

26
201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

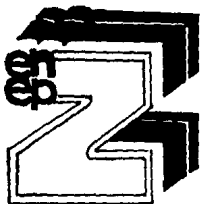
**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
Z A R A G O Z A**

**DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO
PARA ESTABILIDAD DE ACETAMINOFEN
EN SOLUCION PEDIATRICA**

T E S I S

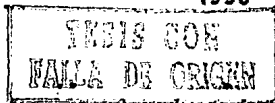
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A:
ROGER LARRAURI MORA



MEXICO, D. F.

1990





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.

C O N T E N I D O

	Pagina
1. Introducción -----	1
2. Fundamentación del tema -----	2
2.1 Definición de cromatografía de gases -----	3
2.2 Fundamentos de la cromatografía de gases -----	4
2.2.1 Factores para evaluar la efectividad de la cromatografía de gases -----	7
2.2.2 Equipo de cromatografía de gases -----	9
3. Propiedades fisicoquímicas del acetaminofén -----	20
4. Validación -----	23
5. Planteamiento del problema -----	31
6. Objetivos -----	32
7. Hipotesis de trabajo -----	33
8. Materiales -----	34
8.1. Reactivos -----	35
8.2. Equipo -----	35
9. Metodología -----	36
9.1 Preparación de la solución estandar -----	36
9.2 Preparación de la solución problema -----	36
9.3 Metodología para la validación -----	37
9.2.1 Linealidad del sistema -----	37
9.2.2 Precisión del sistema -----	37
9.2.3 Linealidad del método -----	37
9.3.4 Exactitud del método -----	38
9.3.5 Reproducibilidad del método -----	38
9.3.6 Especificidad -----	38

10.	Resultados -----	39
11.	Análisis de resultados -----	54
12.	Conclusiones -----	57
13.	Bibliografía -----	58

1. INTRODUCCION

El Acetaminofèn continua siendo un compuesto analgèsico ampliamente utilizado. En la literatura científica Nacional e Internacional se reportan métodos para su análisis por Espectrofotometria y Cromatografia de líquidos de alta resolución (CLAR). (12,13)

Por su parte la Farmacopea Nacional De Los Estados Unidos Mexicanos y la Farmacopea U.S.P. XXI, establecen un método analítico por reacción colorimétrica con vainillina. Sin embargo este método no es de utilidad para la cuantificación de acetaminofèn, debido a que interfiere el producto de degradación (p-amino-fenol) en la región de absorción del espectro de U.V. cercano al del acetaminofèn. (12,13)

A través de una separación cromatográfica obtendremos resultados ventajosos para ser utilizados en análisis de control de calidad para una solución pediàtrica.

Debido a las propiedades fisicoquímicas del acetaminofèn, fuè susceptible de ser analizado por cromatografia de gases dado que el producto no sufre descomposición al ser vaporizado. Podemos concluir que el método desarrollado fuè lineal, preciso, exacto, reproducible, específico, rápido y económico.

2. FUNDAMENTACION DEL TEMA

Debido al desarrollo científico y tecnológico en el área farmacéutica y a las necesidades que se tienen del conocimiento de nuevos métodos analíticos con mejores resultados y mayor rapidez; el uso de la cromatografía de gases es un método analítico que cumple con estas características.

Después de que un medicamento ha sido desarrollado, se debe determinar si el producto sufre o no degradación del principio activo o de sus componentes, después de ser almacenado, transportado u otros.

La Secretaría De Salud en México y otros organismos más como la FDA (Food And Drugs Administration) en Estados Unidos, han establecido lineamientos en relación a la estabilidad de los medicamentos, en los cuales se especifica que el contenido de principio activo de los mismos no debe de ser inferior al 90% durante toda su vida de anaquel. (3,9)

Por lo tanto para que un producto cumpla satisfactoriamente con los requisitos de pureza y contenido de principio activo, debe de ser sometido a estudios de estabilidad acelerada, basando al método de cuantificación. Un requisito indispensable que debe cumplir un método analítico para que pueda ser empleado en un estudio de estabilidad, es que además de ser preciso, exacto, lineal y reproducible sea específico, es decir; que pueda diferenciar y cuantificar a la sustancia problema en presencia de su producto o productos de degradación. El método analítico por cromatografía de gases cumple con estos requisitos. (9)

2.1 DEFINICION DE CROMATOGRAFIA DE GASES

La cromatografía es un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil, gas o líquido y retenidos selectivamente por una fase estacionaria que puede ser un líquido o un sólido, de acuerdo a la naturaleza de las fases involucradas y a los mecanismos de separación. (12)

La figura 1 muestra la clasificación de la cromatografía:

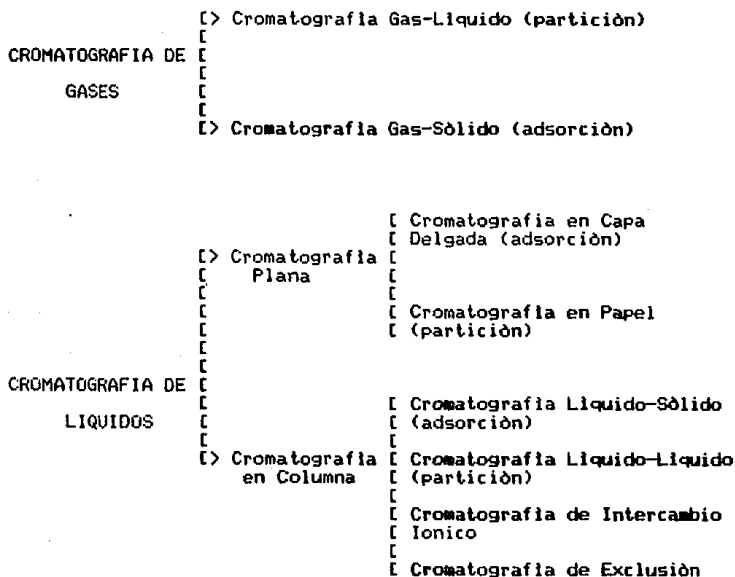


FIGURA 1 CLASIFICACION DE LA CROMATOGRAFIA

2.2. FUNDAMENTOS DE LA CROMATOGRAFIA DE GASES

En la cromatografía de gases se emplea el procedimiento de elución; la muestra se añade a la columna y el gas puro que actúa de portador fluye continuamente a través de la columna.

Los líquidos orgánicos de alto punto de ebullición constituyen la fase estacionaria en la CLG. La fase líquida se extiende como una película delgada sobre un sólido inerte llamado soporte sólido, la base para la separación es la partición de la muestra dentro y fuera de la misma. Si se puede encontrar una fase líquida que tenga solubilidad selectiva para dos compuestos, entonces estos dos pueden separarse mediante cromatografía de gases. Debido a la amplia gama de fases líquidas disponibles la CLG es la forma más selectiva de cromatografía y la que presenta mayores usos. (14,15)

En la figura 2 se muestra el esquema de la columna cromatográfica. La fase estacionaria está empacada apretadamente dentro de una columna; el gas portador fluye continuamente a través de la columna. Las moléculas de la muestra se distribuyen o equilibran entre el gas portador y la fase orgánica líquida. Las muestras que son más solubles en la fase líquida permanecen menos tiempo en el gas portador en movimiento y, por lo tanto, se desplazan con más lentitud a través de la columna. (14)



FIGURA 2

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE UNA COLUMNA CROMATOGRAFICA

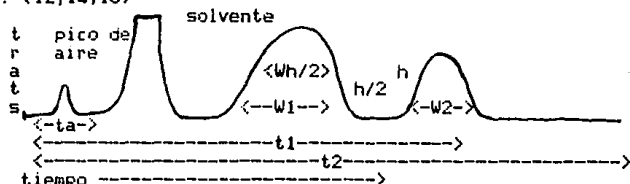
En la cromatografía de gases, la fase móvil es un gas y la estacionaria es un sólido (cromatografía Gas-Sólido) o un líquido (cromatografía Gas-Líquido). En la primera, el proceso de separación se lleva a cabo por adsorción entre el gas que transporta el soluto y el soporte, que puede ser alúmina, sílica gel, carbón, etc. y en la segunda, la partición se lleva a cabo entre una fase estacionaria líquida que cubre a un sólido inerte, como sílica, vidrio, etc. y el gas que transporta el soluto. Cuando se introduce una sustancia en la corriente del gas, esta se volatiliza por la elevada temperatura y de esta manera es transportada por el gas transportador a lo largo de la columna donde se distribuye entre las fases sólida y líquida. Este proceso de partición o reparto entre ambas fases está definido como el "factor de capacidad" K' determinado bien sea por la cantidad o por el tiempo de residencia de la sustancia en cuestión entre las fases respectivas:

$$K' = \frac{\text{cantidad de la sustancia en la fase estacionaria}}{\text{cantidad de la sustancia en la fase gaseosa}}$$

$$K' = \frac{\text{tiempo en la fase estacionaria}}{\text{tiempo en la fase gaseosa}}$$

Mientras mayor tiempo pase el soluto en la fase estacionaria, mayor será el valor de K' y, por lo tanto, mayor el tiempo de retención, por lo que el valor de K' dependerá del soluto, la cantidad y la composición de la fase líquida, la temperatura y la velocidad de flujo del gas.

El siguiente esquema representa un cromatograma típico de elución de dos sustancias donde t_1 y t_2 son los tiempos de retención de las sustancias 1 y 2; h y $h/2$ son la altura total y la mitad de la altura del pico; $Wh/2$ es el ancho del pico a la mitad de la altura y W_1 y W_2 son los anchos de las bases de los picos 1 y 2 respectivamente. El pico del aire es característico de los cromatogramas obtenidos y puede aparecer antes o coincidir con el pico del solvente; t_a es el tiempo muerto y corresponde al tiempo de retención para una sustancia que es retenida por la columna. (12,14,15)



Una medida de la eficiencia de una columna en particular se puede conocer calculando el número de platos teóricos (n) en la columna con la siguiente ecuación:

$$n = 16 \frac{t^2}{W}$$

En donde t es el tiempo de retención de la sustancia y W es el ancho de la base del pico obtenido extrapolando los lados del pico hasta la línea base. El valor de n es dependiente de la sustancia que está siendo analizada y de las condiciones de operación tales como la velocidad de flujo, la temperatura, la cantidad del empaque de la columna y la uniformidad de éste.

2.2.1 FACTORES PARA EVALUAR LA EFECTIVIDAD

 DE LA CROMATOGRAFIA DE GASES

Resolución:

Como una medida de la eficiencia de la separación de dos compuestos en una mezcla, la resolución, R , se determina por la siguiente ecuación:

$$R = 2 \frac{(t_2 - t_1)}{W_2 - W_1}$$

Donde t_2 y t_1 son los tiempos de retención para los componentes y $W_2 - W_1$ son los anchos correspondientes de las bases de los picos obtenidos extrapolando los lados de los picos hasta la línea base. (12)

Velocidad:

Normalmente, el análisis por cromatografía de gases tarda unos minutos; muchas separaciones útiles se completan en 10 minutos. Con altas presiones se han terminado análisis completos en apenas unos segundos. Sin embargo, en la mayoría de los análisis de laboratorio este ahorro en tiempo no reduce apreciablemente el tiempo total involucrado en la toma de la muestra, el análisis cromatográfico y el cálculo de los resultados. En consecuencia solo basta señalar que la cromatografía de gases permite lograr rápidamente buenos datos analíticos.

Sensibilidad:

Una de las razones principales por las que se usa ampliamente la cromatografía de gases en los análisis, es la sensibilidad requerida. El detector de conductividad térmica puede fácilmente medir microgramos, y los detectores más selectivos como el de captura de electrones y el detector de ionización de flama alcanzan a detectar hasta picogramos.

Debido a esta sensibilidad, la cromatografía de gases es un método preferido para el análisis de trazas, particularmente plaguicidas, herbicidas, farmacos, contaminantes del aire y agua de tipo orgánico. Otra ventaja de esta sensibilidad es la mínima muestra requerida, para completar un análisis bastan unos microlitros. (14,16)

Sencillez:

Tanto las técnicas como el instrumental de la cromatografía de gases son relativamente sencillos y fáciles de comprender. Con solo unos pocos días de trabajo de laboratorio los estudiantes son capaces de obtener datos analíticos significativos. (14)

Resultados cuantitativos:

Un factor importante de la cromatografía de gases es que permite obtener buenos resultados cuantitativos. Sin embargo, la exactitud es función de muchos factores. Diremos solamente que se puede obtener buena exactitud en una amplia gama de concentraciones de la muestra, desde miligramos hasta nanogramos. (14,16)

La figura 3 representa el esquema de un sistema para cromatografía de gases. Las partes básicas son: 1) cilindro de gas portador, 2) control del flujo del gas, 3) entrada de la muestra, 4) termostato de la columna, 5) columna, 6) detector, y 7) registrador, integrador.

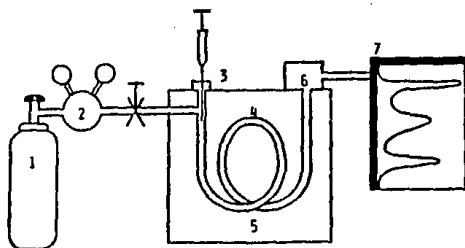


FIGURA 3
ESQUEMA DE UN CROMATOGRAFO DE GASES

El gas portador inerte (helio o nitrógeno) fluye continuamente desde un cilindro de gas a través de la cámara de inyección (inyector), de la columna y del detector. El flujo del gas portador se controla cuidadosamente para obtener tiempos de retención reproducibles y disminuir al mínimo la deriva y los ruidos del detector. La muestra se inyecta (comúnmente con una jeringa graduada en microlitros) en la cámara de inyección calentada, donde se vaporiza. Posteriormente la muestra es arrastrada hacia la columna. (12,14,15)

La columna es un tubo largo de metal o vidrio, relleno de partículas sólidas (soporte sólido). Sobre el soporte sólido se ha distribuido de manera uniforme una película delgada de un líquido de alto punto de ebullición (fase estacionaria). La muestra se reparte entre el gas portador y la fase estacionaria separándose en cada uno de sus componentes. Los componentes de la muestra que tengan mayor solubilidad en la fase estacionaria se desplazan con mayor lentitud y se eluyen mucho después. Después de la columna, el gas portador y la muestra pasan a través de un detector. Este dispositivo mide la concentración de la muestra y genera una señal eléctrica, esta señal pasa a un registrador gráfico, el cual configura un cromatograma. En muchos casos un procesador de datos integra automáticamente el área del pico y en algunos casos efectúa cálculos e imprime resultados cuantitativos y tiempos de retención. (14,15,16)

Gas portador

El propósito primario del gas portador es transportar los componentes volátiles de la muestra a través de la columna, el gas deberá ser inerte y no reaccionar ni con la muestra ni con la fase estacionaria. El propósito secundario es el de obtener una matriz adecuada para que el detector mida el componente de la muestra. En el caso del detector de conductividad térmica, el helio producirá una sensibilidad siete veces mayor que el nitrógeno.

Es importante que el gas portador sea de alta pureza ya que en especial las impurezas de oxígeno y agua pueden alterar químicamente la fase estacionaria y por ende, modificar los tiempos de retención.

Control de flujo del gas:

La primera parte en cualquier sistema de flujo es un regulador de dos etapas conectado al cilindro con el gas portador figura 4. La primera etapa indica la presión del gas en el cilindro, al hacer girar la válvula del regulador se hará llegar una presión creciente (registrada en la segunda etapa) al cromatógrafo. Este regulador no funciona bien a presiones bajas. En la segunda etapa se recomienda usar un mínimo de 20 psi, si con 20 psi se consigue un flujo demasiado grande, deberá colocarse un tubo constrictor o capilar entre la segunda etapa y el cromatógrafo.

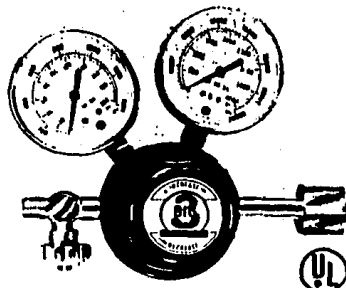


FIGURA 4

REGULADOR DE PRESION DE DOS ETAPAS

Medición de flujo:

Los dispositivos más usados son un rotámetro y un flujómetro con burbuja de jabón. El rotámetro proporciona un índice rápido y apropiado del flujo, pero no es muy exacto. (14)

El flujómetro de película de jabón es simplemente un tubo calibrado (por lo general una pipeta o bureta), a través del cual fluye el gas portador. Al apretar una pera de goma se hace ascender una disolución jabonosa que cierra el paso del gas. Se dejan ascender varias burbujas de jabón por el tubo a fin de humedecerlo totalmente. Entonces, con un cronómetro se mide con exactitud el tiempo que tarda una burbuja en desplazarse en un volumen definido. A partir de esta velocidad de la burbuja, puede fácilmente calcularse la velocidad del gas portador en mililitros por minuto (ml/min) (figura 5).

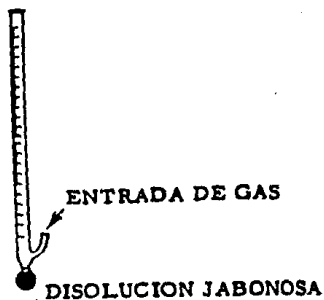


FIGURA 5
FLUJOMETRO DE PELICULA DE JABON

Entrada de la muestra:

La entrada de la muestra deberá permitir la introducción de una amplia variedad de muestras, incluyendo líquidos, gases y sólidos, y su inyección rápida y cuantitativa en la corriente del gas portador. La muestra se introduce utilizando una jeringa. Para conseguir la mejor forma del pico y la resolución máxima deberá usarse la mínima cantidad posible de muestra. Mientras más componentes constituyan la muestra más grande deberá ser su tamaño. En la mayoría de los casos la presencia de otros componentes no afectará la localización y forma del pico de un determinado componente. Casi todos los cromatógrafos de gases tienen una entrada con termostato. En el diseño de estos sistemas de entrada, varios factores revisten importancia.

a. El gas portador debe precalentarse para garantizar una rápida vaporización.

b. El diafragma debe mantenerse más frío que el bloque del inyector para evitar su degradación térmica.

c. El camino del flujo debe ser suave y uniforme para evitar la difusión en "torbellino" o la transferencia exponencial de la muestra dentro de la columna. (14)

Termostato de la columna:

La columna lleva un termostato para que la separación pueda efectuarse a una temperatura reproducible. Además es necesario para mantener la columna dentro de un amplio intervalo de temperaturas, hasta de 350 °C. El control de la temperatura de la columna es uno de los procedimientos más fáciles y eficaces para promover la separación. (14,16)

Columna:

La columna efectúa la separación, siendo este el objetivo primario de la cromatografía de gases. El elegir la columna es la decisión más importante y más difícil en una técnica para cromatografía de gases.

La elección de la columna es de acuerdo a nuestra muestra problema, debemos de tomar en cuenta el peso molecular, polaridad, estabilidad y principalmente la no compatibilidad con la fase estacionaria y la fase móvil. (14,19)

Las columnas más usuales son:

- OV-3 (fenil-metil-dimetil silicon) para ácidos libres y fenoles.
- OV-17 (50% de fenil silicon) para esteroides, farmacos y aminos.
- OV-101 (liquido metil silicon) para hidrocarburos y pesticidas.

Este tipo de columnas estan empacadas del 3% al 10% en chromosorb W-HP 80/100.

- Porapak S (recomendada para alcoholes en sangre).
- Carbowax (solventes como: Hexano, tolueno, piridina, butanol).

Características de las columnas:

El tubo de la columna puede ser de cobre, acero inoxidable, aluminio o vidrio tanto en forma recta como helicoidal. En general se utilizan columna de acero inoxidable y vidrio. La longitud de la columna varia desde unas cuantas pulgadas hasta más de 15 metros. Las columnas analíticas comunes miden de 1 a 3 metros de longitud. Con mayores longitudes se obtiene mejor resolución.

El diámetro de la columna varia de 0.025 a 1.25 centímetros de diámetro interno. Mientras menor sea el diámetro de la columna mayor es la eficiencia de ésta. El diámetro externo de las columnas analíticas estandar es de 0.3 y 0.6 centímetros.

Fase líquida:

Es la fase líquida la que debe exhibirse la capacidad, como disolvente diferencial, necesaria para la separación de los componentes de una muestra.

La fase líquida debe ser estable a la temperatura máxima de funcionamiento de la columna. En la mayoría de los catálogos de accesorios se indica la temperatura máxima de las columnas. (14,19)

Ejemplos:

- DEGS: Dietilen Glicol Succinato.
- Metil Silicon.
- Poli m -Fenil Eter (6 anillos).
- Fenil Metil Difenil Silicon.

Soporte sólido:

El propósito del soporte es de sostener una película delgada y uniforme de la fase líquida. Un soporte óptimo deberá poseer determinadas características como son:

- Una superficie específica extensa de 1 a 20 m^2/g .
- Un diámetro de poros uniforme del orden de 10 o menos.
- Un mínimo de interacción química y adsorptiva con la muestra.
- Partículas de forma regular, de tamaño uniforme.
- Resistencia mecánica; no deberá desmoronarse al ser manipulado.

La materia prima para la mayoría de los soportes es la diatomita, también denominada tierra de diatomeas. En la literatura de cromatografía de gases mencionan varios de los soportes más comúnmente utilizados además de las cargas de fase líquida recomendadas para el soporte, esto es seleccionado dependiendo de la muestra y se elige en base a su peso molecular, polaridad de la molécula, estabilidad, etc.

Detector:

El detector cromatográfico es un dispositivo que mide la concentración de cada uno de los componentes de la muestra y genera una señal eléctrica proporcional a dicha concentración. (14,15,16)

Características de un detector:

a. SENSIBILIDAD. Denota la cantidad de señal generada para determinada concentración de una muestra.

b. RUIDO. Se refiere a la respuesta del detector de corta duración y al azar, determinada por las características eléctricas. Por lo general se define como la cantidad mínima detectable de aquella muestra lo suficientemente grande generando una señal 2 veces mayor a su nivel.

c. RESPUESTA. Significa que el detector genera una respuesta para todos los componentes de la muestra, exceptuando el gas portador. Esta es una característica deseable y es muy útil disponer de un detector con respuesta universal.

d. RECORRIDO LINEAL. Es la región sobre la cual la señal del detector es directamente proporcional a la concentración de la muestra.

Tipo de detectores:

- a. Conductividad térmica.
- b. Captura de electrones.
- c. Fluidos biológicos.
- d. Ionización de flama.

Detector de ionización de flama

El funcionamiento de los detectores de ionización se basa en el principio de que la conductividad electrónica de un gas es directamente proporcional a la concentración de las partículas cargadas dentro del gas. La figura 6 muestra un detector de ionización de flama (IFD).

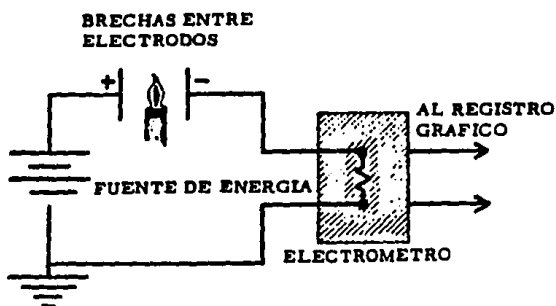


FIGURA 6

ESQUEMA DEL CIRCUITO DE UN DETECTOR DE IONIZACION DE FLAMA

El gas portador fluye desde la columna hasta la flama, la cual ioniza algunas de las moléculas orgánicas presentes en la corriente gaseosa. La presencia de partículas cargadas (iones positivos, iones negativos y electrónes) en el espacio entre los electrodos origina una corriente que fluye en éste y a través de una resistencia que los mide. La disminución de potencial resultante se amplifica y se alimenta a un registrador.

Cuando un componente orgánico entra a la flama, se quema y se forman partículas cargadas, cuyo aumento hace que fluya corriente. Esta corriente produce una señal que es amplificada y dibujada como un pico sobre el registrador gráfico. En la figura 7 se muestra un esquema de un detector IFD. El hidrogeno y el aire se mezclan entre si y se quema formando una flama. Cerca de la salida de los gases se coloca una bobina de ignición para facilitar la combustión. (14,15,16)

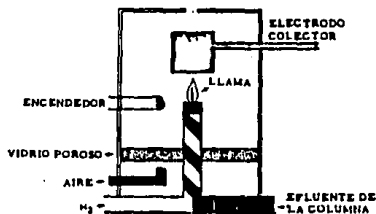


FIGURA 7
ESQUEMA DEL DETECTOR DE IONIZACION DE FLAMA

Características del detector de ionización de flama:

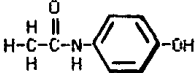
- Determinación cuantitativa mínima de 10^{-11} g.
- Respuesta selectiva, sensible a compuestos orgánicos.
- Estabilidad excelente.
- Temperatura límite de 400°C
- Utiliza como gas portador nitrógeno o helio.

Registrador e integrador:

Un registrador es un dispositivo electromecánico y, como cualquier otro instrumento es susceptible de error. Un cromatograma, es el registro gráfico, donde se indican los componentes y el grado de concentración en que están presentes en una muestra. Cuando solo sale de la columna el gas portador utilizado como eluyente, aparecerá dibujada una línea recta, la línea base. Cuando se eluyen los picos de la muestra, se dibuja el perfil de su concentración y así se obtienen dos importantes parámetros de información: el tiempo de retención (es el tiempo que transcurre desde la inyección hasta la elución del punto máximo del pico), y el área del pico (que esta en relación directa a la concentración de la muestra) donde el integrador operara haciendo los calculos necesarios para que obtengamos esa relación en porcentaje de área que corresponderia a nuestra pureza del compuesto así mismo nos da la anchura del pico para los fines de calculo que nosotros queramos, como tambien nos puede reportar en cuanto a estandar interno y estandar externo. Este equipo de integración es lo más sofisticado que hay para conocer nuestra concentración de la muestra y nuestra pureza de la misma. (14,16,17)

3. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL ACETAMINOFEN

- SINONIMO = Paracetamol, N-Acetil-para-amino-fenol, APAP.

- FORMULA DESARROLLADA = 

- FORMULA CONDENSADA = $\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_2\text{O}$

- PESO MOLECULAR = 151.16

- PUNTO DE FUSION = De 169°C a 172°C .

- DESCRIPCION = Cristales blancos inodoros ò polvo con sabor amargo.

- SOLUBILIDAD = 1 g ----- 70 ml de agua a 25°C .
 1 g ----- 20 ml de agua hirviendo.
 1 g ----- 7 ml de cloroformo.
 1 g ----- 50 ml de alcohol.
 1 g ----- 15 ml de acetona.
 1 g ----- 40 ml de glicerina.
 1 g ----- 9 ml de propilenglicol.
 Insoluble en benceno y eter.
 Soluble en soluciones alcalinas y àcidas.

- USOS = El acetaminofen es un compuesto analgèsico, esta formado descomposiciòn de la acetanilida y acetofenitidina, es usado para aliviar el dolor de cabeza, las mialgias, artralgias y otros dolores relacionados con los musculos articulaciones y afecciones de los nervios perifericos.

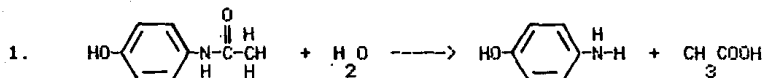
El acetaminofen carece de la acción antiinflamatoria de la aspirina, por lo tanto esta limitada su utilidad a desordenes inflamatorios de tipo reumatico. (5,10)

- VIDA MEDIA =

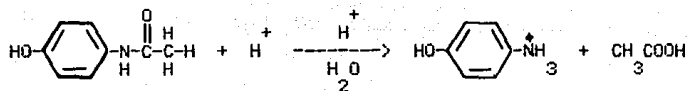
PH	t 1/2 (25 °C).
2	0.8
3	5.8
4	15.4
5	19.8
6	21.8
7	12.6
8	7.1
9	2.4

- INESTABILIDAD = La inestabilidad del acetaminofen es la hidrólisis, formando p-amino-fenol y ácido acético. (10)

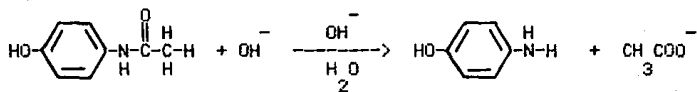
La estabilidad del acetaminofen fue estudiada por Koshy y Lach, mencionan que la hidrolisis espontanea no existe, reacciones de hidrolisis en ácidos y bases catalizadas son espontáneas, las reacciones más importantes son:



2.



3.



4. VALIDACION

La validación de un método analítico es un proceso por el cual queda establecido, por estudios experimentales, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada. Y la capacidad se expresa como: Exactitud Conocida/ Variabilidad Establecida. Para llevar a cabo la validación de un método analítico es necesario determinar los siguientes parámetros.

Linearidad

Indica el grado en que la respuesta del método se aproxima a una función lineal del tipo $Y = b + mx$ (donde $b=0$ y $m=1$) al trabajar a diferentes concentraciones. (18,19,20)

Para llevar a cabo tal fin se grafican los datos experimentales, de tal manera que la cantidad recobrada este en función de la cantidad adicionada, para observar el grado en que los resultados se comportan como una función lineal. Para conocer numéricamente lo anterior se determina la regresión y correlación de los datos.

Por regresión se entiende la relación existente entre las variables la cual se representa por la ecuación.

$$Y_{ij} = b + mx_i + E_{ji}$$

Donde:

b = Ordenada al origen.

m = Pendiente de la recta, indicada por dos variables.

x_i = Cantidad adicionada de la i -ésima concentración.

y_j = Cantidad recobrada de la i -ésima concentración en la j -ésima repetición.

E_{ji} = Error experimental.

El criterio a seguir es: $m = 1$, $b = 0$, $r > 0.98$

Para llevar a cabo la determinación numérica, es necesario efectuarlo mediante el método de mínimos cuadrados.

Se determina la dispersión alrededor de la recta de regresión con el error típico de estimación modificado (Sy/x) y la sensibilidad (d^2) del método mediante las siguientes expresiones:

$$Sy/x = \sqrt{\frac{(\sum Y^2) - b(\sum Y) - m(\sum XY)}{n}}$$

$$\hat{Sy}/x = \frac{n}{n-2} \cdot (Sy/x)$$

$$d^2 = \frac{m}{Sy/x}$$

Dado que $b^2 y/x$ es constante para las "x", la regresión es lineal, y la distribución lineal de "y" para cualquier valor de "x" dado, es una distribución normal. Es posible dar mediante intervalos de confianza, las estimaciones de b y m por las siguientes expresiones.

Inferencias a cerca de b (ordenada al origen).

Contraste de hipótesis.

H_0 : $b=b_0$ donde $b_0=0$

H_1 : $b \neq b_0$

Estadígrafo de contraste.

$$t_{b_0} = \frac{b - b_0}{Sy/x \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n(\sum (X_i - \bar{X})^2)}}}$$

El intervalo de confianza lo podemos calcular con:

$$b - t_{\alpha/2} \cdot \widehat{S}_{y/x} \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{n \sum (X_i - \bar{X})^2}} < b < b + t_{1-\alpha/2} \cdot \widehat{S}_{y/x} \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{n \sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

Interferencia a cerca de m (pendiente).

Contraste de hipótesis

H_0 : $m = m_0$ donde $m_0 = 1$

H_1 : $m \neq m_0$

Estadígrafo de contraste

$$t_{m_0} = \frac{m - m_0 \cdot S_x \sqrt{n-1}}{\widehat{S}_{y/x}}$$

con $\alpha = 0.05$ y $\alpha/2 = 0.025$

El intervalo de confianza al 95 % se calcula con:

$$m - t_{\alpha/2} \frac{\widehat{S}_{y/x}}{S_x \sqrt{n-1}} < m < m + t_{1-\alpha/2} \frac{\widehat{S}_{y/x}}{S_x \sqrt{n-1}}$$

Donde:

b = Valor de la ordenada al origen, determinada por los datos experimentales.

\bar{X} = Valor promedio de las cantidades adicionadas.

b_0 = Valor del parámetro (ordenada al origen = 0).

n = Número de observaciones de muestras independientes.

$S_{y/x}$ = Error típico modificado.

- S_x = Desviación estandar de las cantidades adicionadas.
 X_i = Cantidad adicionada de la i -ésima concentración.
 m = Valor de la pendiente, determinada por la ecuación de la recta de regresión.
 m_0 = Valor del parametro (pendiente = 1).

Coeficiente de correlación (r), indica el grado en que se asocian dos variables, una vez obtenido, se puede calcular el coeficiente de determinación (r^2), el cual indica la variabilidad explicada por la recta de regresión. (18,20,21)

Exactitud

Es la concordancia que existe entre un valor determinado experimentalmente y su valor real.

Contraste de hipótesis.

$H_0 : u = 100 \%$

$H_1 : u \neq 100 \%$

Estadígrafo de contraste "t" de Student.

$$t \text{ (calculada)} = \frac{\bar{X} - u}{S / \sqrt{n}} \quad \text{con } \alpha = 0.05$$

Donde:

- \bar{X} = Promedio de recobro de n muestras independientes.
 u = Parámetro que nos representa el valor real del porcentaje de recobro.

S/\sqrt{n} = Error estándar el cual es una medida del error experimental.

El intervalo de confianza al 95 % se calcula con:

$$I.C. = \bar{X} + t_{1-\alpha/2} S/\sqrt{n}$$

Donde:

\bar{X} = Valor promedio de los porcentajes de recobro.

$t_{1-\alpha/2}$ = Valor teórico del estadígrafo de contraste a esa confianza para tal intervalo.

Precisión:

Es la concordancia con respecto al valor central entre resultados sucesivos, obtenidos en un método, bajo condiciones iguales de trabajo. Se evalúa mediante el cálculo de la desviación del conjunto de datos.

Repetibilidad:

Es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos aparatos y técnicas. (18,21,23)

Contraste de hipótesis.

$$H_0 : \sigma < 2\%$$

$$H_1 : \sigma > 2\%$$

Estadígrafo de contraste: χ^2 , llamada Ji-cuadrada.

Donde:

n = Número de observaciones de muestras independientes.

s^2 = Varianza muestral

σ^2 = Parámetro, que nos representa la variabilidad del método.

El intervalo de confianza lo podemos calcular de la siguiente forma:

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

Donde:

n = Número de muestras independientes.

χ^2 = Valor teórico del estadígrafo de contraste, el cual tiene una confianza del 95 %.

S^2 = Varianza de los datos obtenidos del porcentaje de recobro.

σ^2 = Desviación estándar poblacional.

Reproducibilidad:

Es la concordancia con respecto a un valor real en un método, pero bajo diferentes condiciones (analista, tiempo, aparatos, laboratorios, etc.). Para evaluar este parámetro se aplica un estadígrafo de prueba F con dos varianzas, donde su modelo estadístico lineal del diseño experimental es:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + D_j + AD_{ij} + E_{(ij)k}$$

Donde:

- Y_{ijk} = Porcentaje cuantificado con el i-ésimo analista, dado el j-ésimo día de la k-ésima repetición.
- A_i = Efecto del i-ésimo analista en el porcentaje cuantificado.
- D_j = Efecto del j-ésimo día del porcentaje cuantificado.
- u = Parámetro el cual representa el valor real del porcentaje de recobro, donde no existe efecto por día o por analista.
- E(ij)k = Error experimental, el cual es una medida de la reproducibilidad.

Especificidad:

En este tipo de prueba se asegura que la respuesta medible solo se debe a la sustancia que se desea analizar y no a excipientes o productos de degradación, los cuales se pueden formar durante el almacenamiento de el material. Para demostrar este punto se pueden llevar a cabo las siguientes pruebas:

a).- Analizando el placebo de la formulación bajo las mismas condiciones que se trabaja la formulación.

b).- Se pueden adicionar los productos de degradación del principio activo al placebo de la formulación, cuando no se conocen los productos de degradación, entonces es necesario someter al fármaco y a la formulación bajo condiciones que aceleren el proceso degradativo, se emplean: temperatura, luz solar, luz ultravioleta, medio oxidante, pH alcalino, pH ácido, humedad relativa, etc. (18,20,21,22)

LA TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA ES DE LA SIGUIENTE FORMA:

FUENTE DE VARIACION	GRADOS LIBERTAD	PRODUCTO SIMPLIFICADO	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F CAL
Ai	a - 1	(i - 1)	$\sum Y_i^2 - \frac{(\sum Y_i)^2}{bc}$ *1 *2	$\frac{SC}{A}$ SC / a-1	CM A CM E
Dj	b - 1	(j - 1)	$\sum Y_{.j}^2 - \frac{(\sum Y_{.j})^2}{ac}$ *2 *3	$\frac{SC}{D}$ SC / b-1	CM D CM E
ADij	(a-1) (b-1)	(ij-i-j+1)	$\sum Y_{ij}^2 - \frac{(\sum Y_{ij})^2}{ac} - \frac{(\sum Y_{.j})^2}{bc}$ *3 + *2	$\frac{SC}{AD}$ SC AD (a-1)(b-1)	CM AD CM E
E (ijk)	ab(c-1)	(ijk - ij)	$\sum Y_{ijk}^2 - \sum Y_{ij/c}^2$	$\frac{SC}{E}$ SC E ab(c-1)	

Donde la media cuadratica del error (CM_E) es el estimador de la Reproducibilidad

* Indica la serie completa que se debe sumar o restar de acuerdo a la ecuación.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro del departamento de desarrollo farmacéutico, de un laboratorio privado, se desarrolló un producto de acetaminofén en solución pediátrica, fuè necesario desarrollar para su control de calidad un método analítico confiable que permita la cuantificación del acetaminofén y sus productos de degradación en el citado producto.

Por lo anterior se pretende desarrollar un método de análisis para acetaminofen y su principal producto de degradación en solución, basándose en una técnica general de cromatografía de gases.

Así mismo se debe de asegurar la confiabilidad de los resultados obtenidos mediante la validación del método, determinando su exactitud, su linealidad, su precisión, su reproducibilidad y su especificidad.

6. OBJETIVO

Objetivo general:

Desarrollar y validar un método analítico para control de calidad de acetaminofén en solución pediátrica, mediante la técnica de cromatografía de gases.

Objetivos específicos:

1. Determinar la linealidad del sistema.
2. Determinar la precisión del sistema.
3. Determinar la linealidad del método.
4. Determinar la exactitud del método.
5. Determinar la reproducibilidad del método.
6. Determinar la Especificidad.

7. HIPOTESIS

Dadas las características fisicoquímicas del acetaminofen y su principal producto de degradación (para-amino-fenol) será posible identificarlos y cuantificarlos de la solución pediátrica mediante una técnica de cromatografía de gases.

8. MATERIALES

1. Microjeringas de 5 mcl. (Hamilton)
2. Embudos de separación de 100 ml. (Pyrex)
3. Pipetas volumétricas de 25 ml. (P.K.)
4. Vasos de precipitado de 100 ml. (Pyrex)
5. Soporte Universal.
6. Anillo metálico.
7. Parrilla de agitación. (Corning stirrer)
8. Parrilla de calentamiento. (Corning Hot/plate)
9. Propipeta automática.
10. Balanza analítica. (Mettler AE 260)
11. Vidrios de reloj. (Pyrex)
12. Embudos de talle corto. (Pyrex)
13. Pissetas.
14. Pipetas graduadas de 5 y 10 ml. (P.K.)
15. Matraces erlenmeyer. (Pyrex)
16. Espatula de acero inoxidable.
17. Probetas. (Pyrex)

8.1. REACTIVOS

1. Cloroformo grado reactivo. (J.T. Baker)
2. Acetaminofen estandar de referencia. (U.S.P. RS.)
3. Para-amino-fenol estandar de referencia. (U.S.P. RS.)

8.2. EQUIPO

1. Cromatógrafo de gases Varian modelo 6000, equipado con un detector de ionización de flama.
2. Registrador e integrador Hewlett Packard modelo HP-1035-A automático.
3. Columna de vidrio tres pies de largo por 1/8 de diametro interno, empacada con OV-17 al 3% en Chromosorb WHP 100/120 malla.

9. METODOLOGIA

DESCRIPCION DEL METODO DE ANALISIS

9.1. Preparación de la solución estandar.

Pesar 100 mg de acetaminofen SRef, pasar a un matraz volumétrico de 100 ml, disolver y llevar al aforo con cloroformo grado reactivo, tomar una alícuota de 10 ml de la solución anterior a un matraz volumétrico de 100 ml, llevar al aforo con cloroformo grado reactivo. Esta solución contiene aproximadamente 100 ug/ml de acetaminofen.

9.2. Preparación de la solución problema.

Tomar una alícuota de la solución problema que contenga 10 mg de acetaminofen, pasarla a un embudo de separación y adicionar 25 ml de cloroformo grado reactivo y 20 ml de agua:ácido sulfúrico (3:1), agitar y extraer la parte orgánica por triplicado. Concentrar la solución en un baño maría aproximadamente 5 ml, proceder a inyectar la solución clorofórmica una vez enfriada, inyectar al cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 1 ul) de las soluciones.

9.3 METODOLOGIA PARA LA VALIDACION

9.3.1. LINEARIDAD DEL SISTEMA

Se determinará construyendo una curva de calibración de una misma solución patrón utilizando cinco diluciones (80, 90, 100, 110, 120 %), haciendo el análisis por duplicado para cada solución.

9.3.2. PRECISION DEL SISTEMA

Se determinará por análisis sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100 % establecida en la linealidad de el sistema.

9.3.3 LINEARIDAD DEL METODO

Se determinará con placebos cargados del principio activo, cada uno de manera independiente en cinco concentraciones: 80, 90, 100, 110, 120% haciendo el análisis por triplicado. (3,9,12)

9.3.4 EXACTITUD DEL METODO

Se analizarán seis placebos cargados con el 100% del principio activo de manera independiente por el mismo analista y en iguales condiciones de operación.

9.3.5 REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

Se efectuara con dos analistas en dos dias diferentes y por triplicado, cada muestra con una misma concentración del 100 %.

9.3.6 ESPECIFICIDAD

Este método es para probar la especificidad en el sistema, en esta parte se corren tanto el producto de degradación principal, como el solvente y el principio activo estándar, una corrida separados y una corrida juntos, seleccionando las condiciones óptimas de operación.

Para probar especificidad en el producto se somete a hidrólisis el producto con un pH de 0 a 2 y 10 a 12, colocando las muestras en una estufa a 60 C durante dos semanas. (3,9,12)

10. RESULTADOS

LINEARIDAD DEL SISTEMA

mg adicionados	mg recuperados	% de recóbro
80	81.5	101.9
80	80.1	100.1
90	90.7	100.8
90	91.7	101.9
100	100.4	100.4
100	99.9	99.9
110	108.4	98.5
110	107.3	97.5
120	120.3	100.2
120	119.5	99.6

TABLA No 1
LINEARIDAD DEL SISTEMA

PARAMETROS ESTADISTICOS	
EXPERIMENTALES	TEORICOS
n = 10	
ordenada al origen = 5.13	
pendiente = 0.949	
coeficiente de correlación = 0.9971	
coeficiente de variación = 0.7 %	t (0.975), 8 = + 2.306
t (ordenada al origen) = 0.601	
t (pendiente) = - 1.93	t (0.025), 8 = - 2.306
INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ORDENADA AL ORIGEN	
- 14.56 < 5.13 < 24.82	
INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE	
0.3996 < 0.949 < 1.5332	

PRECISION DEL SISTEMA

mg adicionados	mg recuperados	% de recobro
100	99.2	99.2
100	100.9	100.9
100	99.0	99.0
100	100.5	100.5
100	99.0	99.0
100	100.4	100.4

TABLA No 2

PRECISION DEL SISTEMA

PARAMETROS ESTADISTICOS

EXPERIMENTALES

TEORICOS

$$n = 6$$

$$\bar{x} = 99.8$$

$$s = 0.7846$$

$$s^2 = 0.8594$$

$$x_1^2 = 0.923$$

$$CV = 0.9 \%$$

$$x_1^2 (0.025), s = 0.83$$

$$x_1^2 (0.975), s = 12.83$$

INTERVALO DE CONFIANZA

$$0.536 < 0.7846 < 2.1$$

LINEARIDAD DEL METODO

mg adicionados	mg recuperados	% de recóbro
80	80.0	100.0
80	78.8	98.5
80	78.8	98.5
90	88.6	98.4
90	88.8	98.7
90	89.5	99.4
100	99.5	99.5
100	98.6	98.6
100	99.4	99.4
110	108.7	98.8
110	108.7	98.8
110	108.3	98.4
120	118.7	98.9
120	118.7	98.9
120	119.0	99.2

TABLA No 3
LINEARIDAD DEL METODO

PARAMETROS ESTADISTICOS

EXPERIMENTALES

TEORICOS

n = 15

ordenada al
origen = 0.14

pendiente = 0.988

coeficiente
de
correlación = 0.9996 t (0.975), 13 = + 2.1604coeficiente
de variación = 0.5 %
t (ordenada
al origen) = 0.1743 t (0.025), 13 = - 2.1604

t (pendiente) = -1.51

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ORDENADA AL ORIGEN
-1.596 < 0.14 < 1.876INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE
0.971 < 0.988 < 1.005

EXACTITUD DEL METODO

mg adicionados	mg recuperados	% de recobro
100	99.5	99.5
100	101.2	101.2
100	101.7	101.7
100	101.9	101.9
100	99.9	99.9
100	100.1	100.1

TABLA No 4

EXACTITUD DEL METODO

PARAMETROS ESTADISTICOS

EXPERIMENTALES

$$n = 6$$

$$\bar{x} = 100.7$$

$$s = 0.924$$

$$S = 1.012$$

$$t = 1.69$$

$$CV = 1.0$$

TEORICOS

$$t(0.975) = + 2.575$$

$$t(0.025) = - 2.575$$

INTERVALO DE CONFIANZA

$$99.6 < 100.7 < 101.8$$

REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

	ANALISTA 1 (% de recobro)	ANALISTA 2 (% de recobro)
DIA 1	98.5 98.6 98.6	98.6 98.6 98.6
DIA 2	99.2 98.4 99.0	99.4 98.0 99.0

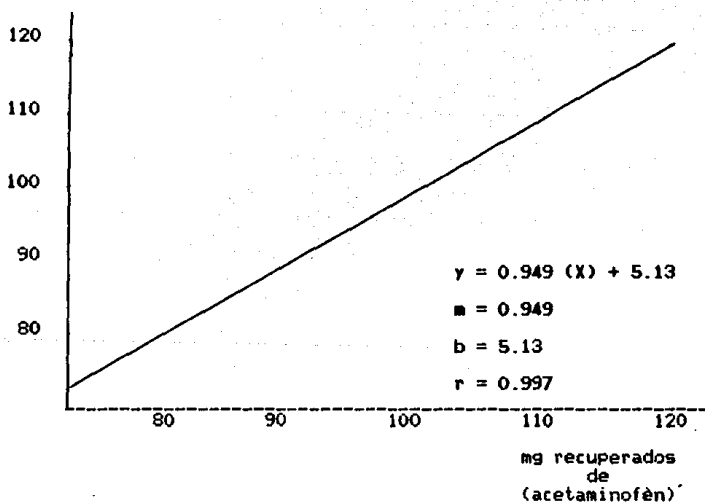
TABLA No 5
REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

TABLA DE ANOVA

FUENTE DE ERROR	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F (CALCULADA)	F (TEORICA)
ANALISTA (columnas)	1	0.01	0.01	0.007	161.4
DIA (filas)	1	0.19	0.19	0.13	161.4
ANALISTA-DIA interacción	1	0.01	0.01	0.06	5.32
ERROR EXPERIMENTAL	8	1.39	0.17	—	—

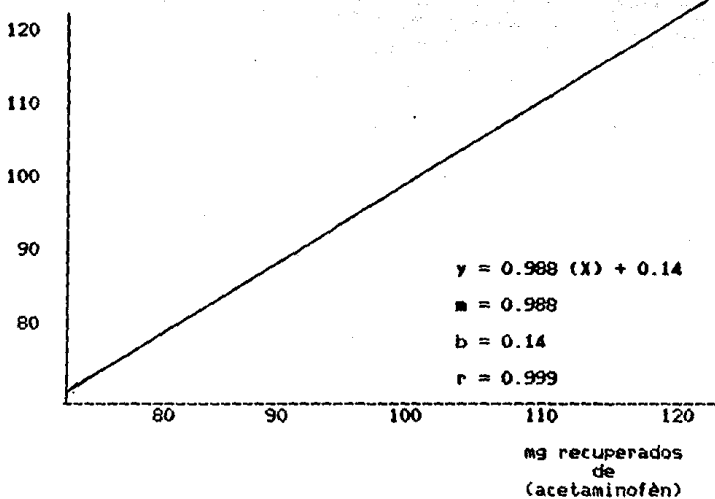
GRAFICA No 1
LINEARIDAD DEL SISTEMA

mg adicionados
de
(acetaminofèn)



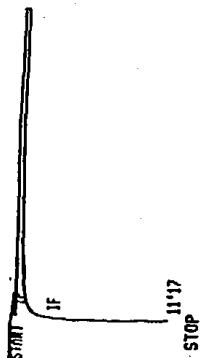
GRAFICA No 2
LINEARIDAD DEL METODO

mg adicionados
de
(acetaminofèn)



CROMATOGRAMAS DE ESPECIFICIDAD

1. CLOROFORMO



COLUMNA: OV-17 al 3% en Chromo
sorb WHP malla 100/120

TEMPERATURA DETECTOR: 300 ° C

TEMPERATURA INYECTOR: 300 ° C

TEMPERATURA COLUMNA : 280 ° C

VOLUMEN DE INYECCION: 1 ul

ATENUACION : 2

DETECTOR : IFD

FLUJO : 30 cc/min

GAS : Helio

Tr IF IF Solvente (Cloroformo).

1. CLOROFORMO
2. ACETAMINOFEN



COLUMNA: OV-17 al 3% en Chromo-
sorb WHP malla 100/120

TEMPERATURA DETECTOR: 300 °C

TEMPERATURA INYECTOR: 300 °C

TEMPERATURA COLUMNA : 280 °C

VOLUMEN DE INYECCION: 1 ul

ATENUACION : 2

DETECTOR : IFD

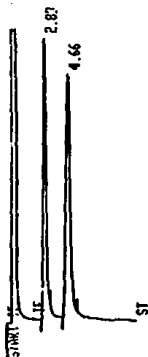
FLUJO : 30 cc/min

GAS : Helio

Tr IF IF Solvente (Cloroformo).

Tr 2.88 Acetaminofen Area 96277 Area% 100.0

1. CLOROFORMO
2. ACETAMINOFEN
3. PARA-AMINO-FENOL



COLUMNA: OV-17 al 3% en Chromo-
sorb WHP malla 100/120

TEMPERATURA DETECTOR: 300 °C

TEMPERATURA INYECTOR: 300 °C

TEMPERATURA COLUMNA : 280 °C

VOLUMEN DE INYECCION: 1 ul

ATENUACION : 2

DETECTOR : IFD

FLUJO : 30 cc/min

GAS : Helio

Tr IF IF Solvente (Cloroformo).

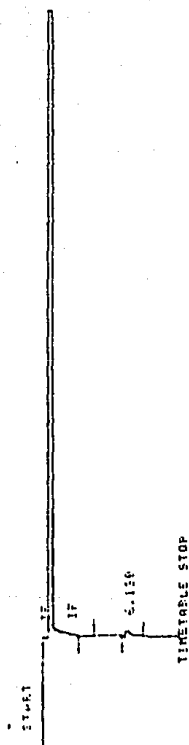
Tr 2.89 Acetaminofen Area 96277 Area % 42.536

Tr 4.66 Para-Amino-Fenol Area 132470 Area % 57.464

Area Total = 228747

EXTRACCION EN PLACEBOS NO CARGADOS

1. CLOROFORMO
2. IMPUREZA



COLUMNA: OV-17 al 3% en Chromo-
sorb WHP malla 100/120

TEMPERATURA DETECTOR: 300 °C

TEMPERATURA INYECTOR: 300 °C

TEMPERATURA COLUMNA : 280 °C

VOLUMEN DE INYECCION: 1 ul

ATENUACION : 2

DETECTOR : IFD

FLUJO : 30 cc/min

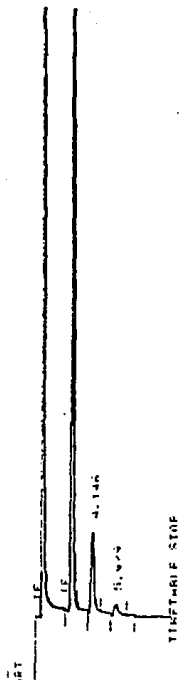
GAS : Helio

Tr IF IF Solvente (Cloroformo).

Tr 6.103 Impureza (no determinada).

pH de 0 a 2 con H₂SO₄ a 60 °C

1. CLOROFORMO
2. ACETAMINOFEN
3. PARA-AMINO-FENOL
4. IMPUREZA



COLUMNA: OV-17 al 3% en Chromo-
sorb WHP malla 100/120

TEMPERATURA DETECTOR: 300 °C

TEMPERATURA INYECTOR: 300 °C

TEMPERATURA COLUMNA : 280 °C

VOLUMEN DE INYECCION: 1 ul

ATENUACION : 2

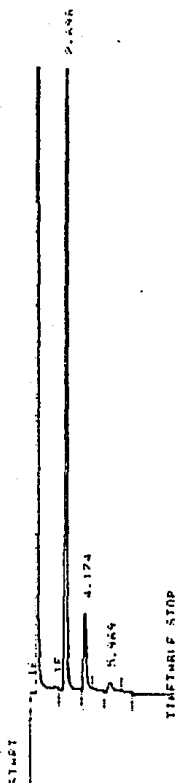
DETECTOR : IFD

FLUJO : 30 cc/min

GAS : Helio

Tr	IF IF	Solvente (Cloroformo).			
Tr	2.676	Acetaminofen	Area	506234	Area % 80.010
Tr	4.146	Para-Amino-Fenol	Area	121488	Area % 19.201
Tr	5.929	Impureza	Area	4987	Area % 0.788
			Area Total =	632709	

PH de 10 a 12 con NaOH a 60 °C



1. CLOROFORMO
2. AGETAMINOFEN
3. PARA-AMINO-FENOL
4. IMPUREZA

COLUMNA: OV-17 al 3% en Chromo-
sorb WHP malla 100/120

TEMPERATURA DETECTOR: 300 °C

TEMPERATURA INYECTOR: 300 °C

TEMPERATURA COLUMNA : 280 °C

VOLUMEN DE INYECCION: 1 ul

ATENUACION : 2

DETECTOR : IFD

FLUJO : 30 cc/min

GAS : Helio

Tr IF IF Solvente (Cloroformo).

Tr 2.898 Acetaminofèn Area 395360 Area % 85.793

Tr 4.174 Para-Amino-Fenol Area 55955 Area % 12.142

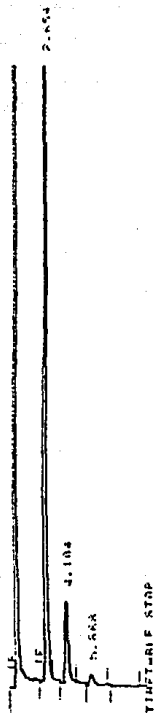
Tr 5.969 Impureza Area 9517 Area % 2.065

Area Total = 460832

CONDICIONES MAS DRASTICAS

PH de 0 a 2 con H₂SO₄ a 80 °C

1. CLOROFORMO
2. ACETAMINGFEN
3. PARA-AMINO-FENOL
4. IMPUREZA



COLUMNA: OV-17 al 3% en Chromo-
sorb WHP malla 100/120

TEMPERATURA DETECTOR: 300 °C

TEMPERATURA INYECTOR: 300 °C

TEMPERATURA COLUMNA : 280 °C

VOLUMEN DE INYECCION: 1 ul

ATENUACION : 2

DETECTOR : IFD

FLUJO : 30 cc/min

GAS : Helio

Tr IF IF Solvente (Cloroformo).

Tr 2.654 Acetaminofèn Area 419572 Area % 85.695

Tr 4.104 Para-Amino-Fenol Area 59897 Area % 12.231

Tr 5.868 Impureza Area 10159 Area % 2.074

Area Total = 489728

CONDICIONES MAS DRASTICAS

pH de 10 a 12 con NaOH a 80 °C



1. CLOROFORMO
2. ACETAMINOFEN
3. PARA-AMINO-FENOL
4. IMPUREZA

COLUMNA: OV-17 al 3% en Chromo-
sorb WHP malla 100/120

TEMPERATURA DETECTOR: 300 °C

TEMPERATURA INYECTOR: 300 °C

TEMPERATURA COLUMNA : 280 °C

VOLUMEN DE INYECCION: 1 ul

ATENUACION : 2

DETECTOR : IFD

FLUJO : 30 cc/min

GAS : Helio

Tr IF IF Solvente (Cloroformo).

Tr 2.602	Acetaminofèn	Area 222863	Area % 85.235
Tr 4.085	Para-Amino-Fenol	Area 33096	Area % 12.658
Tr 5.879	Impureza	Area 5509	Area % 2.107
		Area Total = 261468	

11. ANALISIS DE RESULTADOS

LINEARIDAD DEL SISTEMA

Los resultados obtenidos se presentan en la grafica No 1 y el análisis de los datos en la tabla No 1, observando que la pendiente es igual a 0.949, la ordenada al origen de 5.13 y el coeficiente de correlación igual a 0.9971, a su vez, realizando estadísticamente a través de la prueba "t" de Student, se observa que no existe significancia estadística por lo que se demuestra que el sistema es lineal.

Con una pendiente igual a uno se evalúa el grado de asociación de la respuesta, la recta generada a un ángulo de 45° , desprende que las respuestas son proporcionales. Esto es si se adicionan 20 mg en estas condiciones se recuperan aproximadamente 20 mg, si se adicionan 50 mg se recuperan 50 mg y así sucesivamente.

PRECISION DEL SISTEMA

Para evaluar estadísticamente la precisión del sistema se consideraron los datos del porcentaje de recobro analizandolo por el parámetro de χ^2 , Tabla No 2. De acuerdo con los resultados, se aprecia que los datos obtenidos, se encuentran dentro de el criterio de aceptación observándose que no existe significancia estadística por lo que se demuestra la precisión del sistema.

LINEARIDAD DEL METODO

Los resultados obtenidos se presentan en la gráfica No 2 y el análisis de los datos en la tabla No 3, observando que la pendiente es igual a 0.988, la ordenada al origen de 0.14, y el coeficiente de correlación igual a 0.9996, a su vez realizando estadísticamente a través de la prueba "t" de Student, se observa que no existe significancia estadística por lo que se demuestra que el método es lineal.

EXACTITUD DEL METODO

Para evaluar estadísticamente la exactitud del método se consideraron los datos a través del porcentaje de recobro, analizándolos por el parámetro de "t" de Student, Tabla No 4. De acuerdo a los resultados, se aprecia que los datos obtenidos se encuentran dentro de el criterio de aceptación, demostrando que el método es exacto, y que no existe significancia estadística.

REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

Para conocer la variabilidad de los datos se analizó por triplicado cada muestra con una misma concentración del 100% por dos analistas en diferentes días y se llevo a cabo un análisis de varianza. De los resultados obtenidos los cuales se presentan en la tabla No 5, siendo el valor de "F" calculada para todos los tratamientos (analista, día, analista-día), menor que el valor de "F" teórica a un nivel de significancia de 0.05, por lo cual comprobamos estadísticamente que el método es reproducible.

ESPECIFICIDAD

No de muestras	disolvente	aceta- minofen:	para amino- fenol:	pla- cebo	2 semanas a 60 ° C		3 meses a 80 ° C	
					H ₂ SO ₄	NaOH	H ₂ SO ₄	NaOH
3	CHCl ₃	---	---	---	---	---	---	---
3	CHCl ₃	100%	---	---	---	---	---	---
3	CHCl ₃	45%	55%	---	---	---	---	---
6	CHCl ₃	---	---	&	---	---	---	---
3	CHCl ₃	100%	---	&	&	---	---	---
3	CHCl ₃	100%	---	&	---	&	---	---
3	CHCl ₃	100%	---	&	---	---	&	---
3	CHCl ₃	100%	---	&	---	---	---	&

& indica en la tabla lo que se llevo a cabo durante el desarrollo experimental, donde el No de muestras es el número de inyecciones inyectadas al cromatógrafo.

12. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se desprende que se desarrolló un método cromatográfico que cumple con los requerimientos de linealidad en un rango de 80 a 120 mg/ml, repetible y reproducible entre día y analistas, exacto entre el intervalo de confianza (99.6 <100.7< 101.8), específico para ser utilizado como método indirecto de estabilidad así como método de rutina en pruebas de control de calidad.

Dado que el método desarrollado también presenta características de sencillez, rapidez y economía (en comparación con cromatografía de líquidos de alta resolución), se propone para que sea considerado como un método alternativo en el análisis de acetaminofen, su utilización dependerá de la forma farmacéutica, recursos disponibles y del tiempo que se disponga para llevarlo a cabo.

13. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Goodman, L. S., and Gilman, A. "THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS", 7a Edithion, mac-Millan N.Y. (1968).
- 2.- THE MERCK INDEX , Ten edition, MERCK & Co RALHWAY. U.S.A.
- 3.- SECRETARIA DE SALUD, COLEGIO NACIONAL DE QUIMICOS FARMACEUTICOS BIOLOGOS, "Conclusiones de las mesas redondas sobre los requisitos minimos para las pruebas de estabilidad en medicamentos" Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas Vol. 18 No 3 Sep. de 1987, pag. 20 a 26.
- 4.- Spiegel R. M., "ESTADISTICA" , Mc Graw-Hill Mèxico D.F. (1978).
- 5.- Dr. Leopoldo Moran Mendoza "ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE ACETAMINOFEN SUSTANCIA DE REFERENCIA" Mayo 1984, Volumen 14, No 4, paginas 15-24.
- 6.- Danilo Clavijo, Augusto Rivera. "DESARRROLLO DE UN METODO ANALITICO POR CROMATOGRAFIA DE GASES PARA LA DETERMINACION DE METRONIDAZOL EN TABLETAS", Agosto de 1986, Volumen 17, No 2, pag. 21-24.
- 7.- Q.F.B. Ma de Lourdes Garzon Serra, Q. Jaime Saavedra C., "ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE LA DIFENILHIDANTOINA EN SUSPENSION POR CROMATOGRAFIA DE GASES"., Abril de 1987, Volumen 18, No 1, pag. 7-11.
- 8.- Tesis "VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA CONCENTRADO DE COBRE"., Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza. Mèxico D. F. 1986, 24-86-09.

- 9.- SECRETARIA DE SALUD, "AVANCES DE LOS TRABAJOS DEL COMITE DE ELABORACION DE GUIAS OFICIALES DE VALIDACION"., Julio 1988, México.
- 10.- Kenneth A. Connors.; Gordon L. Amidon; "CHEMICAL STABILITY OF PHARMACEUTICAL", A Wiley-Interscience publication, Printed in the United States of America 1976., pag. 123 a 127.
- 11.- Sidney Williams, " OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS", Fourteenth Edition, Arlington Virginia 22209 USA 1984, pag. 720.
- 12.- SECRETARIA DE SALUD "FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS", Quinta Edición, México 1988, paginas 1378 a 1379 .
- 13.- THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, TWENTY-FIRST REVISION, UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, INC. Meeting at Washington, D. C., April 17-19, 1980, paginas 11 a 14 .
- 14.- Harol M. Mc Nair., "CROMATOGRAFIA DE GASES", Secretaria General de la Organización de los Estados Unidos Americanos, Programa regional de Desarrollo Científico y Tecnológico Washington, D. C., 1981.
- 15.- Hobart H. Willard., "METODOS INSTRUMENTALES DE ANALISIS", Segunda edición, Editorial Continental, México 1980, pag. 561 a 600.
- 16.- Douglas A. Skoog., "ANALISIS INSTRUMENTAL", Primera edición, Editorial Interamericana, México 1975, pag. 648 a 665.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 17.- Gas Chromatography Catalog No 21 "VARIAN", International Edition, Palo Alto CA 94303, 1988, paginas 50 a 66.
- 18.- Hernandez N. A., "ESTUDIO COMPARATIVO DE METODOS ANALITICOS PARA EVALUAR CLORHIDRATO DE RANITIDINA EN JARABE", Tesis, Mexico D. F., Junio 1988 .
- 19.- Q.F.B. Graciela A., Alejandro A., Araceli G., Jose Luis G., Alfredo G., Catalina H., Norma G., Eloiza M., Silvia N., Ramon R., Evelyn S., " REQUISITOS MINIMOS PARA LA VALIDACION DE METODOS ANALITICOS", Colegio Nacional de Quimicos Farmaceuticos Biologos Mexico, A.C. 1988.
- 20.- Remingtons D. R., Schork, A. M., "ESTADISTICA BIOMETRICA Y SANITARIA", Editorial Prencice/Hall International. ESpaña 1977.
- 21.- Spiegel, R. M., "ESTADISTICA", Editorial Mc Graw-Hill Mexico D. F., 1978.
- 22.- Paul G. Hoel, "ESTADISTICA ELEMENTAL", Cuarta edición, Editorial Continental, Mexico 1979.
- 23.- Ya-Lun Chou, "ANALISIS ESTADISTICO", Segunda edición, Editorial Interamericana, Mexico 1986, pag. 771 a 778.