra. Adicionar 30 ml de acetona y agitar suavemente hasta disolución. Añadir 5 ml de solución (1:5) de yoduro de potasio, y mezclar.

Lavar las paredes del matraz con algunos mililitros de acetona, y dejar reposar la solución por un minuto. Titular el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0.1 N, hasta obtener una solución incolora. Cada ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0.1 N es equivalente a 12.11 mg de  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_4$ . En este caso el yodo liberado actúa como auto indicador en la reacción.

### C. YODOMETRIA

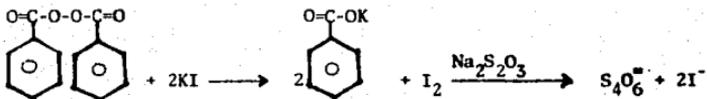
Los métodos yodométricos dependen de la oxidación de yoduro a yodo y la titulación del yodo liberado con una solución valorada de un agente reductor (tiosulfato de sodio, sulfato ferroso y arsenitosódicos). El tiosulfato de sodio es el reductor más comúnmente utilizado.

zudo. Dado que el oxidante siempre reacciona con un razonable exceso de yoduro, generalmente el yoduro de potasio, la posterior titulación del yodo liberado ocurre en presencia de ión yoduro.

Reacción de Titulación



Reacción de titulación del peróxido de benzilo



## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El problema que se plantea en el laboratorio de Control de Calidad es contar con métodos analíticos apropiados para cada tipo de principio activo en sus diferentes formas farmacéuticas, los cuales aseguren de manera confiable la calidad y eficacia del principio activo.

Por lo que el presente estudio se realiza para establecer si el método analítico empleado en la cuantificación de peróxido de benzoflona como materia prima reportado en la USP XXI, cumple con los requisitos mínimos de validación (linealidad, especificidad, exactitud, y precisión). Para ser empleado como método de rutina, para la forma farmacéutica gel.

### III. OBJETIVO

Validar el método yodométrico, reportado en la USP XXI empleado en el análisis de control de calidad del peróxido de benzoflona como materia prima, como método de cuantificación en la forma farmacéutica-gel, y poder emplearlo como método de rutina en el laboratorio de control de calidad.

#### IV. HIPOTESIS

Si las propiedades fisicoquímicas de los excipientes empleados en la forma farmacéutica no interfieren en la cuantificación, por el método yodométrico del peróxido de benzofilo y además, el coeficiente de correlación es mayor o igual a 0.99, la ordenada al origen igual a cero, la pendiente es igual a uno, y el coeficiente de variación es menor o igual a 2%, entonces el método es lineal, preciso, exacto y específico, por lo tanto puede ser empleado como método de rutina en el laboratorio.

V. PARTE EXPERIMENTAL

A. MATERIAL Y EQUIPO

<u>1. Material</u>	<u>Descripción</u>
- Barras de agitación . . . . .	1 pulgada
- Vasos de precipitado . . . . .	diferentes capacidades
- Matraces yodométricos . . . . .	250 ml
- Bureta . . . . .	50 ml
- Pipeta graduada . . . . .	5 ml
- Probeta . . . . .	50 ml
- Espátula de acero inoxidable	
- Soporte universal	
- Pinzas para bureta	
- Papel aluminio	
<u>2. Sustancias</u>	<u>Descripción</u>
- Peróxido de benzoflo . . . . .	Estractos y Químicos (G.F)
- 2,2',2''-Nitrilotrietanol . . . . .	Laukarlog de México (G.F)
- Carbomer . . . . .	Industrias Baldiui (G.F)
- p-Hidróxibenzoato de metilo . . . . .	Laukarlog de México (G.F)
- p-Hidróxibenzoato de propilo . . . . .	Laukarlog de México (G.F)

<u>2. Sustancias (continuación)</u>	<u>Descripción</u>
- Agua . . . . .	Destilada
- Acetona . . . . .	Baker Analysed (G.R)
- Yoduro de potasio . . . . .	Merck (G.R)
- Tiosulfato de sodio 0.1 N . . . . .	Merck (G.R)

<u>3. Equipo</u>	<u>Descripción</u>
- Balanza analítica . . . . .	Unimatic -30100
- Agitador magnético . . . . .	Pc - 353

B. PROCEDIMIENTO

1. Preparación del Placebo. Se dispersó el viscosante en agua, se adicionaron los conservadores, se agitó hasta que se dispersaron uniformemente, y se adicionó la trietanol amina agitando constantemente.

2. Determinación de la Especificidad.

a. Placebo.

1). En cada uno de dos vasos de precipitado se pesaron 10 g de -

placebo, y 20 g de placebo respectivamente.

- 2). Con la ayuda de 30 ml de acetona se pasaron a un matraz yodo métrico de 250 ml, y se agitó hasta la disolución.
- 3). Se adicionó 5 ml de solución (1:5) de yoduro de potasio, se mezcló, y se lavaron las paredes del matraz con algunos mililitros de acetona.
- 4). Se dejó reposar la solución durante un minuto.
- 5). Se observó la respuesta entre el placebo y el yoduro de potasio.

a. Estándar.

- 1). En un matraz yodométrico de 250 ml se colocaron 499.7 mg de peróxido de benzofilo exactamente pesados.
- 2). Se adicionaron 30 ml de acetona y se agitó hasta disolución.
- 3). Después se procedió como está indicado en el paso 3 y 4 del inciso a y se tituló la solución con tiosulfato de sodio 0.1 N, hasta el punto final en el cual la solución fue incolora.

c. Placebo Cargado.

- 1). En un matraz yodométrico de 250 ml se colocaron 499.9 mg de peróxido de benzoflo exactamente pesados, y 9.5 gramos de gel placebo.
- 2). Después se procedió como está indicado en el paso 2 y 3 de la determinación del estándar.

3. Determinación de la precisión.

a. Repetibilidad. La evaluación de repetibilidad se realizó llevando a cabo 15 determinaciones con placebos cargados, los cuales contenían aproximadamente 0.6293 g de peróxido de benzoflo exactamente pesados.

b. Reproducibilidad. Se evaluó por dos analistas, en dos días diferentes, realizando 5 determinaciones por día por analista, empleando placebos cargados que contenían aproximadamente el 100% de peróxido de benzoflo (0.6293 g) exactamente pesados.

4. Linealidad. La linealidad se determinó con 5 niveles de concentración (80, 90, 100, 110 y 120%), de peróxido de benzoflo.

5. Exactitud. La exactitud se evaluó con las mismas determinaciones de la linealidad.

6. Sensibilidad. Se determinó con placebos cargados, disminuyendo inicialmente un 50% de el peróxido de benzoflo indicado en la monografía, después se fueron disminuyendo gradualmente el 10% de concentración del peróxido de benzoflo.

VI. RESULTADOS

A. ESPECIFICIDAD

Muestra	Respuesta
Placebo . . . . .	No da respuesta
Estándar . . . . .	Da respuesta
0.4997 g	77.79%
Placebo cargado . . . . .	Da respuesta
Placebo +	77.51%
0.4999 g de peróxido de benzoflo	

B. PRECISION (repetibilidad)

Para conocer la precisión (repetibilidad) del método se efectuó la evaluación estadística del mismo con los resultados obtenidos de 15 determinaciones. Los resultados se presentan en la Tabla siguiente:

Tabla # I. Repetibilidad del método yodométrico para el ensayo de peróxido de benzilo en gel.

g Adicionados ( X )	g Recuperados	% de Recobro ( Y )
0.6311	0.6391	101.27
0.6303	0.6359	100.90
0.6300	0.6354	100.87
0.6282	0.6370	101.41
0.6305	0.6351	100.73
0.6305	0.6357	100.83
0.6306	0.6326	100.33
0.6284	0.6276	99.88
0.6391	0.6414	100.37
0.6366	0.6455	101.40
0.6296	0.6340	100.70
0.6366	0.6332	99.48
0.6371	0.6291	98.76
0.6319	0.6267	99.18
0.6382	0.6332	99.23

$$\Sigma Y = 1506.34$$

$$\bar{Y} = 100.4226$$

$$\Sigma Y^2 = 151281.81$$

$$\sigma = 0.9152$$

$$S = 0.9477$$

$$S^2 = 0.8982$$

Nivel de significancia ( $\alpha$ ) = 0.05

$$H_0 \sigma \leq 2\%$$

$$H_1 \sigma > 2\%$$

$$X_{cal}^2 = 3.1437$$

$$X_{1-\alpha/2, \nu_1}^2 = 26.119$$

$$X_{\alpha/2, \nu_1}^2 = 5.629$$

Area de aceptación

$$3.1437 < 26.119$$

Intervalo de Confianza

$$0.6938 < \sigma < 1.4946$$

$$CV = 0.888\%$$

C. EXACTITUD

La exactitud del método se evaluó con los resultados obtenidos de 5 determinaciones para cada nivel de concentración administrado a el gel placebo, los resultados se presentan en la Tabla # II.

Tabla II. Exactitud del método yodométrico para el ensayo de peróxido de benzoflo en gel.

g Adicionados ( X )	g Recuperados	% de Recobro ( Y )
0.5040	0.5059	100.38
0.4991	0.4950	99.18
0.4965	0.4996	100.64
0.4996	0.5027	100.64
0.5005	0.4981	99.53
0.5498	0.5448	99.10
0.5498	0.5518	100.37
0.5569	0.5538	99.45
0.5489	0.5440	99.12
0.5488	0.5424	98.85
0.6288	0.6273	99.77
0.6296	0.6195	98.40
0.6307	0.6273	99.47
0.6289	0.6257	99.50
0.6304	0.6273	99.51

Continuación de la Tabla # II.

g Adicionados ( X )	g Recuperados	% de Recobro ( Y )
0.6936	0.6950	100.21
0.6927	0.6902	100.65
0.6906	0.6786	98.29
0.6939	0.6875	99.08
0.6943	0.6890	99.25
0.7621	0.7553	99.12
0.7557	0.7603	100.62
0.7559	0.7667	101.43
0.7561	0.7588	100.36
0.7557	0.7627	100.93

$$\Sigma Y = 249.85$$

$$\bar{Y} = 99.714$$

$$S = 0.79605$$

$$\Sigma Y^2 = 248587.23$$

$$\Sigma (Y_i - \bar{Y})^2 = 15.2087$$

$$H_0 \mu = 100\%$$

$$\alpha = 0.05$$

$$H_1 \mu = 100\%$$

$$t_{cal} = -1.7963$$

$$t_{tab(0.975)} = \pm 2.0639$$

Area de Aceptación

$$-2.0639 < -1.7963 < 2.0639$$

Intervalo de Confianza

$$99.3854 < \bar{Y} < 100.04259$$

$$CV = 0.7976$$

El método es exacto, ya que  $t_{cal} < t_{1-\alpha/2} \cdot \sqrt{1}$ , y el coeficiente de variación es menor del 2%.

D. LINEALIDAD

Con el objeto de conocer si el método yodométrico sigue una relación lineal, diferentes cantidades conocidas de peróxido de benzoflo se adicionaron a una misma cantidad de gel placebo 80, 90, 100, 110 y 120% de la cantidad etiquetada (5%), realizando 5 determinaciones para cada nivel de concentración. Los resultados se muestran en la Tabla # III.

Tabla # III. Linealidad del método para el ensayo de peróxido de benzoflo en gel.

% Adicionado	g Adicionados	g Recuperados	% de Recobro
	( X )	( Y )	( Z )
80.00	0.5040	0.5059	100.38
	0.4991	0.4950	99.18
	0.4965	0.4996	100.64
	0.4996	0.5027	100.64
	0.5005	0.4981	99.53
90.00	0.5498	0.5448	99.10
	0.5498	0.5518	100.37
	0.5569	0.5538	99.45

Continuación de la Tabla # III.

% Adicionado	g Adicionados	g Recuperados	% de Recobro
	( X )	( Y )	( Z )
90.00	0.5489	0.5440	99.12
	0.5488	0.5424	98.85
100.00	0.6288	0.6273	99.77
	0.6296	0.6195	98.40
	0.6307	0.6273	99.47
	0.6289	0.6257	99.50
	0.6304	0.6273	99.51
110.00	0.6936	0.6950	100.21
	0.6927	0.6902	99.65
	0.6905	0.6786	98.29
	0.6939	0.6875	99.08
	0.6943	0.6890	99.25
	0.7621	0.7553	99.12
120.00	0.7557	0.7603	100.62
	0.7559	0.7667	101.43
	0.7561	0.7588	100.36
	0.7557	0.7627	100.93

$$\begin{aligned} S_X^2 &= 0.0090 & S_X &= 0.0949 & \Sigma(X_i - \bar{X})^2 &= 0.2162 \\ \Sigma XY &= 9.9911 & \Sigma X &= 15.6528 & \bar{X} &= 0.626112 \\ \Sigma X^2 &= 10.0166 & (\Sigma X)^2 &= 245.01014 & \Sigma Y &= 15.6093 \\ \Sigma Y^2 &= 9.9664 & \Sigma &= 99.714 & (\Sigma Y)^2 &= 243.65 \\ B &= 1.0080 & A &= -0.00676 & S_{Y/X} &= 0.00596 \end{aligned}$$

$$\hat{S}_{Y/X} = 0.00621$$

Inferencia para la ordenada al origen  $A_0$

$$H_0 \quad A_0 = 0$$

$$\alpha = 0.05$$

$$g.1 = n-2$$

$$H_1 \quad A_0 \neq 0$$

$$t_{cal} = -0.8$$

$$t_{0.975, 23} = \pm 2.0687$$

Area de Aceptación

$$-2.0687 < -0.8 < 2.687$$

Nuestro método posee una ordenada al origen que podemos con  
siderar igual a cero.

Intervalo de Confianza

$$-0.0242 < -0.00676 < 0.01072$$

Inferencia para 1 pendiente  $B_0$

$$H_0 \quad B_0 = 1$$

$$\alpha = 0.05 \quad t_{0.975, 23} = 2.0687$$

$$H_1 \quad B_0 \neq 1$$

$$t_{cal} = 0.5989$$

Area de Aceptación

$$-2.0687 < 0.5989 < 2.0687$$

Nuestro método posee una pendiente que podemos considerar igual a uno.

Intervalo de Confianza

$$0.9803 < 1.0080 < 2.0687$$

$$R^2 = 0.9967$$

$$R = 0.9983$$

$$CV = 0.7976\%$$

Recta de Validación

$$Y = BX + A + E_{(i)}$$

$$E_{(i)} = -0.00022$$

$$Y = 1.008X - 0.00676$$

La linealidad del método yodométrico se evaluó mediante la -  
Tabla de análisis de varianza siguiente:

$$Y_i = A + BX + E_i$$

$$H_0 \quad B = 0$$

$$\alpha = 0.05$$

$$H_1 \quad B \neq 0$$

ANADEVA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F de Cálculo	F de Tabla
Regresión	2-1 = 1	0.2196734	0.21967	7040.81	4.28
Error Regresión	25-2 =23	0.0007186	0.0000312		
Falta Ajuste	$\frac{23 - 20}{3}$	0.00029637	$9.879 \times 10^{-5}$	4.4681	3.10
Error Puro	$\frac{(5-1)}{=20}$	0.0004222	$2.11 \times 10^{-5}$		
Total	25-1=4	0.220392			

7040.81 > 4.28 Por lo tanto hay efecto por la pendiente.

H<sub>0</sub> No falta Ajuste

$$\alpha = 0.05$$

H<sub>1</sub> Falta Ajuste

4.4681 > 3.10 Por lo tanto hay falta de ajuste.

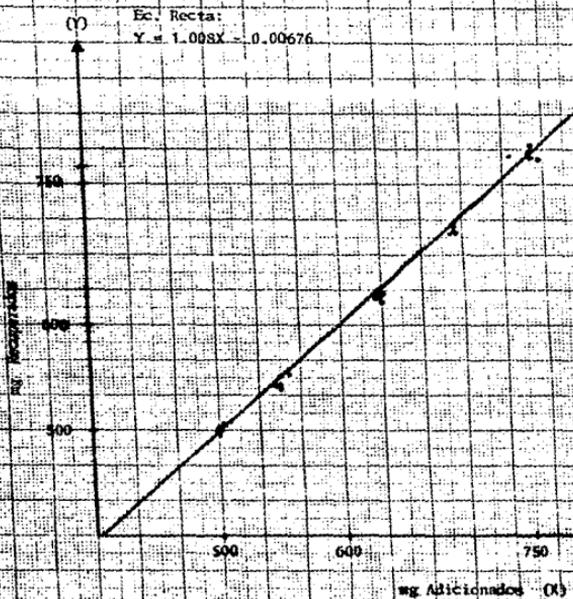


Figura # 1. Linealidad del método yodométrico para gel placebo conteniendo peróxido de benzofilo. (cinco determinaciones por nivel de concentración).

E. REPRODUCIBILIDAD

La evaluación de reproducibilidad del método se efectuó por dos analistas en dos días diferentes, llevando a cabo 5 determinaciones por día por analista. La Tabla # IV muestra los resultados de los porcentajes de recobro obtenidos.

Tabla # IV. Reproducibilidad del método yodométrico para el ensayo de peróxido de benzoflo en gel.

	Día <sub>1</sub>	Día <sub>2</sub>	
	% de Recobro	% de Recobro	
Analista 1	100.06	100.68	1002.57
	99.42	100.67	
	99.30	100.68	
	99.42	100.67	
	<u>100.83</u>	<u>100.84</u>	
	<u>499.03</u>	<u>503.54</u>	
Analista 2	101.24	101.04	1004.62
	101.59	100.99	
	98.07	100.64	
	99.22	99.34	
	<u>101.75</u>	<u>100.74</u>	
	<u>501.87</u>	<u>502.75</u>	<u>1007.64</u>
	<u>1000.90</u>	<u>1006.29</u>	

$$\Sigma Y = 2007.19$$

$$\Sigma Y^2 = 201457.25$$

$$\bar{Y} = 100.3595$$

$$\frac{\Sigma Y_i^2}{bc} = \frac{(1002.57)^2 + (1004.62)^2}{2(5)} = 201440.79$$

$$\frac{\Sigma Y_{j..}^2}{ac} = \frac{(1000.90)^2 + (1006.29)^2}{2(5)} = 201442.03$$

$$\frac{Y^2}{abc} = \frac{(2007.19)^2}{2(2)(5)} = 201440.58$$

$$\frac{\Sigma Y_{ij}^2}{e} = \frac{(499.03)^2 + (503.54)^2 + (501.87)^2 + (502.75)^2}{5} = 201442.90$$

$$\Sigma Y_{ijk}^2 = (100.06)^2 + (99.42)^2 + \dots + (99.34)^2 = 201457.25$$

$$\frac{\Sigma Y_i^2}{bc} - \frac{Y^2}{abc} = 0.21$$

$$\frac{\Sigma Y_{j..}^2}{ac} - \frac{Y^2}{abc} = 1.45$$

$$\frac{\Sigma Y_{ij}^2}{c} - \frac{\Sigma Y_i^2}{bc} = 1.11$$

$$\Sigma Y_{ijk}^2 - \frac{\Sigma Y_{ij}^2}{c} = 14.35$$

$$MC_A/MC_E = 0.2341$$

$$MC_D/MC_E = 0.6188$$

$$CV = 0.9332$$

Para evaluar estadísticamente la reproducibilidad del método y o doméstico empleado en el ensayo de peróxido de benzofl en gel, se utilizó la tabla de análisis de varianza ANADEV A.

ANADEV A

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F de Cálculo	F de Tablas
Analista A <sub>1</sub>	2-1 = 1	0.21	0.21	0.3783	4.49
D <sub>f</sub> D <sub>j(i)</sub>	(2-1)2=2	1.11	0.555	0.6188	3.63
Error Experimental E <sub>k(ij)</sub>	(2)(2) (5-1)=16	14.35	0.8968		

$$F_{cal_A} < F_{tab_A}$$

$$F_{cal_D} < F_{tab_D}$$

Por lo tanto se concluye que el método es reproducible (no existe efecto por analista ni por d<sub>f</sub>).

F. SENSIBILIDAD

Para conocer la sensibilidad del método se adicionaron cantidades conocidas de peróxido de benzoflo, las cuales se fueron disminuyendo en cada determinación. En la Tabla # V se presentan los resultados.

Tabla # V. Sensibilidad del método yodométrico.

g Adicionados ( X )	g Recuperados ( Y )	% de Recobro ( Z )
0.4996	0.5027	100.64
0.2494	0.2529	101.43
0.2256	0.2280	101.09
0.2046	0.2052	100.32
0.1808	0.1808	100.01
0.1661	0.1661	100.03
0.1463	0.1463	100.21
0.1338	0.1335	99.83
0.1259	0.1253	99.53
0.1189	0.1172	98.64
0.1072	0.1058	98.77
0.0963	0.0961	99.80
0.0865	0.0863	99.81
0.0630	0.0635	100.84
0.0587	0.586	99.90
0.0500	0.0482	96.51
0.0247	0.0244	98.88
0.0109	0.0108	99.97

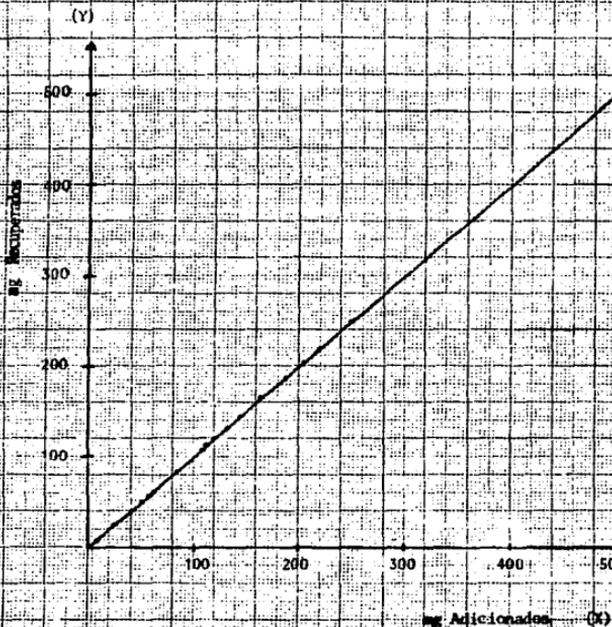


Figura # 2. Sensibilidad del método yodométrico para gel de peróxido de benzilo.

## VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados muestran que el método es específico ya que no existe interferencia de los excipientes de el gel en el ensayo de la cuantificación de peróxido de benzoilo. Para la evaluación de la precisión (repetibilidad) del método se obtuvo un CV de 0.888%, y cumple con el criterio de precisión del método.

El método es reproducible, ya que el análisis estadístico mostró que no existe efecto por día ni por analista.

Para la exactitud del método el CV = 0.7976%, y el intervalo de confianza incluye el 100%, lo cual indica que el método es exacto.

En la determinación de linealidad se encontró que el método tiene una ordenada al origen de -0.00676, pendiente de 1.008, las cuales pueden ser consideradas estadísticamente igual a cero y uno respectivamente,  $r^2 = 0.9967$  y el CV de 0.7976%, bajo estos criterios los cuales establece la legislación sanitaria el método es lineal. Y la recta de validación es:  $Y = 1.008X - 0.00676$ . Pero bajo un análisis estadístico más estricto utilizando la Tabla de análisis de varianza, se puede observar, que el modelo de regresión lineal propuesto no explica adecuadamente el comportamiento de los datos experimentales.

tales, ya que se observa una falta de ajuste.

Por medio de este método se cuantificó hasta un 2% de peróxido de benzoflo respecto al etiquetado (5%). Porque si se continúa - disminuyendo la cantidad de peróxido de benzoflo, el error en la cuantificación de éste cada vez es mayor debido a que el volumen de tio - sulfato de sodio requerido para la titulación del yodo liberado cada vez es menor. Y a menor cantidad mayor es el error.

### VIII. CONCLUSION

El método yodométrico empleado en la cuantificación de peróxido de benzoflo en la forma farmacéutica gel requiere aproximadamente 15 minutos para realizar el ensayo. Por lo que se considera que es un método rápido, y económico ya que el costo tanto de reactivos y equipo empleados es bajo.

Considerando los resultados obtenidos podemos concluir que este método yodométrico empleado en el ensayo de peróxido de benzoflo en la forma farmacéutica gel, es específico, exacto, preciso, lineal, reproducible y práctico, ya que cada uno de estos parámetros cumplen con los criterios de los requisitos mínimos de validación. Por lo tanto puede ser empleado como método de rutina en el laboratorio, bajo las mismas condiciones de trabajo empleadas en la validación del método.

## IX. PROPUESTA

Se requiere buscar el modelo de regresión que mejor se ajuste a los datos experimentales obtenidos, el cual puede ser un modelo exponencial o de regresión lineal múltiple, tratando de que el modelo elegido sea el más adecuado para explicar los datos experimentales. Aunque podría ser que el modelo que mejor se ajuste a los datos sea el descrito (regresión lineal simple) en el análisis empleado.

APENDICE I

PROPIEDADES DE LOS EXCIPIENTES

Carbomer

- Descripción: Polvo blanco, altamente iónico y ligeramente ácido.
- Reactividad: Reacciona con aminas grasas para formar emulsiones densas y estables de aceite en agua. Forma geles claros en vehículos acuosos y no acuosos.
- Incompatibilidad: Es compatible en gel con benzocaina, ácido benzóico, clorotetraciclina, cristal violeta, ácido salicílico, sulfatiazol y sulfuro, pero es incompatible con fenoles y se decolora con resorcinol.
- Cloruro de benzalconio, hidróxibenzoatos de metilo y propilo, fenol y acetato de fenil mercúrico, en concentraciones comúnmente empleadas como conservadores, no provocan cambios significativos en soluciones. Pero el ácido benzóico y el benzoato

de sodio causan un cambio significativo en la viscosidad o un precipitado.

2,2',2''-Nitrilotrietanol.

Descripción: Líquido viscoso, muy higroscópico, olor ligeramente amoniacal. Se torna café cuando se expone al aire y la luz.

Solubilidad: Miscible con agua, metanol, acetona; a 25°C 4.2% soluble en benceno, 1.6% en éter, 0.4% en tetracloruro de carbono, y 0.1% en n-heptano.

Punto de fusión: 21.75°C.

Punto de ebullición: 335.4°C.

Viscosidad: A 60°C ; 65.7 Cps, a 25°C ; 590.5 Cps.

pH: Base fuerte; el pH de una solución acuosa 0.1 N es igual a 10.5

Usos: Intermediario en la manufactura de agentes activos surfactantes, hervicidas. En emulsiones con-

aceites mineral y vegetal, parafinas y ceras. -  
Solventes para caseina, laca; incrementa la pene-  
tración de líquidos orgánicos en la madera y pa-  
pel; agentes alcalinizante en la industria farma-  
céutica.

Efectos Tóxicos: Puede ser irritante para la piel y membranas mucos.  
sas.

p-Hidróxibenzoato de Metilo

Descripción: Agujas blancas.

Punto de fusión: 131°C

Punto de ebullición: 270 - 280°C

Solubilidad: 1 g se disuelve en 40 ml de agua, en 40 ml de -  
aceite caliente, en cerca de 70 ml de glicerol -  
caliente, libremente soluble en alcohol, acetona-  
y éter.

Incompatibilidad: Incompatible con alcalis y sales de hierro.

Usos: Como conservador en alimentos, bebidas y cosméticos.

Efectos tóxicos: Soluciones diluidas de hidróxibenzoatos pueden causar irritación y dolor cuando se aplican en los ojos.

p-Hidróxibenzoato de propilo

Descripción: Cristales, o polvo cristalino blanco, insípido inodoro o con un olor débilmente aromático.

Punto de fusión: 95 - 98°C.

Solubilidad: Soluble en 2000 partes de agua, libremente soluble en alcohol y éter, ligeramente soluble en agua hirviente.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

APENDICE II

FORMULAS

Precisión (repetibilidad)

$$X_{\text{cal}}^2 = \frac{n-1 (S)^2}{\sigma^2}$$

Area de Aceptación

$$X_{\text{cal}}^2 < X_{\text{tab}}^2$$

Intervalo de Confianza

$$\sqrt{\frac{(n-1) S^2}{X_{1-\alpha/2}^2}} < \sigma < \sqrt{\frac{(n-1) S^2}{X_{\alpha/2}^2}}$$

$$CV = \frac{\left[ \frac{n(\sum Y^2) - (\sum Y)^2}{n(n-1)} \right]^{1/2}}{\bar{Y}} \cdot 100$$

Exactitud

$$t_{\text{cal}} = \frac{\bar{Y} - \mu}{S/\sqrt{n}}$$

Area de Aceptación

$$t_{\text{cal}} < t_{\text{tab}}$$

**Intervalo de Confianza**

$$\bar{X} + t_{\alpha/2} * S/\sqrt{n} < \bar{X} < t_{1-\alpha/2} * S/\sqrt{n} + \bar{X}$$

Linealidad

B = Pendiente

$$B = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}$$

A = Ordenada al origen

$$A = \frac{(\sum Y)(\sum X^2) - (\sum X)(\sum XY)}{n\sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$S_{Y/X} = \sqrt{\frac{\sum Y^2 - A (\sum Y) - B (\sum XY)}{n}}$$

$$\hat{S}_{Y/X} = \sqrt{\frac{n}{n-2}} \cdot S_{Y/X}$$

Formulas para la ordenada al origen

$$t_{cal} = \frac{A - A_0}{\hat{S}_{Y/X} \sqrt{\frac{\sum X^2}{n (\sum (X_i - \bar{X})^2)}}$$

Area de Aceptación

$$t_{\alpha/2} \leq t_{cal} < t_{1-\alpha/2}$$

Intervalo de Confianza

$$A + t_{\alpha/2} \cdot \hat{S}_{Y/X} \sqrt{\frac{\sum X^2}{n \sum (X_i - \bar{X})^2}} < A < A + t_{1-\alpha/2} \cdot \hat{S}_{Y/X} \sqrt{\frac{\sum X^2}{n \sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

### Fórmulas para la Pendiente

$$t_{\text{cal}} = \frac{(b - b_0) S_x \sqrt{n-1}}{\hat{S}_{Y/X}}$$

### Area de Aceptación

$$t_{\alpha/2} < t_{\text{cal}} < t_{1-\alpha/2}$$

### Intervalo de Confianza

$$B + t_{\alpha/2} * \frac{\hat{S}_{Y/X}}{S_x \sqrt{n-1}} < B < B + t_{1-\alpha/2} * \frac{\hat{S}_{Y/X}}{S_x \sqrt{n-1}}$$

$$R^2 = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{[n(\sum X^2) - (\sum X)^2][n(\sum Y^2) - (\sum Y)^2]}$$

### Recta de Validación

$$Y = BX + A + E_{(i)}$$

$E_{(i)}$  = Error Experimental

$$E_{(i)} = \Sigma (Y_i - \hat{Y})$$

$$\hat{Y} = BX_{\text{exp.}} + A$$

BIBLIOGRAFIA

1. Anisfeld Michael H., "Quality Assurance for Small Volume Parenterals", Pharmaceutical Engineering, 8 (6), 31-33 (1988).
2. Baird Robert, "Validation of Dry Heat Tunnels and Ovens", Pharmaceutical Engineering, 8 (2), 31-33 (1988).
3. Cattaneo Donald J., "Plant Validation Acceptance Criteria", Pharmaceutical Engineering, 8 (4), 9-11 (1988).
4. Cemell Pons José, La Validación: Una filosofía y un sistema, Conferencia pronunciada en las VI Jornadas Nacionales de la AEFI, Pamplona 20-22 de junio 1985, pág. 220-226.
5. Comité de elaboración de Guías Oficiales de Validación, Requisitos Mínimos para la Validación de Métodos Analíticos.
6. Dick J.G., Química Analítica, Editorial el Manual Moderno, México 11, D.F., 379, 413-417, (1979).

7. Finkelson Martin J., "Validation of Analytical Methods by FDA Laboratories", Pharmaceutical Technology, March, 75-78, (1986).
8. Food Chemical Codex, Second Edition, National Academy of Sciences Washington, D.C., 82 - 83 (1972).
9. Goodman L.S., Gilman A., Bases Farmacológicas de la Terapéutica, Quinta Edición, Editorial Interamericana, México - co, 835 (1978).
10. Guerra Johny, "Validation of Analytical Methods by FDA Laboratories", Pharmaceutical Technology, March, 84, 74 - 76 (1986).
11. Huerta Camacho Filiberto, "Desarrollo Analítico para cuantificar sulfato de Salbutamol en Tabletas por - Intercambio Iónico", Tesis, U.N.A.M., E.N.E.P. \*Zaragoza", México, D.F., 1984.
12. Juárez Rubí Raúl, "Validación de un Método Analítico para Concentrado de Cobre", Tesis, U.N.A.M. E.N.E.P. \*Zaragoza", México, D.F., 1986.

13. Martindale, The Extra Pharmacopeia, Twenty-Sixth Edition, London the Pharmaceutical press, printed in Great Britain, 1448 (1972).
14. IMA'S Deionized Water Comitee, "Validation and Control Concepts for Water Treatment Systems", Pharmaceutical Technology, November, 50 - 54 (1985).
15. IMA'S Validation Advisory Committee, "Process Validation Concepts for Drug Products", Pharmaceutical Technology, September 78 - 82 (1985).
16. Ralston A.H. and Recigliano J.V., "Planning for comming and Validation" of Pharmaceuical Engineering 8 (4),
17. Taylor John K., "Validation of Analytical Methods", Analytical Chemistry, 55 (6) 600A-600A (1983).
18. The Index Merck, Ninth Edition, Published by Merck Co., U.S.A., 796, 1018, 1126 (1982).
19. USP XII, The United States Pharmacopeia, 100-101 (1982).
20. Vanderwelen, A.J. and Hardwedge, E.A., "Guidelines for Assay Validation", Pharmaceutical Technology, 3, 66-76 (1982).