

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

ZARAGOZA



IMPLEMENTACION Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE ACETAMINOFEN EN SUPOSITARIOS PARA PRODUCTO TERMINADO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Químico Farmacéutico Biólogo
P R E S E N T A
ALEJANDRO MENDOZA CONTRERAS
MEXICO, D. F. 1989

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

2.4	Supositorios.....	14
2.4.1	Liberación y absorción del fármaco.....	14
3.	Planteamiento del problema.....	15
4.	Objetivos.....	17
5.	Hipótesis.....	18
6.	Material y método.....	19
6.1	Materiales.....	19
6.2	Reactivos.....	19
6.3	Equipo.....	19
6.4	Metodología general.....	19
6.4.1	Linealidad del sistema.....	21
6.4.2	Precisión del sistema.....	23
6.4.3	Especificidad frente a excipientes.....	23
6.4.4	Linealidad del método.....	24
6.4.5	Exactitud del método.....	25
6.4.6	Precisión del método.....	25
6.4.7	Estabilidad de la muestra.....	25
7.	Resultados.....	27
7.1	Linealidad del sistema.....	27
7.2	Precisión del sistema.....	32
7.3	Especificidad frente a excipientes.....	34
7.4	Linealidad del método.....	36
7.5	Exactitud del método.....	41
7.6	Precisión del método.....	43
7.7	Estabilidad de la muestra.....	45
8.	Discusión de resultados.....	47
9.	Conclusiones.....	49

10. Anexo.....	50
11. Bibliografia.....	53

1. INTRODUCCION

En la actualidad debido al gran avance científico y tecnológico y la introducción de nuevos productos al mercado se requiere del desarrollo de técnicas analíticas para controlar dichos productos, ya que para que un fármaco tenga eficacia terapéutica se debe encontrar en la cantidad adecuada.

Los métodos oficiales descritos por las Farmacopeas para valorar acetaminofén, son aplicables para materia prima y algunas formas farmacéuticas, excepto para supositorios, por lo que se propuso la implementación de un método analítico -- que pueda ser aplicado en este caso.

Al mismo tiempo, mediante el trabajo experimental realizado, se ha resuelto un problema dentro de unos Laboratorios-Farmacéuticos implementando y validando un método analítico - para cuantificar acetaminofén en supositorios para producto - terminado.

El método experimental se basa en la separación del acetaminofén de las masas novatas mediante una diferencia en la solubilidad de dichas sustancias porque el acetaminofén se - solubiliza en agua y las masas novatas no, debido a esto, el acetaminofén podrá entonces ser cuantificado por espectrofotometría. Para poder conocer la cantidad de principio activo - en los supositorios se usa un estándar en cada determinación.

De acuerdo con los nuevos lineamientos de la Ley General de Salud, dicho método analítico debe validarse para poder asegurar que los resultados son confiables al momento de tener un producto final con una calidad requerida para el consumo humano.

2. FUNDAMENTACION DEL TEMA

En los últimos años, los procesos de fabricación y control de medicamentos han evolucionado de acuerdo a las nuevas tecnologías implementadas por los países más avanzados. A -- partir de 1976 la Food and Drug Administration (FDA) a través de las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) incluyó por primera vez el término validación como uno de sus principales objetivos y donde se asegura que un método o proceso proporciona de forma reproducible un producto (1,2).

Debido al desarrollo tecnológico actual, y a la necesidad de un control de medicamentos más riguroso en nuestro --- País, la validación es ahora un requisito sanitario publicado en el Diario Oficial de la Federación el 18 de enero de 1988 (3) y por esto la Secretaría de Salud ha tomado la iniciativa al pedir a los laboratorios fabricantes de medicamentos que - tanto sus procesos de fabricación como los métodos de control sean validados, para que de esta manera se tenga un medicamento seguro en todo aquello que pueda afectarlo en su fabrica--ción, además de ser eficaz en cuanto a su acción terapéutica.

Así la calidad de los medicamentos fabricados será la - adecuada, porque a partir de sus propiedades físicas, químicas y biológicas se establecerán sus especificaciones y tolerancias para asegurarse de que el producto final está de a--- acuerdo al diseño establecido.

2.1 Validación

2.1.1 definición. La validación de un método analítico es el proceso mediante el cual se comprueba y certifica la aceptabilidad de dicha metodología para dar resultados analíticos confiables y reproducibles.

Para validar un método analítico se usan muestras de referencia y placebos cargados para determinar la exactitud de ensayos producidos, donde el placebo cargado es la mezcla de excipientes, junto con la cantidad exacta del principio activo (2,4,5).

Los pasos que se llevan a cabo para realizar una validación para producto terminado son (6,7):

1. Linealidad del sistema.
2. Precisión del sistema.
3. Especificidad frente a excipientes.
4. Linealidad del método.
5. Exactitud del método.
6. Precisión del método.
7. Estabilidad de la muestra.

2.1.2 Linealidad del sistema. Es la relación entre una recta y una propiedad física, química o biológica y una cierta cantidad de fármaco. El criterio a seguir para la linealidad del sistema es:

DER	$\leq 0.7\%$
r =	1
m =	1
b =	0

El Método será lineal si cumple satisfactoriamente con lo anterior (7,8).

2.1.3 Precisión del sistema. Se establece que un sistema es - preciso si la desviación estándar es igual o menor al 2% (7,8).

2.1.4 Especificidad frente a excipientes. Es la verificación de la capacidad que tiene el método analítico para cuantifi-- car al principio activo sin que interfieran otros componentes de la muestra, por lo que es necesario analizar placebos del producto con el método propuesto e identificar las respuestas del (los) activos, excipientes y de otras sustancias auxiliares.

El criterio para la interferencia de excipientes es con firmando que el método analítico implementado sea capaz de se parar la sustancia de interés de cualquier interferencia presente. De no ser así, se recomienda optimizar el método o de sarrollar otro (7,8).

2.1.5 Linealidad del método. Es la relación que se establece mediante una recta entre una propiedad medible (cantidad de fármaco recuperado) y el valor real de la propiedad (cantidad de fármaco adicionado).

Quando se lleva a cabo una validación de un método analítico, es necesario checar que los resultados se relacionen linealmente a diferentes concentraciones. El criterio para seguir la linealidad del método es:

$$r \leq 0.99$$

$$m = 1$$

$$b = 0$$

El método será lineal si cumple satisfactoriamente con lo anterior (7,8).

2.1.6 Exactitud del método. Es la concordancia que existe entre el valor de una propiedad medida experimentalmente (estimador) y su valor real de referencia (Parámetro).

Dentro de este parámetro a evaluar, se trabaja con porcentajes de recuperación (7,8) y éstos se encuentran en función de la forma farmacéutica: (tabla 1)

FORMA FARMACEUTICA	% DE RECOBRO
Suspensiones	97-103%
Tabletas	98-102%
Soluciones	98-102%
Semisólidos	97-103%

TABLA No. 1 Porcentajes de recobro de diferentes formas farmacéuticas.

2.1.7 Precisión del método. Es la concordancia existente entre mediciones repetidas independientes, es decir, que estadísticamente se debe obtener el mismo resultado todas las veces -- que se realice la determinación de una cantidad constante, -- puede ser bajo las mismas condiciones (repetibilidad) o diferentes condiciones (reproducibilidad).

Dentro de éste parámetro, también se trabaja con porcentajes de recuperación (7,8).

2.1.8 Estabilidad de la muestra. Son las condiciones a establecer para que la muestra preparada mantenga constante su -- propiedad medible en un lapso de tiempo.

Al evaluar las muestras para su estabilidad, éstas son sometidas a diferentes condiciones de almacenamiento, las -- muestras deben ser analizadas antes de almacenarse y después de un tiempo determinado, dependiendo de las condiciones que se fijen para su operación (7,8).

2.2 Espectroscopía.

La espectroscopía es una técnica de gran ayuda al análisis químico porque detecta la presencia o ausencia de elementos o grupos funcionales, dando información de la estructura molecular de lo que se analiza (9).

2.2.1 Definición de Espectroscopía. Es la interacción entre -- una radiación electromagnética y una sustancia química.

Todos los átomos y moléculas absorben energía, depen--- diendo de su estructura. Cuando un átomo o molécula absorbe energía, pasa a un estado de mayor energía o estado de excita ción. A cada estado de excitación se le da un nivel de ener gía definido y éstos son característicos de cada estructura - molecular. En la figura No. 1 se muestran los niveles energé ticos para un átomo o molécula.

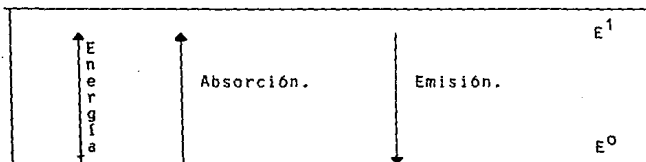


Figura No. 1 Niveles de energía de un átomo o molécula.

Cuando a un sistema se le proporciona energía (radiación electromagnética) pasa de un estado basal (E^0) a un estado -- excitado (E^1). Una vez en el estado excitado, las sustancias tienden a eliminar el exceso de energía absorbida mediante la transferencia de energía a otras sustancias a su entorno, o - también mediante la emisión de un fotón equivalente a la dife - rencia energética entre los dos niveles energéticos (E^0 y E^1). En el caso de los átomos siendo diferente el comportamiento - en el caso de las moléculas.

Es por eso que en las moléculas orgánicas es importante

la posición de las bandas que están en función de la energía-requerida para excitar una molécula (9,10,11,12).

2.2.2 Ley de Beer. Existen dos leyes en cuanto al cambio de -energía radiante de la luz monocromática al variar el camino-óptico de la muestra y la concentración de la misma.

La primera ley nos dice que al aumentar el espesor de la muestra absorbente, disminuye exponencialmente la cantidad de luz transmitida a través de ella.

La absorción de luz se encuentra definida por la ecuación 1.

$$A = -\log P/P_0 \quad (\text{ec. 1})$$

Donde: A = Absorbancia

P = radiación monocromática transmitida.

P₀ = radiación monocromática incidente.

La segunda ley nos dice que al aumentar la concentración de la solución, disminuye exponencialmente la energía luminosa transmitida (ecuación 2).

$$\ln (P/P_0) = -k c \quad (\text{ec. 2})$$

Donde K está relacionada con la intensidad de absorción y c es la concentración.

Mediante una combinación de las dos leyes se obtiene la ecuación de la ley de Lambert-Beer (ecuación 3).

$$A = kbc \quad (\text{ec. 3})$$

Donde A es la absorbancia de la muestra, k es la absorptividad de la muestra, b es el grosor de la muestra y c es la concentración de la especie química. (9,10,13).

2.2.3 Transiciones. La región del ultravioleta se encuentra entre la región visible y la de rayos X. De 100 a 200 nm se encuentra el ultravioleta lejano y de 200 a 350 nm aproximadamente está el ultravioleta cercano, en la primera región ocurren las transiciones de $\sigma \rightarrow \sigma^*$ y en la segunda región las transiciones de $\pi \rightarrow \pi^*$

2.2.4 Instrumental. Los espectrofotómetros se componen de los elementos de la figura No. 2.

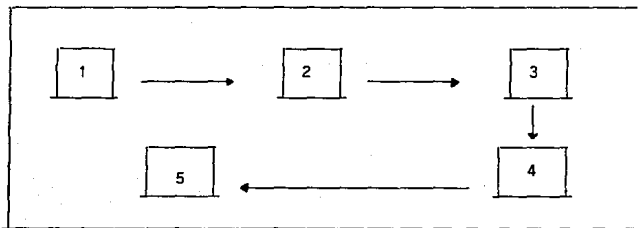


Figura No. 2 componentes de un espectrofotómetro.

1. Fuente de radiación. Si se trata de un espectrofotómetro de ultravioleta-visible, la fuente de radiación para la región visible es una lámpara de tungsteno, para la región de ultravioleta se usa una lámpara de descarga de hidrógeno.

2. **Monocromador.** Este dispositivo convierte la radiación policromática en una monocromática adecuada. - Los mecanismos para dispersar son los que controlan el carácter monocromático y pueden ser prismas o rejillas de dispersión.

3. **Area de muestra.** Las celdas que contienen la muestra deben ser transparentes a la radiación, por lo que generalmente se emplean celdas de vidrio y cuarzo, la primera no se puede usar en ultravioleta por que puede absorber radiación, mientras que la segunda si se usa en ultravioleta porque no absorbe.

4. **Detector.** Este dispositivo transforma la radiación transmitida en una señal eléctrica y es conocido como fototubo multiplicador.

5. **Medidor o registrador.** La señal enviada por el detector, aquí es graduada para obtener un dato de -- transmitancia o de absorbancia. También puede registrar el espectro de absorción sobre papel (9,13,15).

2.3 Acetaminofén.

2.4.1 Nombres químicos. N-(4-hidroxifenil) acetamida; 4-Hidroxiacetanilida; p-acetil aminofenol; paracetamol; p-hidroxiacetanilida, (16).

2.3.2 Fórmulas (condensada y desarrollada). $C_8 H_9 NO_2$

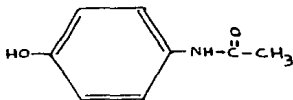


Figura No. 3 Estructura del acetaminofén.

2.3.3 Propiedades químicas y físicas. Cristales largos mono--
clínicos, p. f. 169-170.5°C. PM= 151.16. Muy ligeramente solu--
ble en agua fría, considerablemente más soluble en agua ca--
liente. Soluble en metanol, etanol, dimetilformamida, aceto--
na, acetato de etilo. Insoluble en éter de petróleo, penta--
no y benceno (16,17,18).

2.3.4 Farmacología del acetaminofén. El acetaminofén es un --
analgésico antipirético, es decir, no narcótico, al igual que
los demás analgésicos, alivia el dolor moderado, disminuye la
fiebre por efecto directo sobre el centro termorregulador, al
inhibir la acción del pirógeno endógeno sobre los centros ter--
morreguladores hipotalámicos. Es un gran inhibidor de la ---
prostaglandina sintetasa en el cerebro.

2.3.4.1 Absorción, distribución, biotransformación y excre---
ción del acetaminofén. El acetaminofén se absorbe casi por --
completo en el tubo digestivo y por el recto. La concentra---
ción plasmática alcanza el máximo de 30 a 60 minutos, con un--
tiempo de vida media de tres horas aproximadamente. El aceta

minofén se distribuye de manera uniforme en la mayor parte de los líquidos corporales.

Alrededor del 3% el acetaminofén se excreta sin modificación por la orina, el 80% por la orina después de conjugarse en el hígado, principalmente con ácido glucorónico.

2.3.4.2 Toxicidad. En dosis terapéuticas el acetaminofén puede tolerarse adecuadamente. El efecto perjudicial más grave de una sobredosis con acetaminofén es la necrosis hepática que depende de la dosis y puede ser mortal. En ocasiones también ocurren necrosis tubular renal y coma hipoglucémico.

2.3.4.3 Dosis, vía de administración y presentaciones. La dosis para el adulto varía de 325-650 mg cada 4 hs por vía oral y no debe de ser mayor a 2.6 g en 24 hs. No debe administrarse por más de diez días. La dosis en niños es: de 2-4 años, 160 mg; de 4-6 años, 240 mg; de 6-9 años, 320 mg; de 9-11 años 400 mg; de 11-12 años, 480 mg. Solo repetir cada 4 hs si es necesario.

El acetaminofén se encuentra generalmente en tabletas de 500 mg, cápsulas de 300 mg, frasco con gotero graduado para 60 mg, jarabe con 120 mg por cucharada de 5 ml y en supositorios de 300 mg. (19, 20, 21, 22, 23, 24).

2.4 Supositorios.

Los supositorios son formas medicamentosas sólidas, para ser insertadas en las cavidades naturales del organismo -- (recto, cavidad vaginal y tracto uretral) para intriducir uncierto fármaco. Después de la introducción, éstos funden y se disuelven en las secreciones de la cavidad. Una variedadde formas, y tamaños son usados en la actualidad. Los supositorios pueden variar en peso, dependiendo de la cantidad de fármaco incorporado en la base, (25, 26, 27).

2.4.1 Liberación y absorción del fármaco. Después de la aplicación del supositorio, se forma una emulsión entre el fluido rectal y parte del excipiente, provocando la liberación del principio activo.

Liberado el principio activo, se disuelve en el fluido-rectal y toma contacto con muchas zonas de absorción. La absorción rectal también depende del tamaño de partícula, del grado de ionización, la humedad rectal, la tensión superfi- cial, etc. (17, 25, 26, 27).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La cuantificación de acetaminofén puede realizarse conforme al método de Farmacopea (28, 29, 30) directamente al ultravioleta o hidrólisis, o por otros ensayos como puede ser -colorimétrico, polarográfico, gravimétrico, etc. (31). También en Farmacopea se encuentra su determinación en diversas formas farmacéuticas como tabletas, cápsulas y jarabe.

Actualmente los métodos reportados para cuantificar el acetaminofén en supositorios se basan en técnicas muy sofisticadas como la Cromatografía de Líquidos de Alta Presión (HPLC) (32) porque es una forma sencilla de eliminar las interferencias que pueden presentar los excipientes al momento de realizar la determinación.

Debido a que el laboratorio donde se realizó la parte -experimental ha decidido lanzar a la venta acetaminofén en varias formas farmacéuticas, entre ellas supositorios, se tiene la necesidad de desarrollar o implementar un método analítico para cuantificar el principio activo en supositorios como producto terminado. Se tomó ésta decisión porque el laboratorio no cuenta con equipo más especializado para llevar a cabo dicha determinación y además de que el método analítico que se adquirió con la patente de fabricación, presenta problemas de interferencia por excipientes.

Como en la actualidad la validación de métodos analíticos es de vital importancia en las industrias farmacéuticas - para asegurar medicamentos confiables y eficaces además de -- ser un requisito sanitario por parte de la Secretaría de Sa-- lud (3) que pide a los laboratorios fabricantes de medicamen-- tos, validar todos los métodos empleados (de fabricación y -- coontrol), por lo que se validará el método implementado para la cuantificación de acetaminofén en supositorios como producto terminado.

4. OBJETIVOS

1. Implementar un método analítico para cuantificación de acetaminofén en supositorios como producto terminado, vía-espectrofotométrica (U.V.)

2. Validar el método analítico implementado con el estudio estadístico adecuado, usando la técnica de cantidad adicionada, cantidad recuperada (placebo cargado).

5. HIPOTESIS.

El acetaminofén es una sustancia que debido a los enlaces presentes en su molécula, absorbe al ultravioleta a 240 nm aproximadamente, dependiendo del solvente en que se llegue a preparar en solución (31).

Una manera fácil de eliminar los excipientes al determinar el acetaminofén en supositorios, es la de solubilizarlo en agua, así se eliminarán las masas novatas que por ser triglicéridos de ácidos grasos saturados son insolubles en ésta (33).

Si al momento de realizar las determinaciones de acetaminofén, se ve que no hay interferencias por parte de los excipientes y la extracción fue total, podrá decirse que el método encontrado es un método cuantitativo que será validado con el estudio estadístico adecuado, además de ser utilizado para realizar el ensayo de principio activo en producto terminado.

6. MATERIAL Y METODO

6.1 Materiales.

Material	Descripción.
Matraces volumétricos	25, 50, 100 y 200 ml.
Pipetas volumétricas	1, 2, 3, 5, 10, 11 y 25 ml.
Vasos de precipitados	40 ml.
Embudos de polipropileno	Tallo corto, No. 4
Algodón	
Agitadores de vidrio	

6.2 Reactivos.

Acetaminofén (RS)	RS de COSUFAR.
Acetaminofén polvo USP	Materia prima de Helm de - México.
Agua destilada	Destilada por vaporización para análisis.

6.3 Equipo.

Espectrofotómetro UV-VIS	Beckman modelo 35 con cel- das de cuarzo de 1 cms.
Balanza analítica	Mettler H10T
Parrilla de calentamiento	Corning PC 353.

6.4 Metodología general. Para poder realizar la implementación y validación del método analítico para cuantificar acetaminofén en supositorios, se tuvo la necesidad de fabricar un lote

de placebo bajo las condiciones requeridas de producción y al cual se le adicionaron cantidades conocidas de acetaminofén - materia prima, usando como estándar el acetaminofén de referencia.

Preparación de la muestra:

Pesar exáctamente 100 mg de acetaminofén y adicionar la cantidad correspondiente de placebo. Fundir a 40°C y mezclar. Esperar a que solidifique y extraer con 20 ml de agua caliente (75-80°C), agitar con una varilla de vidrio hasta que desaparezca el color blanco del excipiente. Enfriar en un baño - de hielo hasta que solidifique. Filtrar a través de un algodón y regresar al recipiente original todo el excipiente que se retenga en el embudo. Repetir tres extracciones más semejantes a la anterior. Juntar todos los extractos en un matraz volumétrico de 200 ml y aforar.

Preparación del estándar:

Pesar exáctamente 100 mg de acetaminofén, disolver en - agua y diluir a 200 ml en un matraz volumétrico.

Procedimiento:

Transfiera porciones de 2 ml de las preparaciones de la muestra y del estándar a matraces volumétricos de 100 ml y di

luir al volumen con agua. Conjuntamente determinar las absor-
bancias de las soluciones de la muestra y del estándar al má-
ximo de absorción (244 nm aproximadamente), usando agua como
blanco. Calcular la cantidad de acetaminofén presente en la
muestra mediante la siguiente fórmula: $(A_{mta} / A_{std}) (W_{std})$ -
donde A_{mta} y A_{std} son las absorbancias de la muestra y la del
estándar respectivamente, y W_{std} es el peso del estándar.

Los parámetros que se evaluaron al realizar la valida-
ción fueron los anteriormente expuestos en la Fundamentación-
del Tema (pág. 4).

6.4.1 Linealidad del sistema. Para realizar la linealidad del
sistema, la determinación se hace solo con principio activo -
en esta parte no se usa estándar. La muestra se preparó pe-
sando 100 mg y llevando a un volumen final de 100 ml (solu-
ción stock) con agua destilada para tener una concentración -
final de 1 mg/ml. El procedimiento fue de la siguiente mane-
ra:

Para muestras al 80%: De la solución stock se tomaron-
cuantitativamente tres alícuotas de 5 ml y se transfirieron a
tres matraces volumétricos de 50 ml y se aforaron con agua --
destilada. De cada una de las tres diluciones se tomó una a-
lícuota de 2 ml con pipeta volumétrica y se llevaron a matra-
ces volumétricos de 25 ml, aforándose con agua destilada, pa-
ra obtener una concentración final de 8 mcg/ml.

Para muestras al 90%: De la solución stock se tomaron cuantitativamente tres alícuotas de 3 ml y se transfirieron a tres matraces volumétricos de 100 ml, se aforaron con agua -- destilada. De cada dilución se tomó con pipeta volumétrica -- una alícuota de 15 ml y se transfirieron a matraces volumétricos de 50 ml, se aforó con agua destilada para obtener una -- concentración final de 9 mcg/ml.

Para muestras al 100%: De la solución stock se tomaron cuantitativamente tres alícuotas de 1 ml y se transfirieron a tres matraces volumétricos de 100 ml, se aforó con agua destilada para tener una concentración final de 10 mcg/ml.

Para muestras al 110%: De la solución stock se tomaron cuantitativamente tres alícuotas de 11 ml y se transfirieron a tres matraces volumétricos de 50 ml, se aforaron con agua destilada. De cada una de las diluciones se tomó con pipeta volumétrica una alícuota de 5 ml y se transfirieron a matraces volumétricos de 100 ml, se aforó con agua destilada para obtener una concentración final de 11 mcg/ml.

Para muestras al 120%: De la solución stock se tomaron cuantitativamente tres alícuotas de 5 ml y se transfirieron a matraces volumétricos de 50 ml y se aforaron con agua destilada. De cada una de las diluciones anteriores se tomó una alícuota de 3 ml con pipeta volumétrica y se transfirieron a matraces volumétricos de 25 ml, se aforaron con agua destilada--

para tener finalmente una concentración de 12 mcg/ml.

Una vez preparadas las muestras se procedió a leer al máximo de absorción del acetaminofén en agua.

6.4.2 Precisión del sistema. Para la determinación de la precisión del sistema se usó solo principio activo, al igual que en la linealidad del sistema.

Se prepararon doce muestras de forma semejante a la preparación del estándar. De la solución de 0.5 mg/ml se tomaron 2 ml y se llevaron a un volumen de 100 ml, se aforó con agua destilada para tener una concentración final de 10mcg/ml. Por último se procedió a leer las doce muestras al máximo de absorción del acetaminofén.

6.4.3 Especificidad frente a excipientes. En una determinación para ver la interferencia de excipientes en una formulación, es necesario analizar placebos del producto, placebos cargados del producto y comparar los resultados con un estándar de acetaminofén, usando el método propuesto.

La forma de análisis quedaría conforme a la tabla No. 2.

Para la muestra, el placebo y el estándar se llevó a cabo el método general propuesto, realizando todo tal como ahí se indica. Posteriormente al momento de leer se realizó un -

espectro de absorción en la región de ultravioleta cercano para poder comparar los resultados.

Determinación:	W acetaminofén:	W excipiente:
Muestra	100 mg	566.6 mg
Placebo	---	566.6 mg
Estándar	100 mg	---

TABLA No. 2 Preparaciones para ser analizadas durante la interferencia de excipientes.

6.4.4 Linealidad del método. Al momento de realizar la linealidad del método, la determinación se hizo con cinco concentraciones diferentes y tres replicaciones de cada concentración.

Las muestras se prepararon pesando las cantidades de acuerdo a la siguiente tabla (tabla No. 3).

Concentración:	Acetaminofén (mg)	Excipiente (mg)
1	80	453.3
2	90	510
3	100	566.6
4	110	623.3
5	120	680

TABLA No. 3 cantidad de acetaminofén y excipientes para las diferentes concentraciones en la determinación de la linealidad del método.

Para las tres replicaciones de las cinco concentraciones

anteriores se aplicó el método general de análisis usando como comparación un estándar.

6.4.5 Exactitud del método. Para determinar la exactitud del método de medición se prepararon doce muestras y un estándar de acuerdo al método general de análisis propuesto y se leyeron las doce muestras al máximo de absorción del acetaminofén.

6.4.6 Precisión del método. Para realizar la precisión del método se prepararon doce muestras, divididas en cuatro series de tres. Para ésta parte experimental se requirió de dos analistas y dos días, para formar un diseño estadístico con dos criterios de clasificación, en cada determinación los analistas realizaron tres replicaciones por día.

Para saber si el método es preciso o no, primero debe-- debe determinarse si dicho método es reproducible y repetible, los cuales están dados por los analistas y los días respectivamente.

Las muestras fueron preparadas de acuerdo al método general de análisis por parte de los dos analistas.

6.4.7 Estabilidad de la muestra. En la evaluación de la estabilidad de la muestra, se prepararon tres muestras tal como lo indica el método general. De cada muestra se tomaron nueve alícuotas de 10 ml, fueron sometidas a tres diferentes con

diciones y determinadas a tres diferentes tiempos, quedando - de la siguiente manera (Tabla No. 4):

Tiempo:	Luz:	Oscuridad:	Refrigeración:
6 hs	1, 2 y 3	1, 2 y 3	1, 2 y 3
12 hs	1, 2 y 3	1, 2 y 3	1, 2 y 3
24 hs	1, 2 y 3	1, 2 y 3	1, 2 y 3

TABLA No. 4 Condiciones y tiempos a los que se determinan las muestras para evaluar la estabilidad de las muestras.

Las muestras 1, 2 y 3 antes de ser almacenadas a las diferentes condiciones, fueron determinadas al tiempo cero, por que ésta determinación inicial sirve para hacer la corrección por control que será la usada para el estudio estadístico.

7. RESULTADOS.

7.1 Linealidad del sistema. A continuación se presentan los resultados de las absorbancias obtenidas (Cuadro No. 1) en las muestras preparadas para determinar la linealidad del sistema.

Concentración final mcg/ml:	Absorbancia:	
8	0.505	
8	0.506	1.516
8	0.505	
9	0.556	
9	0.556	1.666
9	0.554	
10	0.626	
10	0.627	1.880
10	0.627	
11	0.687	
11	0.688	2.062
11	0.687	
12	0.742	
12	0.743	2.229
12	0.744	

CUADRO No. 1 Resultados de las absorbancias para las diferentes concentraciones finales en la linealidad del sistema.

De acuerdo a los resultados de la tabla anterior, se calcularon los siguientes datos:

$$Ex^2 = 1530$$

$$Ex = 150$$

$$\bar{x} = 10$$

$$Sx = 1.4638$$

$$Exy = 95.3520$$

$$Ey^2 = 5.9428$$

$$Ey = 9.3530$$

$$\bar{y} = 0.6235$$

$$Sy = 0.0890$$

$$Ey^2 = 17.8284$$

Conforme a las fórmulas 1, 2 y 3 del anexo, se calcula ron la pendiente (m), la ordenada al origen (b) y el coeficiente de regresión (r).

$$m = 0.0607$$

$$b = 0.0165$$

$$r = 0.9989$$

Evaluación de la linealidad del sistema:

Ho: Hay linealidad.

Hi: No hay linealidad.

La siguiente tabla de ANADEV A (ver Tabla 1 del anexo)- nos muestra las F calculadas para la evaluación de éste pará metro.

Fv	gl	SC	MC	F
Regresión	1	0.1102	0.1102	$F_1=504.26$
E. de regres.	13	3.547×10^{-3}	2.728×10^{-4}	
F. de ajuste	3	3.540×10^{-3}	1.180×10^{-3}	
E. puro	10	6.666×10^{-6}	6.66×10^{-7}	$F_2=1770.15$
TCM	14	0.1109		

Tabla de ANADEV A para evaluar la linealidad del sistema.

Con los datos anteriores calculamos r^2 conforme a la fórmula 4 del anexo.

$$r^2 = 0.9936$$

Regla de decisión:

Si $F_{1\text{calc}} > F_{\text{tab}}$ no se rechaza H_0 y \therefore hay linealidad del sistema de medición. Si $F_{1\text{calc}} < F_{\text{tab}}$, se rechaza H_0 y no hay linealidad (ver gráfica 1).

$$F(0.05, \frac{g_{\text{inum}}}{g_{\text{iden}}}) = 4.67$$

Como $404.26 > 4.67$, no rechazamos H_0 y podemos considerar que nuestro sistema de medición sigue una línea recta.

Si $F_{2\text{calc}} < F_{\text{tab}}$, no hay falta de ajuste, si $F_{2\text{calc}} > F_{\text{tab}}$ hay falta de ajuste o un error puro muy pequeño que se evalúa con r^2 .

$$F(0.05, \frac{g_{\text{inum}}}{g_{\text{iden}}}) = 3.71$$

$1770.15 > 3.71$, pero vemos que $r^2 = 0.99$, por lo que se ve un error puro muy pequeño y se puede considerar que no hay falta de ajuste, esto en cuanto a términos prácticos y lineamientos establecidos por la Secretaría de Salud, porque profundizando en el estudio estadístico, el modelo no explica correctamente los resultados obtenidos.

Para ver si la ordenada al origen es cero:

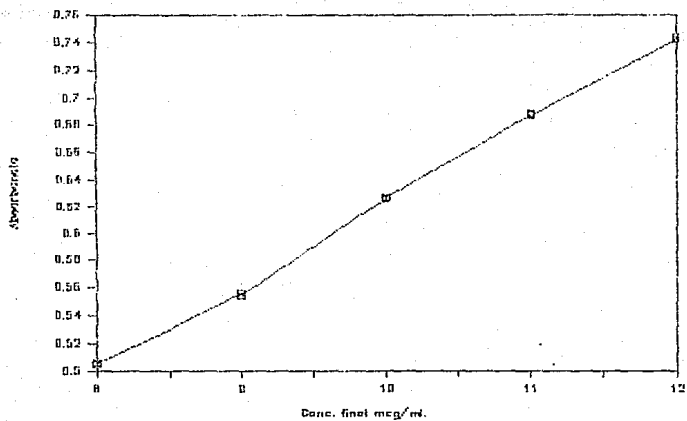
$H_0: B = 0$

$H_1: b \neq 0$

El modelo probabilístico empleado es la t de student y de acuerdo las fórmulas 5 y 6 del anexo se tiene:

$$t_{\text{calc}} = 0.134$$

$$t_{\text{tab}}(n-2, 0.975) = 2.1604$$



Gráfica 1. Linealidad del sistema en un rango de 8 a 12 mcg/ml como concentración final.

Regla de decisión:

Si $|t_{\text{calc}}| < t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$ no se rechaza H_0 .

Si $|t_{\text{calc}}| > t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$ se rechaza H_0 .

Como $0.134 < 2.1604$, no se rechaza H_0 y podemos considerar que nuestro sistema de medición tiene una $b = 0$.

7.2 Precisión del sistema. En el cuadro No. 2 se presentan los resultados de las absorbancias obtenidas en las doce muestras preparadas en la evaluación de la precisión del sistema.

Concentración final mcg/ml:	Absorbancia:
10	0.635
10	0.631
10	0.633
10	0.630
10	0.637
10	0.635
10	0.634
10	0.633
10	0.632
10	0.636
10	0.636
10	0.637

CUADRO No. 2 Resultados de las absorbancias para la evaluación de la precisión del sistema.

De acuerdo a los resultados de la tabla anterior, se calcularon los datos siguientes.

$$Ex^2 = 4.8247$$

$$Ex = 7.609$$

$$\bar{x} = 0.634$$

$$Sx = 2.314 \times 10^{-3}$$

Evaluación de la precisión del sistema:

Ho: El sistema es preciso.

Hi: El sistema no es preciso.

Se calculó la desviación estándar relativa (DER) usando la fórmula 7 del anexo.

$$\text{DER} = 0.364\%$$

Criterio para la regla de decisión:

Si $\text{DER} < 1.5\%$, no se rechaza H_0 y \therefore hay precisión en el sistema de medición. Si $\text{DER} > 1.5\%$, se rechaza H_0 y no hay precisión en el sistema.

Como $0.364\% < 1.5\%$, no se rechaza H_0 y podemos considerar que nuestro sistema es preciso.

7.3 Especificidad frente a excipientes. Después de realizadas las determinaciones para la muestra, placebo y estándar, se interpretaron las respuestas del activo y excipientes al método mediante la gráfica No. 2.

Evaluación de la interferencia de excipientes:

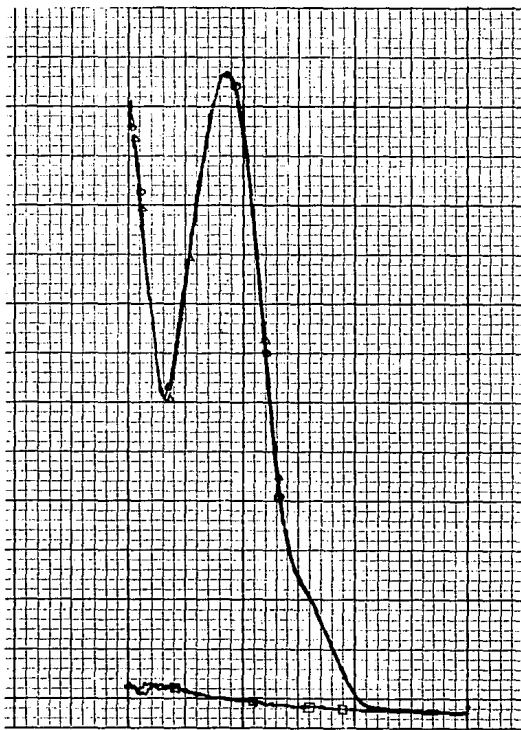
Ho: No hay interferencia de excipientes.

H1: Hay interferencia de excipientes.

Criterio para la decisión:

Confirmar que el método desarrollado sea capaz de separar la substancia de interés de cualquier interferencia presente. De no ser así, optimizar el método o desarrollar --- otro.

Por lo anterior y la gráfica No. 2, no rechazamos Ho y podemos considerar que el método desarrollado es capaz de separar la substancia de interés de las demás substancias presentes.



GRAFICA 2. Especificidad frente a excipientes. Δ (es tándar), \circ (muestra, \square (placebo). Rango de 200-350 nm, Escala = 1 Velocidad = 20 X 5 nm/min, velocidad papel -- = 2 X 5 in/min, solvente = agua, concentración de acetamino-

fén = 10 mcg/ml.

7.4 Linealidad del método de medición. En el siguiente cuadro (No. 3) se muestran los resultados de las cantidades recuperadas en función de las adicionadas.

Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)
80	79.344
80	79.508 238.196
80	79.344
90	90.163
90	89.344 268.851
90	89.344
100	100.491
100	101.311 301.965
100	100.163
110	110.000
110	109.508 329.178
110	109.670
120	119.180
120	119.508 358.524
120	119.836

CUADRO No. 3 Relación de las cantidades adicionada y recuperada para la evaluación de la linealidad del método.

Con los resultados del cuadro No. 3, se calcularon los siguientes datos:

$$Ex^2 = 153000$$

$$Ey^2 = 152367.728$$

$$Ex = 1500$$

$$Ey = 1496.714$$

$$\bar{x} = 100$$

$$\bar{y} = 99.780$$

$$Sx = 14.638$$

$$Sy = 14.697$$

$$Exy = 152681.23$$

$$Ey^2 = 457098.67$$

Se calcularon m , b y r con las fórmulas 1, 2 y 3 del -
anexo.

$$m = 1.003$$

$$b = -0.5467$$

$$r = 0.999$$

Evaluación de la linealidad del método:

Ho: Hay linealidad.

Hi: No hay linealidad.

La siguiente tabla de ANADEVAs (ver tabla I del anexo)-
nos muestra las F calculadas para la evaluación de éste pará-
metro.

Fv	gl	SC	MC	F
Regresión	1	2977.50	2977.50	$F_1=828.92$
E. de regres.	13	46.708	3.592	
F. de ajuste	3	45.202	15.067	
E. puro	10	1.505	0.1505	$F_2=100.112$
TCM	14	3024.2		

Tabla de ANADEVAs para evaluar la linealidad del método.

Ahora se calcula el valor de r^2 con la fórmula 4 del -
anexo.

$$r^2 = 0.9845$$

Regla de decisión:

Si $F_{1,calc} > F_{tab}$, no se rechaza Ho y \therefore hay linealidad-

del método. Si $F_1 \text{calc} < F_{\text{tab}}$, se rechaza H_0 y no hay linealidad.

$$F(0.05, \frac{g_{\text{num}}}{g_{\text{den}}}) = 4.67$$

Como $828.92 > 4.67$, no se rechaza H_0 y podemos considerar que nuestro método es lineal (ver gráfica No. 3).

Si $F_2 \text{calc} < F_{\text{tab}}$, no hay falta de ajuste, si $F_2 \text{calc} > F_{\text{tab}}$, hay falta de ajuste o el error puro es muy pequeño (evaluar con r^2).

$$F(0.05, \frac{g_{\text{num}}}{g_{\text{den}}}) = 3.71$$

$100.112 > 3.71$, pero vemos que $r^2 = 0.98$, por lo que se aprecia un error puro muy pequeño y podemos considerar que no hay falta de ajuste, en cuanto a términos prácticos y lineamientos establecidos por la Secretaría de Salud, porque -- profundizando en el estudio estadístico, el modelo no explica correctamente los resultados obtenidos.

Para ver si la ordenada al origen es cero:

$$H_0: b = 0$$

$$H_1: b \neq 0$$

El modelo probabilístico empleado es la t de student y conforme a las fórmulas 5 y 6 del anexo se tiene:

$$t_{\text{calc}} = -0.027 \qquad t_{\text{tab}}(n-2, 0.975) = 2.1604$$

Regla de decisión:

Si $|t_{\text{calc}}| < t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$, no se rechaza H_0 .

Si $|t_{\text{calc}}| > t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$, se rechaza H_0 .

Como $0.027 < 2.1604$, no se rechaza H_0 y podemos considerar que nuestro método tiene una $b = 0$.

Para ver si la pendiente es uno:

$H_0: m = 1$

$H_1: m \neq 1$

El modelo probabilístico empleado aquí, también es la t de student, y usando las fórmulas 8 y 9 del anexo se tiene:

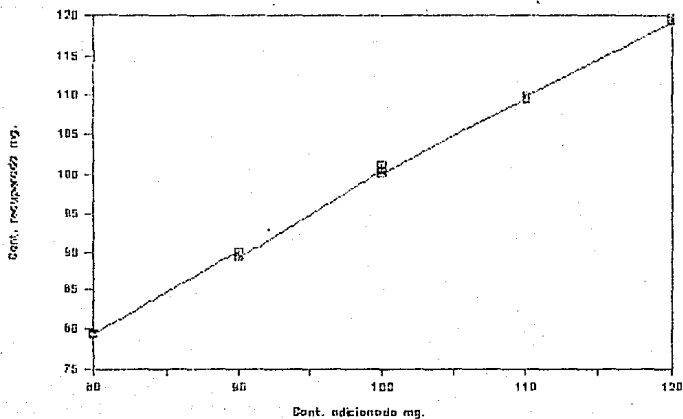
$$t_{\text{calc}} = 0.088 \qquad t_{\text{tab}}(n-2, 0.975) = 2.1604$$

Regla de decisión:

Si $|t_{\text{calc}}| < t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$, no se rechaza H_0 .

Si $|t_{\text{calc}}| > t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$, se rechaza H_0 .

Como $0.088 < 2.1604$, no se rechaza H_0 y podemos considerar que nuestro método de medición tiene una $m = 1$.



Gráfica 3. Linealidad del método analítico en un rango de concentración que va del 80 al 120 % de la cantidad normal a cuantificar.

7.5 Exactitud del método. En el cuadro No. 4 se presentan los porcentos de recobro de las doce muestras ensayadas.

Muestra:	% recobro:
1	99.80
2	99.95
3	99.58
4	99.76
5	99.52
6	100.21
7	99.78
8	100.47
9	99.52
10	100.06
11	100.27
12	100.00

CUADRO No. 4 Porcientos de recobro de las muestras para la evaluación de la exactitud del método.

Con los resultados del cuadro No. 4 se calcularon los-datos siguientes:

$$Ex^2 = 119785.127$$

$$Ex = 1198.92$$

$$\bar{x} = 99.91$$

$$Sx = 0.306$$

Evaluación de la exactitud del método:

$$Ho: M = 100\%$$

$$Hi: M \neq 100\%$$

El modelo probabilístico empleado para la exactitud -- del método, es la t de student y se calculó usando la fórmula 10 del anexo.

$$t_{\text{calc}} = -1.018 \quad t_{\text{tab}}(n-2, 0.975) = 2.2010$$

Regla de decisión:

Si $|t_{\text{calc}}| < t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$, no se rechaza H_0 .

Si $|t_{\text{calc}}| > t_{\text{tab}}(n, 2, 0.975)$, se rechaza H_0 .

Como $1.018 < 2.2010$, no se rechaza H_0 y podemos considerar que nuestro método tiene una exactitud con un 100%.

Intervalo de confianza del % recuperado:

Empleando la fórmula 11 del anexo, se tiene:

$$IC = 99.91 \pm 2.2010 (0.306/12)$$

IC : 99.71 a 100.10 del % de recobro.

7.6 Precisión del método. El determinar la reproducibilidad y repetibilidad del método, nos dará la pauta para deducir si el método es preciso. Las determinaciones se realizarán con los datos del cuadro No. 5.

		Analista 1		Analista 2	
D	1	99.72		100.31	
		100.14	300.12	100.36	300.45
		100.26		99.78	
I	2	100.47		100	
		100.09	300.12	99.88	299.82
		99.56		99.94	
A		$Y_{1..} = 600.24$		$Y_{2..} = 600.27$	
		$Y_{...} = 1200.51$			

CUADRO No. 5 Resultado del % de recobro por dos analistas en dos días distintos.

La siguiente tabla de ANADEV A (ver tabla II del anexo) nos presenta las F calculadas para la evaluación de la precisión del método.

Fv	gl	SC	MC	F
Ai	1	8×10^{-5}	8×10^{-5}	2.42×10^{-3}
Dj(i)	2	0.066	0.033	0.333
EK(ij)	8	0.7924	0.099	

Tabla de ANADEV A donde se dan los valores de las F para evaluar la precisión del método.

Evaluación de la reproducibilidad del método:

H_0 : Hay reproducibilidad.

H_1 : No hay reproducibilidad.

Regla de decisión:

Si $F_{1\text{calc}} < F_{\text{tab}}$, el método si es reproducible.

Si $F_{1\text{calc}} > F_{\text{tab}}$, el método no es reproducible.

$$F(0.05, \frac{g1\text{num}}{g1\text{den}}) = 18.51$$

Como $2.42 \times 10^{-3} < 18.51$, no se rechaza H_0 y podemos considerar que nuestro método es reproducible.

Evaluación de la repetibilidad del método:

H_0 : Hay repetibilidad.

H_1 : No hay repetibilidad.

Regla de decisión:

Si $F_{2\text{calc}} < F_{\text{tab}}$, el método es repetible.

Si $F_{2\text{calc}} > F_{\text{tab}}$, el método no es repetible.

$$F(0.05, \frac{g1\text{num}}{g1\text{den}}) = 4.46$$

Como $0.333 < 4.46$, no se rechaza H_0 y podemos considerar que nuestro método es repetible.

Al observarse que nuestro método es reproducible y repetible, entonces puede considerarse que dicho método también

es preciso.

7.7 Estabilidad de la muestra. El cuadro No. 6 nos muestra los resultados de las tres muestras sometidas a tres diferentes condiciones y determinadas a tres diferentes tiempos.

	Luz	Oscuridad	Refrigeración.
	99.68	99.68	100
6 hs	100	100	100
	100.15	100	100.15
	\bar{x} = 99.94	99.89	100.05
	100.94	100.63	100.31
12 hs	100.47	100.63	100.63
	100.94	100.31	100.78
	\bar{x} = 100.78	100.52	100.57
	101.10	101.57	100.94
24 hs	100.94	101.73	100.78
	101.10	100.94	101.73
	\bar{x} = 101.4	101.41	101.15

CUADRO No. 6 Porcentajes de recobro de las muestras a los diferentes tiempos de determinación.

Utilizando las fórmulas 12, 13 y 14 del anexo, se calcularon los diferentes valores de tD (t de Dunnett) para las diferentes condiciones y en los diferentes tiempos (ver cuadro No. 7)

	Luz	Oscuridad	Refrigeración
6 hs	-0.096	-0.176	0.08
12 hs	1.255	0.323	0.917
24 hs	1.673	2.268	1.85

CUADRO No. 7 Resultados de la t_D para los diferentes tiempos de determinación de las muestras.

Evaluación de la estabilidad de la muestra:

Ho: Hay estabilidad.

H1: No hay estabilidad.

Regla de decisión:

Si $|t_{\text{calc}}| < t_D$ la muestra es estable.

Si $|t_{\text{calc}}| > t_D$ la muestra no es estable.

$$t_D + ab = 2.95$$

De acuerdo a los valores obtenidos en el Cuadro No. 7- podemos considerar que nuestra muestra es estable a cual--- quiera de estas tres condiciones hasta 24 hs después de haber sido preparada.

B. DISCUSION DE RESULTADOS

Linealidad del sistema: Al observar la gráfica obtenida, un coeficiente de correlación (r) de 0.9989 y una ordenada al origen (b) considerada como 0, podemos establecer que nuestro sistema de medición resulta ser lineal según los criterios establecidos para su aceptación, en cuanto a lineamientos establecidos por la Secretaría de Salud.

Precisión del sistema: Para que un sistema de medición sea preciso, debe cumplir con una desviación estándar relativa y analizando el resultado obtenido (0.364), podemos establecer que nuestro sistema es preciso.

Especificidad frente a excipientes: Al observar la gráfica No. 2, podemos observar que el método analítico fue capaz de separar la substancia de interés del resto de los excipientes. El método analítico resultó ser específico para el acetaminofén, pues no hubo interferencias significativas por parte de los excipientes.

Linealidad del método: De acuerdo a los resultados obtenidos en la gráfica No. 3 y al obtener un r de 0.999, una b de -0.5467 y una pendiente (m) de 1.003, puede considerarse que nuestro método es lineal bajo los criterios de aceptación establecidos para la evaluación de éste parámetro, en términos establecidos por la Secretaría de Salud.

Exactitud del método: Se observa que el método fue -- exacto porque se obtuvieron porcentos de recobro en un in-- tervalo menor al permitido para ésta forma farmacéutica.

Precisión del método: Esta se llevó a cabo con dos -- días y dos analistas. conforme a los resultados obtenidos se observa que no hay efecto debido al analista, al día y tampo co a la interacción día analista, por lo que se considera -- que el método es preciso.

Estabilidad de la muestra: Las desviaciones observadas en la determinación de la estabilidad de la muestra, son muy pequeñas, por lo que se establece que nuestra muestra es es-- table hasta 24 hs después de preparada.

9. CONCLUSIONES

Al finalizar el presente trabajo, podemos decir que se cumplieron los objetivos descritos originalmente porque, el método analítico empleado para la cuantificación de acetaminofén en supositorios como producto terminado fue satisfactorio en todos los parámetros evaluados dentro de la validación.

El método analítico resultó ser específico para el acetaminofén al poder separarlo del resto de los excipientes, - también es lineal, exacto y preciso. además la muestra resultó estable hasta 24 hs después de preparada.

Por todo lo anteriormente expuesto, se concluye que el método analítico implementado cumple con la función asignada y por lo que podrá ser empleado como una rutina en la cuantificación de acetaminofén en supositorios como producto terminado.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

10. ANEXO

Fórmulas:

$$m = \frac{(n \cdot \overline{Exi \cdot Eyi}) - (\overline{Exi} \cdot \overline{Eyi})}{(n \cdot \overline{Exi^2}) - (\overline{Exi})^2} \quad (1)$$

$$b = \frac{(\overline{Eyi \cdot Exi^2}) - (\overline{Exi} \cdot \overline{Eyi^2})}{(n \cdot \overline{Exi^2}) - (\overline{Exi})^2} \quad (2)$$

$$r = \frac{(n \cdot \overline{Exi \cdot Eyi}) - \overline{Exi} \cdot \overline{Eyi}}{\left\{ \left[(n \cdot \overline{Exi^2}) - (\overline{Exi})^2 \right] \left[(n \cdot \overline{Eyi^2}) - (\overline{Eyi})^2 \right] \right\}^{0.5}} \quad (3)$$

$$r^2 = \frac{S_{Cr}}{S_{CTCM}} \quad (4)$$

$$t_{calc} = \frac{b_0 - 0}{sb_0} \quad (5)$$

$$sb_0 = \sqrt{M_{Cr} \left(\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\overline{Ex^2} - x^2} \right)} \quad (6)$$

$$DER = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (7)$$

$$t_{calc} = \frac{m - 1}{sm} \quad (8)$$

$$sm = \sqrt{\frac{M_{Cer}}{\overline{Ex^2} - \frac{(\overline{Ex})^2}{n}}} \quad (9)$$

$$t_{\text{calc}} = \frac{\bar{x} - 100}{s / \sqrt{n}} \quad (10)$$

$$IC = \bar{y} \pm t(n-1, 0.975) \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (11)$$

$$tD = \frac{\bar{x} - 100}{\sqrt{\text{MCE}(\frac{2}{r})}} \quad (12)$$

$$\text{SCE} = \text{EEE}_{ijk}^2 - \frac{\text{EE}_{ij}^2}{k} \quad (13)$$

$$\text{MCE} = \frac{\text{SCE}}{t(r-1)} \quad (14)$$

Tablas de ANADEVVA.

Tabla I de ANADEVVA.

Fv	gl	SC	MC	F.
Regresión	1	$bEy+mExy - \frac{(Ey)^2}{n}$	$\frac{SCR}{gIr}$	$F_1 = \frac{MCR}{MCer}$
E. de regres.	n-2	$Ey^2 - (bEy+mExy)$	$\frac{SCer}{gIer}$	
F. de ajuste	$(n-2) - (r-1)c$	SCer-SCep	$\frac{SCfa}{gIfa}$	$F_2 = \frac{MCfa}{MCep}$
E. puro	$(r-1)c$	$Ey^2 - \frac{Ey^2}{r}$	$\frac{SCep}{gIep}$	
TCM	n-1	$Ey^2 - \frac{(Ey)^2}{n}$		

Tabla II de ANADEVVA.

Fv	gl	SC	MC	F
Ai	i-1	$\frac{Eyi^2}{jk} - \frac{y^2}{ijk}$	$\frac{SCA}{gIA}$	$F_1 = \frac{MCA}{MCD}$
Dj(i)	$(j-1)i$	$\frac{EEyij^2}{k} - \frac{Eyi^2}{jk}$	$\frac{SCD}{gID}$	$F_2 = \frac{MCD}{MCE}$
Ek(ij)	$(k-1)ij$	$\frac{EEEyijk^2}{k} - \frac{EEyij^2}{k}$	$\frac{SCE}{gIE}$	

Donde TCM = Total corregido por la media

11. BIBLIOGRAFIA

- 1.- CEMELI, J. "Validación, Filosofía y Sistema". C. I. F.-
4. (8). 1985. p. 220-226.
- 2.- GUERRA, J. "Validation of Analytical Methods by FDA Laboratories". Pharm. Tech. 10. (3). 1986. p. 74.
- 3.- Diario Oficial de la Federación. tomo CDXII, No. 11. -
México, D. F., lunes 18 de enero de 1988.
- 4.- TAYLOR, J. "Validation of Analytical Methods". Analchem
55. (6). 1983. p. 600A.
- 5.- TAYLOR, J. "Quality Assurance". Anal. Chem., 53. (14).--
1981. p. 1588A.
- 6.- Pharmaceutical Manufacturers Association. "Current Concepts for the Validation of Compendial Assays". Pharmaceutical Forum. 1986. p. 1241.
- 7.- AFM. "Taller de Validación. AFM. 1987.
- 8.- Validation Concepts Proceedings of Management Conference for Pharmaceutical Industry. Purdue University. ---
West Lafayette Indiana, USA. 1987.
- 9.- CONNORS, K. "Curso de Análisis Farmacéutico". 2a. ed.--
Ed. Reverté. España. 1981. p. 195.
- 10.- DILTS, R. "Analytical Chemistry". Published by Nostrand
Company. ESA. 1974.
- 11.- KOLTHOFF, E. "Treatise on Analytical Chemistry". 2a. ed.
Volumen 1. p. 118.
- 12.- KNEVEL, A. "Jenkins' Quantitative Pharmaceutical Chemistry". Ed. Mc. Graw Hill. USA. 1977. p. 301.

- 13.- HIGUCHI, T. "Pharmaceutical Analysis". Interscience -- Publishers. USA. 1961. p. 321.
- 14.- PICKERING, W. "Química analítica Moderna", Ed. Reverté España. 1976. p. 157.
- 15.- SKOOG, D. "Principles of Instrumental Analysis". Holt-Rinehart and Winston. USA. 1976.
- 16.- The Merck Index. 10 th. ed. USA. 1983. p. 7
- 17.- MARTINDALE. "The Extra Pharmacopeia". 21 ed. the Pharmaceutical Press. London 1982.
- 18.- HAWLEY, G. "Diccionario de Química y Productos Químicos". 2a. ed. Ed. Omega. México. 1975.
- 19.- GOODMAN, L. "Bases Farmacológicas de la Terapéutica". 5a. ed. Ed. Interamericana. México. 1978. p. 298.
- 20.- GOLDSTEIN. "Biostatistics an Introductory Test" Cap. 4 1967.
- 21.- LITTER, M. "Farmacología Experimental y Clínica". 6a. ed. Ed. El ateneo. Argentina 1980.
- 22.- MEYERS, F. "Farmacología Clínica". 3a. ed. Ed. El Manual Moderno. México 1977.
- 23.- Guía Profesional de Medicamentos. Ed. El Manual Moderno. México. 1984. p. 188.
- 24.- RODRIGUEZ, R. "Vademécum Académico de Medicamentos". - Tomo 1. UNAM. México. 1984. p. 9
- 25.- RUIZ, R. "Nuevo Diccionario Médico". Ed. Teide. España. 1984. p. 1195.
- 26.- Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing-Co. 16th ed. USA. 1980. p. 1055.

- 27.- LACHMAN, L. "The Theory and Practice of Industrial --- Pharmacy". 3th ed. USA. 1976. p. 1617.
- 28.- The United States Pharmacopeia, 20th. ed. USA. 1985.
- 29.- Bristish Pharmacopeia. Vol. I y II. England. 1980.
- 30.- FNEUM. 4a. ed. 1988.
- 31.- KLAUS, F. "Analytical Profiles of Drug Substances". -- Vol. 3. Ed. Academic Press Inc. USA. 1986. p. 5.
- 32.- KO CY "High-Performance Liquid-Chromatographic Assay - of Codeine in acetaminophen with Codeine Dosage Forms". J. Pharm. Sci. 69 (9). 1980. p. 1081.
- 33.- ELSAYED, M. "Spectrophotometric Determination of Aceta minophen in Tablets, Sirups and Suppositories". J. --- AOAC. 62 (3). 1979. p. 549.