

49
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios
Profesionales Zaragoza

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO
PARA LA CUANTIFICACION DE OXALATO ACIDO DE NAFTA-
DROFURYL EN MICROGRANULOS DE ACCION PROLONGADA

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de
Químico Farmacéutico Biólogo
p r e s e n t a

MARIA ISABEL ZALDIVAR MORALES

México, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1991



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.

IINDICE.

	Pág	
I.	Introducción	1
II.	Fundamentación del tema	4
	1. Liberación	7
	2. Anatomía y fisiología del tracto gastro intestinal	19
	3. Programación del lugar de liberación de sustancias activas	29
	4. Ensayo de formas de liberación regulada.	36
	5. Desarrollo de un método analítico	40
III.	Planteamiento del problema	49
IV.	Objetivo	50
V.	Hipótesis	51
VI.	Desarrollo experimental.	
	1. Consideraciones previas	52
	2. Material	57
	3. Método Analítico	61
VII.	Validación.	
	1. Linealidad del sistema de medición	68
	2. Límite de detección	74
	3. Linealidad del método de medición	81
	4. Exactitud	92

	Pág.
5. Repetibilidad	92
6. Reproducibilidad	97
7. Especificidad	103
VIII. Resultados	104
IX. Análisis y discusión de resultados	112
X. Conclusiones	115
XI. Propuesta	117
Anexo	118
Bibliografía	123

I. INTRODUCCION

En los últimos años se han desarrollado métodos farmacéuticos que han dado lugar a un desarrollo altamente diferenciado en la producción de formas farmacéuticas de uso oral. Dicho desarrollo se inició con el perfeccionamiento de la dosificación de las sustancias activas, por la gran producción de comprimidos y cápsulas, para continuar con la mejora de la estabilidad, apariencia y sabor de los mismos, mediante el recubrimiento con grageados y películas. También se ha logrado la mejora de la desintegración y por ende la de la absorción empleando agentes desintegrantes adecuados y en algunos casos por micronización de las sustancias activas difícilmente solubles. Este desarrollo continúa con el diseño de formas farmacéuticas resistentes al jugo gástrico, que mejoran de gran manera la absorción de las sustancias activas.

Es entonces cuando surgen las formulaciones de acción prolongada, con la finalidad de obtener efectos terapéuticos prolongados, logrando una gran aceptación en el mercado farmacéutico debido a las siguientes ventajas [1]:

- Proporciona rápidamente una concentración plasmática de fármaco en una cantidad suficiente para lograr el efecto terapéutico deseado.

- Tratamiento continuo, escalonado, evitando la necesidad de las

tomas nocturnas.

- Mantiene el efecto terapéutico del fármaco por un período de tiempo mayor al que se logra con una forma farmacéutica de dosis única al mantener constante la concentración plasmática del fármaco, evitando fluctuaciones producidas con la administración de varias dosis simples.

- Disminución o suspensión de los efectos secundarios provocados por la liberación rápida de una fuerte dosis que provoca un pico plasmático elevado, mientras que en los valles, la respuesta terapéutica puede ser insuficiente.

Todas estas ventajas se obtienen mediante el buen diseño de la forma farmacéutica en la cual sea posible programar la velocidad de liberación del fármaco, a través de procesos tecnológicos confiables, como es el caso de obtener las llamadas "microesferas" que consisten en pequeños cuerpos esféricos en los que va contenido el fármaco y que son recubiertos con diversos tipos de sustancias en forma de películas finas y de las cuales es básico controlar su disolución en los jugos gastrointestinales y su permeabilidad [1].

En consecuencia el farmacéutico es la persona responsable de que el valor terapéutico de una sustancia activa desarrolle toda su potencia y

es por ello que además de elaborar un buen diseño de la forma farmacéutica debe de poner sumo cuidado en el control analítico de la misma, diseñando para ello métodos analíticos confiables, que además de ser exactos y precisos, sean rápidos y cuenten con un bajo costo de análisis.

II. FUNDAMENTACION DEL TEMA

Hace ya muchos años se planteó por primera vez la necesidad de mantener el efecto terapéutico de un fármaco durante un tiempo prolongado y es por ello que se han introducido en el campo farmacéutico una serie de medicamentos de administración oral que cumplan con tal objetivo.

Recientemente la misma necesidad se ha presentado con algunos fármacos cuya vida media en el organismo es muy corta y de los cuales se necesita una acción prolongada.

Se cita el año de 1952, como la fecha de aparición de la primera forma farmacéutica de acción prolongada de uso oral en los Estados Unidos de Norteamérica. Desde esa fecha la investigación científica y tecnológica realizada en la industria farmacéutica, ha permitido desarrollar una serie de formas farmacéuticas de acción prolongada de uso oral [13].

La elaboración farmacéutica correcta es decisiva para que la sustancia ejerza su acción terapéutica óptima. Las sustancias activas deben ser suficientemente estables, desde la producción de la forma farmacéutica hasta su toma por el enfermo, debiendo liberarse con seguridad en el organismo y absorberse por completo para llegar, en la concentración necesaria, al sitio de acción. Por ello es necesario tener muy en cuenta la biodisponibilidad biológica, ya que es la que indica la cantidad de sustancia activa administrada que puede absorberse por el organismo, absorción que presupone

exactitud de dosificación y estabilidad de almacenamiento suficiente, a ello se añade el requisito de tener en el lugar de acción concentraciones de medicamento terapéuticamente activas, por lo que es necesario evitar tanto hiperconcentraciones tóxicas del activo, como la insuficiencia del mismo [3].

Para cumplir con estos requisitos se han desarrollado medicamentos de liberación programada, entendiéndose por liberación programada de sustancias activas a la liberación selectiva en cuanto al tiempo y al sitio del tracto gastrointestinal [3].

Una forma de acción sostenida es aquella que libera inicialmente una cantidad de principio activo suficiente para alcanzar la respuesta farmacológica deseada, tan rápido como lo permitan las propiedades del fármaco que condicionan su absorción. El valor terapéutico de estas formas farmacéuticas se mide por la seguridad de su efecto terapéutico en el paciente, y el resultado será tanto mejor, cuanto menos problemática sea la administración, menores los efectos secundarios y mayores las concentraciones plasmáticas que dentro de márgenes terapéuticos puedan mantenerse constantes durante un tiempo mayor [1].

Es importante tener en cuenta algunos aspectos relacionados con las propiedades cinéticas del fármaco, tales como: La liberación, la disolución y absorción. Ya que es necesario comprender con claridad estos fenómenos, para el desarrollo, diseño y evaluación de estas formas farmacéuticas.

Las fases biofarmacéuticas pueden describirse descomponiéndose en tres etapas; la liberación, disolución y absorción.

MEDICAMENTO =

Principio activo	Dispersión	Dispersión	
+ Excipientes	----- sólida del p.a	-----moléculas del p.a	--SANGRE
+ Tecnología	LIBERACION	DISOLUCION	ABSORCION

Liberación: El medicamento constituye una reserva inicial del principio activo, al nivel del lugar de administración que se comporta como un depósito del que necesariamente sale el fármaco (Sistema de liberación), dicha liberación se efectúa bajo la influencia del medio biológico y de las condiciones mecánicas del lugar de administración.

Disolución: Es la formación de una dispersión molecular acuosa que permitirá una absorción posterior.

Absorción: Consiste en el paso de las moléculas del principio activo desde el lugar de administración hasta la circulación sanguínea, a través de una barrera biológica. Dicha absorción no se puede efectuar si no es a partir de una dispersión molecular del fármaco en el medio biológico del lugar de administración, es decir a partir de una solución acuosa. Si bien es sabido que en el estómago se presenta la absorción, el intestino delgado representa el sitio primario de absorción para un fármaco, y, cualquier proceso que incremente la velocidad de vaciado del fármaco del estómago al intestino, aumentará la absorción [1,8,19,25].

1. LIBERACION.

A. TERMINOLOGIA DE LAS FORMAS ORALES DE LIBERACION REGULADA.

Es importante dejar bien definida la diferencia que existe entre las formas de liberación retardada o diferida del principio activo, y las formas de liberación escalonada en el tiempo. Las primeras consisten en preparaciones gastrorresistentes enterosolubles, y son el resultado de una programación en cuanto al lugar de administración pero no del tiempo. Las segundas son las preparaciones de liberación que idealmente deben de liberar su principio activo tan continuamente como sea posible, independientemente del lugar en que se encuentre la forma farmacéutica o de la velocidad de vaciado desde el estómago al intestino.

Existen diversos términos que sirven para describir estas formas y el modo de liberación del principio activo, pero la clasificación más aceptada es la siguiente. según Nelson [1]:

a) Una forma de liberación o de acción sostenida; es una forma que libera inicialmente una cantidad suficiente del principio activo biodisponible para alcanzar la respuesta farmacológica deseada, tan rápido como sea posible; una preparación de liberación sostenida debe de ser formulada de tal manera que la velocidad de liberación del fármaco, después del establecimiento de la concentración inicial, sea igual a la velocidad de eliminación o de inactivación.

b) Las preparaciones de acción prolongada, son aquellas en las que el principio activo es inicialmente biodisponible en una cantidad, ya sea suficiente o en exceso (pero no peligrosa), respecto a la cantidad necesaria para producir la respuesta terapéutica deseada; estas formas liberan el principio activo a una velocidad tal que provoque un aumento apreciable de la duración de la acción en relación a una dosis única normal.

c) Las preparaciones de acción repetida, son aquellas que proveen de una dosis única normal de principio activo, y están diseñadas para liberar otra dosis simple, en un determinado momento después de la administración. Fig 2.1.

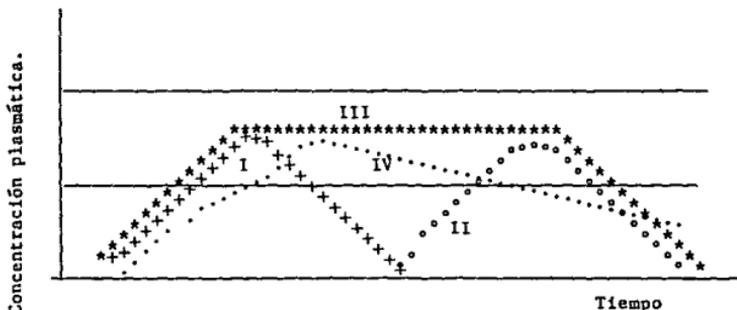


Fig 2.1. Diferentes perfiles plasmáticos teóricos correspondientes a la liberación regulada. I Dosis única normal(+++). II Forma de retardo o una segunda dosis de una forma de acción repetida (ooo). III Formas de liberación sostenida (***). IV Formas de acción prolongada (.....).

B. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LAS FORMAS DE LIBERACION REGULADA.

Las ventajas más evidentes son las siguientes [1]:

a) Simplificación de la posología por disminución de las tomas cotidianas de medicamento, proporcionando comodidad para el enfermo y para las personas que lo cuidan, así como disminución de los riesgos, errores y olvidos,

b) Tratamiento continuo, escalonado, evitando la necesidad de las tomas nocturnas.

c) Disminución o suspensión de los efectos secundarios provocados por la liberación rápida de una fuerte dosis.

d) Eficacia superior por la prolongación de los niveles eficaces para los principios activos con tiempo de semivida biológica corta (menor a 6 horas); además economía del medicamento, ya que no es necesario aumentar la dosis, para obtener niveles elevados que prolongen más tiempo el efecto.

e) Fármacos que son absorbidos según un proceso saturable, son absorbidos mejor si son administrados en una forma de eliminación lenta, es el caso de la tiamina.

Los inconvenientes o desventajas son [1]:

a) Riesgo de acumulación si la velocidad de eliminación es lenta y si se debe de mantener el fármaco por 24 horas.

b) Dificultad de eliminar rápidamente al fármaco en caso de intoxicación grave o intolerancia.

c) Modificación del esquema de liberación cuando la formulación no se ingiere entera, por ser fraccionada, triturada o masticada. El riesgo es una sobredosificación intempestiva, peligrosa si el activo es muy riesgoso y una consecutiva subdosificación.

d) El gran costo que se presenta desde su fabricación hasta su control analítico, esto significa un gran gasto en cuanto a materiales de recubrimiento, maquinaria específica y sus ensayos analíticos cuando es sometido a control de calidad.

C. DISTINTOS MECANISMOS DE LIBERACION.

a) Liberación discontinua; se obtiene por recubrimiento de los distintos soportes del principio activo (comprimidos, granulados, microgránulos, polvos, líquidos, micelas). En estas preparaciones generalmente se asocian varias fracciones recubiertas del fármaco, capaces de liberarlo a intervalos regulares y definidos.

La liberación se programa tomando en cuenta las propiedades fisiológicas del tracto gastrointestinal (pH, secreciones, actividad enzimática, tiempo de tránsito) y las propiedades fisicoquímicas del recubrimiento, (pH de disolución, hidrólisis enzimática, solubilidad) [1].

Son diversos los procedimientos de recubrimiento que se usan, los cuales condicionan la liberación mediante las propiedades ya mencionadas, dichos procedimientos consisten en aplicar, sobre una o varias fracciones del principio activo, recubrimiento con tiempos de desintegración o velocidad de disolución creciente [1,4].

En el aparato digestivo la capa de material de recubrimiento de disgrega rápidamente, dejando libre una dosis inicial de principio activo, para obtener un efecto inmediato, y al cabo de cierto tiempo y por consecuencia de la disolución del recubrimiento del núcleo en el intestino, se disgrega y se libera una nueva dosis del fármaco. Estas formas presentan pocas ventajas terapéuticas, a excepción de las tomas repetidas nocturnas.

b) Liberación continua; El mecanismo básico es principalmente la difusión.

b.1. Difusión por diálisis, a través de una membrana permeable (recubrimiento " barrera ") este tipo de liberación puede obtenerse aplicando sobre los comprimidos o microgránulos un recubrimiento llamado " barrera " que se encuentra constituida por una película de recubrimiento insoluble en condiciones fisiológicas, pero que realiza la función de membrana permeable, dejando difundir progresivamente el fármaco hacia el medio exterior por un proceso de diálisis [1,4].

Por ello la liberación del principio activo depende de la permeabilidad de la membrana. La difusión a través de la membrana es después de que se dilate la misma y se realiza a través de los poros, los cuales se forman durante el hinchamiento del agente de recubrimiento en el medio digestivo o por la disolución de constituyentes hidrosolubles, incluidos en la película, durante la preparación.

La permeabilidad está relacionada con :

- Tipo de agente de recubrimiento.
- Presencia o no de plastificante.
- Presencia o no de sustancia de carga.
- Presencia o no de humectante.
- Presencia o no de agentes hidrófilos formadores de microporos.
- La polaridad del recubrimiento.

- Con el espesor de la membrana.
- Con su superficie.

La liberación del fármaco se efectúa en tres etapas:

- Penetración del medio de disolución a través de la membrana, con un posterior hinchamiento de esta, que induce un cierto periodo de latencia.
- Disolución del principio activo en el interior del microgránulo.
- Difusión hacia el exterior, a través de la membrana, del principio activo disuelto.

La relación que rige la difusión del principio activo a través de la membrana, se basa en la ley de fick [1].

$$\frac{dQ}{dt} = - D * S \frac{dc}{dx}$$

En donde: $\frac{dQ}{dt}$ = Velocidad de difusión.

y Dc/dx = El gradiente de concentración.

$$Q = \frac{D}{e} * S (c_1 - c_2) t$$

En donde :

D = Coeficiente de difusión del producto a través de la membrana de espesor e

S = Superficie de difusión.

Q = Cantidad de principio activo que pasa la barrera por unidad de tiempo.

c_1 y c_2 = Representan las concentraciones del fármaco a un lado y a otro de la membrana (c_1 en el interior de la forma farmacéutica y c_2 en el medio exterior).

b.2. Difusión a partir de las matrices inertes insolubles: El principio activo en forma de polvo está comprimido, mediante distintas técnicas, después del recubrimiento, granulado, mezcla, etc, con uno o varios excipientes insolubles o materias plásticas inertes e insolubles(cloruro de polivinilo, polimetacrilato de metilo) o agentes de recubrimiento insolubles(etilcelulosa, eudragit retard) [1,4].

El principio activo también puede disolverse en la materia plástica antes de ser comprimido, y después de la compresión se obtiene una forma

porosa, sólida, inerte, no digerible e insoluble en los jugos gástricos.

Después de la ingestión, cuando el comprimido llega al estómago se libera rápidamente una cantidad de principio activo contenido en uno de los canales superficiales y provee una dosis inicial para obtener un efecto inmediato, cuando los líquidos digestivos penetran en los canalículos y disuelven al fármaco, éste difundirá hacia el exterior, a través de los poros. O sea que los líquidos lavan los canalículos

A medida que se libera el fármaco de la matriz, la distancia que debe de recorrer el mismo para abandonar la matriz es mayor, la liberación depende de las características de solubilidad y difusión del principio activo y de la velocidad de penetración de los líquidos digestivos en los canalículos, la influencia de las condiciones del medio (pH, concentración iónica, actividad enzimática o motilidad gastrointestinal) es mínima o nula.

b.3. Difusión a partir de una matriz hidrófila; estas matrices se obtienen por medio de la mezcla de un fármaco relativamente soluble, con un polímero o goma hidrófila no digerible, agente que se hidrata y se hincha al ponerse en contacto con los líquidos digestivos, formando una membrana gelificada a través de la cual difunde progresivamente el fármaco, la liberación tiene lugar en cuatro fases:

- Penetración del medio de disolución en el comprimido con liberación simultánea de una pequeña cantidad del principio activo.

- Hinchamiento de la goma hidrófila por absorción de agua y forma
ción de una barrera gelificada que disminuye la velocidad de liberación.

- Penetración del medio en zonas profundas del comprimido por difu
sión a través de la barrera gelificada y disolución del principio activo.

- Difusión del principio activo hacia el exterior a través de la
barrera gelificada.

La penetración del medio al comprimido depende de la porosidad de
éste y el paso a través de la capa gelificada, y por ello es evidente
que la liberación depende de las propiedades fisicoquímicas del principio
activo.

b.4. Erosión y difusión a partir de matrices hidrófobas; El principio
activo se suspende en una matriz lipídica, en la cual queda secuestrado
" incrustado ", a continuación la suspensión se granula y se comprime.

Cuando el comprimido se ingiere el esqueleto se destruye lentamente
por erosión, a consecuencia de la hidrólisis enzimática de los constituyen
tes grasos. El pH y las enzimas pueden tener una gran influencia en la hi
drólisis que depende del tipo de cuerpo graso utilizado.

El principio activo se libera de forma continua mediante un doble
mecanismo.

- Erosión ininterrumpida de la superficie del comprimido y disolución del principio activo.

- Difusión lenta del activo hacia el medio exterior.

El comprimido no se disgrega, conserva su forma original a lo largo de todo el tránsito por el tracto gastrointestinal, sólo se observa una disminución continua, mientras que la superficie del comprimido disminuye gradualmente, la liberación se encuentra controlada por la naturaleza y proporción de excipientes grasos, el tamaño del gránulo y su cantidad, la granulometría y la solubilidad del principio activo, así como la fuerza de compresión, también está influenciada por el pH y el equipo enzimático.

b.5. Elución a partir de complejos poco solubles; usando resinas intercambiadoras de iones, para prolongar el efecto de los fármacos, se fundamenta en la lentitud de desplazamiento de los fármacos a partir de complejos insolubles que se forman con las resinas.

Los principios activos básicos se fijan sobre las resinas aniónicas o catiónicas; en general copolímeros de estireno.

Los fármacos acomplejados por las resinas se eluyen siguiendo una reacción de doble descomposición por los iones presentes en los líquidos

digestivos, la liberación es continua y depende del pH y de la concentración total de electrolitos en el medio gastrointestinal.

Estas resinas sólo pueden utilizarse para fármacos ionizados y que sólo se fijan a cantidades limitadas de iones, de tal manera que dichas resinas se reservan para fármacos que se administran a bajas dosis.

2. ANATOMIA Y FISIOLOGIA DEL TRACTO GASTROINTESTINAL.

A. ESTOMAGO.

Consiste en una bolsa amplia de aproximadamente 25 cm de longitud por 10 cm de ancho cuando se encuentra vacío y con un volumen de 1 a 1.5 litros en un adulto normal. Se encuentra dotado de una actividad tónica, aunque sus paredes se pegan cuando se encuentra vacío, cuando se llena el tono disminuye y el estómago aumenta de volumen, tomando la forma de una " J " [1,8,25].

La pared estomacal de 3 mm de espesor, está constituida por diversas capas; una muscular, que comprende la capa externa de fibra muscular longitudinal y una capa interna circular, otra de las capas es mucosa, y es la más importante desde el punto de vista biofarmacéutico. Su aspecto es como el de un panal de miel, por lo pliegues que forma.

La capa mucosa esta formada por cuatro tipos de células secretoras:

- Las células principales que secretan pepsina y el fermento lab
- Las células del borde que secretan iones H^+ y Cl^- .
- Las células epiteliales que segregan un mucus muy viscoso.
- Las células mucosas y mucoides de secreción alcalina (aproximadamente 20 meq/ Lt de alcalinidad).

La secreción del jugo gástrico se realiza mediante un triple proceso; mecánico (contacto de los alimentos con la pared gástrica), hormonal (secreción de gastrina) y nervioso.

Las secreciones estomacales son:

- Enzimas; Pepsina que se secreta como proenzima " pepsinógeno " que es inactivo y lentamente se transforma en pepsina activa cuando el pH es inferior a 6.0, la pepsina inicia la degradación de las proteínas, por lo que se inicia la degradación de las cubiertas de gelatina de las cápsulas, destruye principalmente activos peptídicos o proteicos como; la oxitomicina, la insulina y los sueros.

La captesina es una enzima proteolítica. Su pH óptimo es de 3 a 5.

El fermento lab es una enzima que coagula a la leche, y en términos de biodisponibilidad no es muy importante.

la lipasa es una enzima poco eficaz.

Acido clorhídrico, es secretado por las células del borde y tiene una concentración de 0.5 N pero se diluye rápidamente con otras secreciones y el pH del jugo gástrico es de 1.0. La acidez del jugo gástrico condiciona la disolución y la ionización de algunos principios activos ácidos débiles y favorece la hidrólisis de algunos productos.

- Mucus: Es una substancia muy viscosa que es secretada junto con los bicarbonatos, tapiza toda la mucosa disminuyendo su viscosidad cuando el pH aumenta por arriba de 5 , el mucus posee un importante papel regulador, ya que 100 ml de mucus neutralizan 40 ml de ácido clorhídrico 0.1 N, el mucus es capaz de acomplejar a varios productos activos, pero su función principal es la de proteger a la mucosa gástrica contra la autodigestión por la pepsina.

- Agua: Se desplaza pasivamente desde las células hacia el jugo gástrico y se reabsorbe en el intestino.

- Jugo gástrico: contiene cloruros, sodio, potasio y calcio.

- Factor intrínseco: Es una mucoproteína termolábil, se combina con la vitamina B₁₂ permitiendo su absorción.

Según algunos investigadores, el estómago vacío de cualquier secreción y en ayunas, es capaz de segregar de 10 a 60 ml / hr de líquido ácido, la secreción gástrica puede tener lugar como respuesta a una estimulación vagal desencadenada; el buen olor, un aspecto atrayente. En un individuo en estado depresivo, la secreción aumenta paulatinamente, del principio al final de la comida.

El jugo gástrico posee un pH de 1.0 pero debido a la dilución que sufre puede ser de 1 a 3.

El movimiento gástrico: los movimientos del estómago son demasiado intensos, son ondas de contracciones que empiezan en la zona interna del estómago y se desplazan hacia el píloro donde son más profundas. Empiezan de 5 a 10 minutos después de la llegada de los alimentos al estómago, de 4 a 6 minutos llegando al píloro, los alimentos se acumulan en capas sucesivas, sin mezclas enérgicas. Existe un amasamiento en la superficie tanto de los alimentos como las formas farmacéuticas.

La liberación, la disolución y por lo tanto la absorción, no pueden ser rápidamente a nivel del estómago en la toma de un medicamento durante y después de una comida. Por el contrario en ayunas y junto con un vaso de agua la liberación, disolución y absorción son más rápidas.

B. INTESTINO DELGADO.

Se compone de tres partes: el duodeno, el yeyuno, el ileon, que son móviles, su diámetro es variable según el nivel (2 a 3 cm) y su longitud total varía de 5 a 9 metros y está rodeado de pliegues peritoneales [1,25].

El duodeno: es corto (doce dedos) está formado por varias partes acodadas, la primera yuxtapílorica, muy dilatada que constituye el bulbo duodenal, la segunda es un ensanchamiento llamado " Ampolla de Vater " y en ella desembocan el canal de Wirsung que proviene del páncreas y el colédoco que viene de la vesícula biliar y del hígado, vertiendo la bilis en el aparato digestivo.

El yeyuno y el ileon tienen aproximadamente 6 metros de largo y se encuentran replegados en 14 a 16 asas, aplanados cuando no contienen nada y toman una forma cilíndrica cuando pasa el bolo alimenticio.

La función principal del intestino es la de absorción y secreción, secreción de substancias que favorezcan la digestión y por ello el intestino se encuentra constituido por células de dos tipos:

- Células con función absorbente " enterocitos " son células cilíndricas, altas, con una meseta estriada.

-- Células con función secretora, como; las calciformes que segregan un mucus para proteger la mucosa intestinal frente a la acción de enzimas proteolíticas.

Las células enterocromafines, que segregan esterotonina, substancia que interviene en la motricidad intestinal.

Entre las velocidades se abren glándulas tubulares llamadas de Lieberkühn que reagrupan los tres tipos de células ya mencionados, así como las células secretoras de Paneth saturadas de voluminosas granulaciones de proenzima.

Al llegar las substancias procedentes del estómago al duodeno se cierra el píloro y empieza la secreción, al igual que se inicia el movimiento

intestinal.

El duodeno y las primeras partes del yeyuno tienen una función secre
tora, mientras que la segunda parte del yeyuno y el ileon poseen una función
de absorción.

Las secreciones intestinales no son las únicas también existen las
pancreáticas y vesiculares.

- Secreciones pancreáticas; procede del páncreas y es un líquido
viscoso y de pH alcalino, de aproximadamente de 8 a 9, contiene gran can-
tidad de bicarbonato (80 a 120 meq/ lt) . Es isotónico con el plasma y
su secreción es intermitente o nula en ayunas y se inicia desde la intro-
ducción de los alimentos a la boca y con el contacto del quimo ácido que
proviene del estómago. Su volumen de secreción es de 500 a 1,000 ml/día,
la mezcla de estas secreciones alcalinas y el quimo ácido da un pH de 5 a
6 en el duodeno y las primeras partes del yeyuno.

- Secreción biliar; la bilis es un líquido amarillo, viscoso de pH
igual a 6.0, en la vesícula biliar y de 7.0 a 7.5 a su llegada al duodeno,
es secretado en forma continua pero entre las comidas se almacena en la ve
sícula biliar, es vertida al duodeno por provocación por el contacto de
las peptonas y los lípidos sobre la pared intestinal, se produce por descar
ga cada 30 minutos durante 2 o 3 horas en el momento de la comida y se pro

longa durante 5 horas.

Secreciones intestinales; Es un jugo muy viscoso y su pH es de 8.0 ya que tiene una gran cantidad de bicarbonato, teniendo por ello un efecto amortiguador, su función es la de proteger la mucosa duodenal neutralizando el químo ácido que proviene del estómago.

Los jugos digestivos vertidos en el intestino delgado son generalmente alcalinos, alrededor de pH 8.0 esta alcalinidad neutraliza la acidez del quimo gástrico, aunque el contenido intestinal queda aún un poco ácido en el duodeno. El pH va aumentando progresivamente hasta neutralizar totalmente a medida que el quimo recorre el yeyuno, y hasta una ligera alcalinidad pH 7.5 a 8.0 en las últimas fracciones del íleon.

DUODENO	Bulbo	4.0 a 4.5 de pH
	Parte descendente	5.0 a 6.0 de pH
YEYUNO		6.0 a 7.0 de pH
ILEON		7.0 a 8.0 de pH

Es conveniente tomar en cuenta estos valores de pH en el momento de diseñar medios artificiales para la liberación y disolución de formas orales de acción controlada.

- Movimientos del intestino delgado: El bulbo duodenal no esta sometido a ningún movimiento, pero a partir del bulbo los movimientos son muy activos. Las ondas peristálticas acompañan al bolo alimenticio y lo hacen avanzar muy rápidamente, los movimientos son originados por varias capas longitudinales y circulares, también por una submucosa muy floja que permite cualquier fenómeno de deslizamiento y de plegamiento, y son de tres tipos [1,19].

Los movimientos de segmentación: Son contracciones que no hacen avanzar al quimo, pero lo mezclan con los jugos digestivos, aumentando el contacto con las vellocidades (con un consistente aumento de la absorción).

Los movimientos peristálticos; Se originan por la distensión del intestino, bajo la acción del volumen del bolo alimenticio, son ondas de contracción que se dan cada pocos minutos, originando algunas veces movimientos antiperistálticos que devuelven al estómago un poco del contenido duodenal.

Los movimientos pendulares; Estos movimientos afectan una porción del asa intestinal y contribuyen a homogeneizar el contenido del intestino y a esparcirlo sobre las paredes.

Otro de los factores importantes a tomar en cuenta es el tiempo de

transito del bolo alimenticio a lo largo del intestino; en el duodeno es de 5 a 15 minutos, de 2 a 3 hrs en el yeyuno y de 3 a 6 hrs en el ileón.
Fig 2.2.

		pH medio	Tiempo medio de permanencia.
Boca		6.7 - 7.0	2 - 10 seg , según la consistencia.
Esófago			
Estómago		1.0 - 2.0 en ayunas	pequeño volumen de líquido en ayunas
		3.0 durante la comida	de 10 mín - 60 mín Comida 1 a 8 hrs
Duodeno		4.0 - 6.0	de 5 a 15 mín
Yeyuno		6.0 - 7.0	de 30 mín a 2 ó 3 hrs.
Ileón		7.0 - 8.0	de 3 a 6 hrs.
Colón		7.0 - 8.0	Ciego y colón ascendente 1 hr. Colón transverso 3 hrs ó 4 hrs. Colón descendente 3 hrs.

Fig 2.2. Tiempo de tránsito y pH en el aparato digestivo.

La mayor parte de los medicamentos se tragan y llegan al estómago en donde se encuentran un medio más o menos ácido, según la alimentación, el jugo gástrico puro es ácido clorhídrico al 0.5 % con un pH de 1.0, pero en el estómago en ayunas y precindiendo de los enfermos hiperácidos apenas hay jugo gástrico y el segregado durante la comida queda intensamente taponado por los alimentos, sobre todo por las proteínas. El quimo formado después de la comida tiene al principio un pH de 5 que luego desciende poco a poco hasta llegar de 2 a 3 a medida que los componentes alimenticios van siendo impregnados por jugo gástrico [3].

Es interesante el salto que experimenta al pasar el quimo al duodeno en cuanto al pH, debido a la presencia de jugo pancreático y secreciones biliares llegando a valores aproximados de 6.0, conforme recorre el quimo los otros tramos del intestino delgado sigue aumentando paulatinamente el pH hasta llegar a un valor límite en el intestino grueso de 7.4.

La absorción de sustancias farmacéuticas tienen lugar de preferencia en forma de moléculas no disociadas y en el intestino se absorben con gran facilidad las bases débiles que predominan en forma no disociada a pH de 6 a 7.0 . Las sustancias ácidas débiles se absorben mejor en el estómago, pero los tramos superiores del intestino delgado están predestinados para la absorción, ya que en ellos también se absorven bien tales sustancias [25].

3. PROGRAMACION DEL LUGAR DE LIBERACION DE SUBSTANCIAS ACTIVAS.

La liberación se programa teniendo en cuenta las propiedades fisiológicas del sistema gástricointestinal (pH, secreciones, actividad enzimática, tiempo de tránsito) y las propiedades fisicoquímicas del material de recubrimiento (pH de disolución, hidrólisis enzimática y solubilidad).

Entre los agentes de recubrimiento se encuentran sustancias lentamente hidrodispersables o digeribles por las enzimas duodenales e intestinales, hidrolizables por las esterasas (ácidos y alcoholes grasos, como el ácido esteárico, ceras de carnauba, glicéridos naturales o semisintéticos, aceites hidrogenados, estearatos de glicerol) o sustancias sensibles a las proteasas (queratina, gluten o cefna) [1,3].

Otra categoría de los agentes de recubrimiento está constituida por polímeros gastrorresistentes, enterosolubles, tipo poliacrílicos, solubles en los pH duodenales e intestinales, como acetofalato de celulosa, los ftalatos de hidroxipropilcelulosa, los copolímeros del ácido metacrílico y de ésteres de ácido metacrílico (eudragit L y S) y los copolímeros del ácido maleico [1.3].

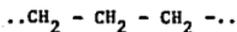
Estos recubrimientos biodegradables deben de considerarse especialmente cuando se quiere formular preparaciones de acción prolongada de un fármaco poco soluble.

Tabla II.1 Polímeros catiónicos, estructura química y mecanismo liberador.

Substancia.	Estructura Química.	Mecanismo liberador.
Goma laca	$\text{NH} - \underset{\text{R}}{\text{CH}} - \text{CO} - \text{NH} - \underset{\text{R}}{\text{CH}} - \text{CO}-$	Disolución en función del pH, desdoblamiento enzimático.
...- Glucosa -...		
Acetatoftalato de celulosa	$\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{O} - \text{O} - \text{CO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{C}(=\text{O}) - \text{O} -$	Disolución en función del pH, desdoblamiento enzimático.
Esterato de Glicerina.	$\begin{array}{l} \text{CH}_2 - \text{O} - \text{R} \\ \\ \text{CH} - \text{O} - \text{R} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{O} - \text{R} \end{array} \quad \text{R} = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_n - \text{CO}$ <p style="text-align: center;">z.TI. R = H</p>	Desdoblamiento enzimático, difusión.
Polímeros aniónicos.	$\text{C} - \text{CH}_2 - \underset{\text{COO}^-}{\overset{\text{R}}{\text{C}}} - \underset{\text{COOR}}{\overset{\text{R}}{\text{C}}} - \text{CH}_2 - \dots$ <p style="text-align: center;">O - H⁺</p>	Disolución en función del pH.

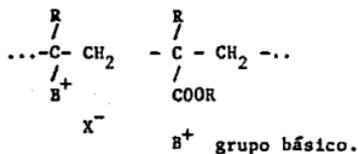
Substancia.	Estructura química.	Mecanismo liberador.
-------------	---------------------	----------------------

Parafina (cera microcristalina)



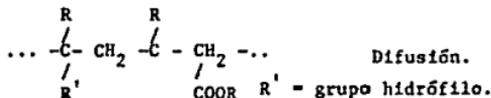
Difusión, desintegración.

Polímeros catiónicos.



Disolución en función del pH.

Polímeros permeables



Difusión.

En la tabla anterior (II-1), puede observarse la estructura quími
ca fundamental de un polímero catiónico. En el caso del eudragit E, los
grupos básicos están formados por grupos amínicos terciarios. A su lado
está representado un polimerizado aniónico con grupo carboxílico que
corresponde a la estructura fundamental del eudragit L y S. Estos grupos
funcionales son capaces de formar sales en determinadas condiciones de pH
de modo que por arriba de cierto grado de neutralización empiezan a disol
verse los polímeros. Con estas propiedades de solubilidad específicas y
dependiendo del pH es posible la liberación selectiva de sustancias acti
vas en un tramo del tracto gástrico intestinal determinado de antemano [3].

En el caso del eudragit E, con el cual puede lograrse un aislamiento
rápido de sustancias activas que se liberan rápidamente en el estómago
a pH menores de 5.0, no obstante el aislamiento rápido está limitado a
10 ó 15 minutos, ya que esta película, debido a sus grupos amínicos hidró
filos se hincha y permeabiliza sin formación de sales, propiedades que por
otro lado garantizan la liberación de sustancias activas por difusión o
la disgregación de las formas medicamentosas [26].

El eudragit L y S, son materiales de recubrimiento resistentes al
jugo gástrico y alcalinosolubles, retrasando de esta manera la disolución
de la forma medicamentosa resistentes al jugo gástrico, al tiempo que se
le desplaza a los tramos intestinales inferiores en dependencia del pH [20].

En general para las formas medicamentosas resistentes al jugo gástrico

se procura una disgregación lo más rápida posible en los tramos superiores del intestino delgado. Las normas de la Farmacopea recomiendan a veces " in vitro " jugos intestinales artificiales relativamente muy alcalinos pero que se acomodan poco a poco a las condiciones " in vivo " disminuyendo la alcalinidad. La Farmacopea Británica prescribe un jugo intestinal artificial de pH 6.8. También los tiempos de liberación deben de ser los más cortos posibles ya que " in vivo " suelen ser bastante mayores que " in vitro " [1,17].

Los medicamentos resistentes a jugos gástricos se clasifican bajo el concepto de formas medicamentosas de liberación retardada de sustancias activas, pero se distinguen de los preparados de larga duración, en los que la liberación de sustancias activas nes continua e independiente del lugar y de la rapidez de tránsito gástrointestinal [3].

Tabla II.2. Resinas acrílicas.

Tipo.	Campo principal de Aplicación.	Solubilidad Permeabilidad.	Nombre comercial.
EUDRAGIT E	Recubrimiento de <u>disgregación rápida</u> , <u>inpenetrable al sabor y olor</u> .	Soluble en jugo gástrico pH 5. hinchable y permeable a más de 5.	Eudragit E 12.5 Eudragit E 100
EUDRAGIT L	Recubrimiento <u>resistente al jugo gástrico</u> y a climas tropicales	Soluble en jugo intestinal a partir de pH = 6.	Eudragit L 12.5 Eudragit L 12.5 P Eudragit L 100
EUDRAGIT S	Recubrimiento <u>resistente al jugo gástrico</u> , retardados en función del pH.	Muy permeable	Eudragit S 12.5 P Eudragit S 12.5 Eudragit S 100
EUDRAGIT RL	Preparados retardados independientes del pH.	Muy permeable.	Eudragit RL 12.5 Eudragit RL 100 Eudragit RL pm

Tipo	Campo principal de aplicación.	Solubilidad. Permeabilidad.	Nombre comercial.
EUDRAGIT RS.	Preparados retard independientes del pH	Poco permeables	Eudragit RS 12.5 Eudragit RS 100 Eudragit RS PM

DISPERSIONES ACRILICAS ACUOSAS AL 30 %

EUDRAGIT E	Recubrimiento de disgregación rápida.	Hinchable y permeable.	30 %
------------	---------------------------------------	------------------------	------

EUDRAGIT L	Recubrimiento resistente al jugo gástrico.	Soluble en jugos intestinales a partir de 5.5 de pH.	30 %
------------	--	--	------

4. ENSAYO DE LAS FORMAS DE LIBERACION REGULADA.

A. " IN VITRO "

Los ensayos de disgregación no pueden ser aplicables, solo pueden realizarse ensayos de liberación y disolución. La elección del dispositivo está en función de la forma farmacéutica estudiada y sobre todo de la solubilidad del fármaco en el medio de liberación. Es necesario que el medio no se sature demasiado rápido [6].

El pH y la fuerza iónica del medio son muy importantes, siendo más importantes los métodos en los que se emplea un gradiente de pH en el medio de disolución ya que aportan datos más correctos, es así como las formas farmacéuticas que deben de liberar su principio activo durante 6 a 10 horas estarán sometidas a distintos valores de pH durante su tránsito gastrointestinal, pudiéndose emplear el método de semicambio de Muzel ó realizar ciclos de pH.

En ocasiones es necesario añadir enzimas en el medio de disolución para simular las condiciones reales del tracto gastrointestinal [1].

Para simular la motilidad del intestino puede emplearse la agitación, pudiendo tener o no influencia sobre la liberación, pero será sufi

ciente para facilitar la difusión del fármaco en el medio de disolución aunque no demasiado intensa para que no dañe a la forma farmacéutica, (sobre todo en el caso de matrices).

Los equipos más comúnmente empleados son; el de frascos giratorios de Souder y Ellenbogen [15,16].

El aparato " Diffutest " desarrollado para ensayar microcápsulas y que se basa en el mismo principio que el de frascos giratorios. Fig 2-4. el aparato consiste en una cámara cuadrada; provista de un termostato en su parte inferior y de un eje central que sostiene 8 canastillas 4 de frente y cuatro al mismo nivel pero por su parte trancera. Dichas canastillas son las que sostienen a los frascos cilíndricos de fondo plano (que miden 120 mm de altura por 25 mm de diámetro interno, y están provistos de una boca esmerilada y un tapón de plástico que posee unas ranuras en su parte exterior y proporciona un cierre hermético).

El eje central sostiene un termómetro de 25 a 50 °C con divisiones de 0.5 °C.

Las canastillas se encuentran diseñadas de tal forma que la longitud del eje de cada frasco forme un ángulo recto con el eje del otro frasco. La distancia entre los pares de canastillas es de 30 cm. También cada canastilla posee un cinturón metálico que permite sujetar a los frascos de las ranuras que posee su tapón.

El aparato se encuentra diseñado de tal manera que las canastillas giren a una velocidad de 30 r.p.m y además está provisto de un botón de apagado y encendido, de un botón controlador de temperatura y de una escala indicadora de temperatura.

Se pueden utilizar otros métodos, pero bajo la condición de que estén validados ; como el vaso de Levy o la célula de flujo continuo[1].

B. " IN VIVO "

Las formas de acción prolongada se ensayan en el hombre mediante la determinación de los niveles plasmáticos, de la cantidad excretada por la orina o por medio de ensayos clínicos que permitan seguir durante un intervalo de tiempo bastante largo, la liberación del principio activo y su actividad en el organismo [1].

El estudio debe de establecer una comparación entre:

- Administración de una dosis normal de principio activo.
- Administración de una dosis normal repetida durante el tiempo correspondiente a la duración de la acción de la forma farmacéutica.
- Administración de la forma de liberación controlada.
- Administración de una dosis de principio activo igual a la dosis total que existe en la forma de disponibilidad modificada.

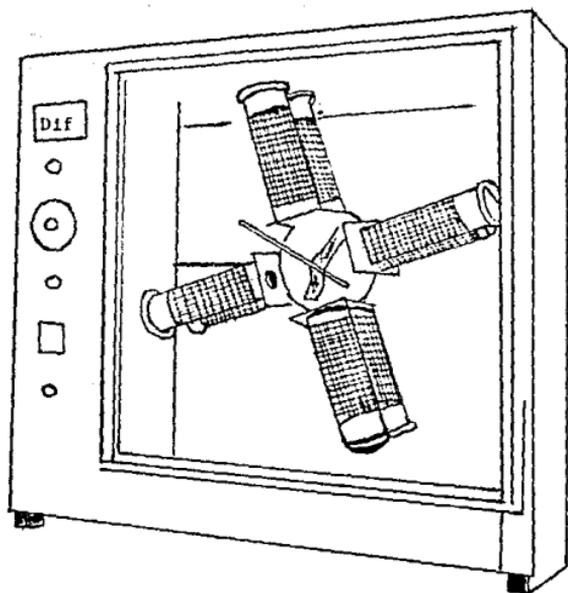


Fig. 2.4 Aparato Difutest.

5. DESARROLLO DE UN METODO ANALITICO.

A. TECNICAS ANALITICAS:

En general los análisis practicados en los laboratorios industriales farmacéuticos pueden dividirse en:

- Análisis de materias primas.
- Análisis de productos intermedios.
- Análisis de productos terminados.

En los tres casos las técnicas empleadas en los análisis podrán ser de tipo químico, físico-químico, microbiológico y biológico.

B. METODOS ANALITICOS:

En general los métodos analíticos que se llevan a cabo pueden comprender identificaciones, determinación de impurezas y valoración cuantitativa. Las características fundamentales que deben poseer los métodos analíticos son especificidad, sensibilidad, exactitud y precisión.

Los métodos analíticos pueden dividirse por su origen en cinco grupos:

- Métodos analíticos farmacopéicos.
- Métodos analíticos oficiales.
- Métodos analíticos no oficiales.
- Métodos analíticos desarrollados internamente en el laboratorio.
- Métodos analíticos desarrollados por el solicitante del análisis.

a) Métodos farmacopéicos. Son aquellos que aparecen en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Si por alguna razón estos no pudieran aplicarse, se utilizaran los métodos consignados en las farmacopeas de otros países.

Cuando estos métodos se utilizan para el análisis de materias primas, no es indispensable comprobarlos estadísticamente. Sin embargo, cuando se trata de formas farmacéuticas se debe tener presente que, debido a la gran variedad de formulaciones existentes, los resultados pueden no ser satisfactorios y entonces es deseable comprobar la validez del método en el caso particular que se está analizando.

b) Métodos oficiales. Son aquellos que aparecen consignados en textos como A.O.A.C, Codex, etc.

Como generalmente estos métodos son sometidos a estudios estadísticos antes de ser incluidos en estos textos, no es indispensable comprobarlos antes de su empleo para el análisis de materias primas. Para productos terminados se aplican las mismas consideraciones que para los métodos farmacopéicos.

c) Métodos no oficiales. Son aquéllos que aparecen en la literatura técnica, algunas veces como métodos tentativos o propuestos para ser --- incluidos en la farmacopea o demás textos oficiales.

Tanto para su empleo en el análisis de materia prima como en el de producto terminado, estos métodos deberán ser comprobados previamente a su utilización verificando su especificidad, sensibilidad, exactitud y precisión, aplicando en cada caso los métodos estadísticos necesarios.

d) Métodos desarrollados internamente por el laboratorio para materia prima, intermedios y productos terminados. Cuando no existan métodos analíticos correspondientes a las categorías descritas anteriormente, o bien cuando por alguna razón particular éstos no pueden utilizarse, se desea mejorarlos o bien se hayan obtenido resultados dudosos al aplicarlos, el laboratorio podrá desarrollar sus propios métodos.

En ese caso, siempre deberán ser comprobadas estadísticamente la validez del método, por lo que se refiere a especificidad, sensibilidad, exactitud y precisión.

e) Métodos analíticos desarrollados por el solicitante del análisis. En algunos casos, el solicitante del análisis proporcionará su propio método analítico (como en el caso de un método particular enviado con la solicitud del registro del medicamento ante S.S.A.). En estos casos, el

método se considera como ya probado, el laboratorio se limitará a aplicar el análisis a la muestra y reportará los resultados obtenidos con dicho método.

C. PASOS A SEGUIR PARA DESARROLLAR UN METODO ANALITICO:

a) Definir el objetivo del método. Pudiendo ser por ejemplo; desarrollar un método que nos cuantifique un activo y sus posibles productos de degradación, ó un método que nos limite las impurezas de síntesis de una materia prima.

b) Investigación bibliográfica. Con la finalidad de informarnos acerca de la existencia de métodos analíticos que nos conduzcan hacia el objetivo trazado; es necesario estudiar la factibilidad de cada una de sus ventajas y desventajas; la relación con los métodos oficiales, etc. Se deben de investigar además factores como costo, tiempo, especificidad, etc.

En caso de no encontrar información, o que se dedusca que el posible método requiera optimización se debe buscar información para desarrollarlo, esta información puede ser propiedades del activo, propiedades de los excipientes, etc.

c) Elección del método. Trazar un plan de desarrollo del método analítico. En muchos casos es necesario realizar una serie de pruebas para

definir el método; estas pruebas pueden ser: Encontrar los límites de detección, pruebas de eficiencia de extracción con diferentes disolventes, realizar pruebas de precisión y exactitud (Ver Validación), evaluar factores de respuesta o estándares internos, etc.

d) Probar el método. Se prueba el método y en base a los resultados obtenidos pueden efectuarse variaciones o modificaciones con el fin de optimizarlo o regresar al paso anterior para trazar un nuevo plan.

Es muy importante dejar bien establecida la finalidad con la cuál se diseña un método analítico, pudiendo ser con fines de control de calidad del producto terminado, estabilidad del mismo, biodisponibilidad, etc ya que el método analítico será diseñado y probado en base a los objetivos para los cuales fué establecido.

D. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS:

La industria farmacéutica está especialmente interesada en la validación de métodos analíticos debido al gran incremento de nuevos productos que tienen que ver con la salud y que requieren de métodos de análisis apropiados.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar que es

efectivo. La validación generalmente incluye una evaluación de la precisión, linealidad y exactitud, y proporciona una medida de comportamiento del método.

La validación del método puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

La capacidad se expresa en este caso en términos de parámetros analíticos. El proceso de validación de un método en particular está basada en principios científicos adecuados y ha sido optimizado para propósitos prácticos de medición.

DEFINICIONES:

Linealidad: La linealidad de un sistema o método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales se pueden obtener directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado.

Rango: El rango de un método analítico es el intervalo entre los niveles superior e inferior de la sustancia (incluyendo estos niveles; el cual se ha demostrado que es preciso, exacto y lineal utilizando el método descrito).

Exactitud. La exactitud de un método analítico es la concordancia Absoluta entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el por ciento de recobro obtenido del análisis de muestra a la que se le ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

Precisión. La precisión de un método analítico es el grado de concordancia Relativa entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto. Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación.

a) 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, técnicas, reactivos, etc.

b) Reproducibilidad: Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes analistas, en diferentes días, y en el mismo y/o en diferentes laboratorios utilizando el mismo y/o diferentes equipos.

Límite de detección: Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

Límite de cuantificación: Es la menor concentración de la sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptable bajo las condiciones de operación establecidas.

Especificidad: Es la medida del grado de interferencia en el análisis de mezclas complejas. Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida unicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

Tolerancia: Es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación, tales como diferentes temperaturas, lotes de reactivo, columnas, sistemas de elución, tipos de empaque, condiciones ambientales, etc.

Es realmente importante el establecer que no se puede hablar de un buen diseño y validación de un método analítico, si antes de ello no se ha considerado * la calibración tanto del material de vidrio como la de los equipos que han de ser empleados *.

Es indispensable que el sistema de garantía de calidad de cualquier laboratorio analítico cuente con la guía de prácticas adecuadas para el laboratorio analítico. Se apoyará además en una serie de manuales de - operación que permitan cumplir con las indicaciones consignadas en ella, uno de estos manuales es el; Manual de validación de procedimientos, procesos y sistemas. El objetivo de dicho manual es el establecer la metodología con la que se puede comprobar que los procedimientos estándar de operación, así como los procesos a los que se someten las muestras (métodos analíticos) y los sistemas, aparatos y equipos utilizados en la aplicación de los métodos analíticos (como los sistemas de esterilización, lavado, secado, etc., así como los espectrofotómetros, fluorómetros, campanas de extracción, etc.), son capaces de cumplir los fines para los que fueron diseñados[28].

Todo el materia que se ha de emplear para efectuar mediciones, es el caso de buretas, pipetas, matraces aforados, celdillas, etc; deberán ser calibrados antes de su uso. Se utilizarán métodos de calibración oficiales cuando éstos existan, de lo contrario se emplearán métodos que se encuentren en la literatura o aquellos que el laboratorio desarrolle al efecto[29.31].

Todos los instrumentos y equipos se someterán a una revisión periódica de calibración y mantenimiento para verificar su exactitud, sensibilidad y reproducibilidad. Los equipos se someterán a una revisión periódica de mantenimiento, con verificación y ajuste empleando métodos indicados por el fabricante o desarrollados por el laboratorio[28].

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Es importante que dentro de la industria farmacéutica se cuente con métodos analíticos sencillos que nos permitan de manera precisa y exacta cuantificar la cantidad de principio activo contenida en formulaciones de liberación controlada, garantizando de esta manera la calidad de dichas formas farmacéuticas.

Es necesario tener presente que hoy en día se cuenta con un método analítico para la cuantificación del principio activo en microgránulos de acción controlada; método que por basarse en el análisis de los residuos (lo que no se liberó) resulta inexacto y costoso y con un tiempo de análisis largo.

Por todo ello en el presente trabajo se desarrollará un método analítico que por basarse en el análisis de los caldos (medio de liberación, que trae consigo disuelto al principio activo liberado), nos permitirá contar con un método que además de ser exacto y preciso, será rápido y por ende permitirá proporcionar un resultado confiable sobre la calidad del producto en un lapso de tiempo razonable y con un bajo costo de análisis.

IV. OBJETIVO.

El objetivo del presente trabajo consiste en desarrollar y posteriormente validar un método analítico que de manera exacta, precisa, sencilla y con un bajo costo de análisis, nos permita cuantificar correctamente la cantidad de oxalato ácido de naftidrofuryl, liberada a cualquier tiempo, a partir de microgránulos de acción prolongada.

V. HIPOTESIS.

Las propiedades fisicoquímicas del oxalato ácido de naftidrofuryl dosificado en microgránulos de acción prolongada, así como también la técnica de análisis empleada para la cuantificación del mismo, serán factores que nos permitan obtener un método analítico que además de ser exacto y preciso, contará con un costo y tiempo de análisis bajo.

VI DESARROLLO EXPERIMENTAL.

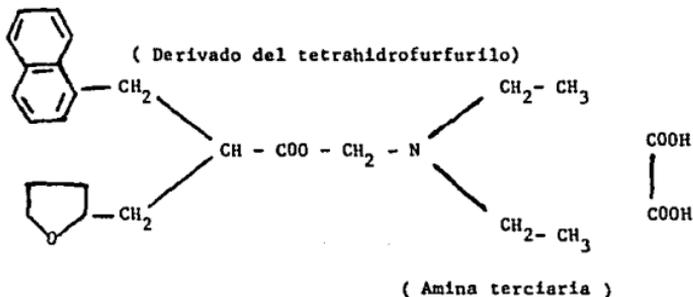
1. CONSIDERACIONES PREVIAS.

A. Propiedades fisicoquímicas y farmacológicas del oxalato ácido de naftidrofuryl [8].

Oxalato ácido de B (Naftil - 1) B' tetrahidrofuryl isobutirato de N-dietilamino etilo.

Oxalato de 3- (1 naftil) - 2 - tetrahidrofurylo propionato de 2 - (dietilamino) etilo.

IRIDUS, CITOXID



Tetrahidrofurfurilo

PM = 473.55

Aspecto; Polvo microcristalino blanco, olor picante, sabor amargo.

Solubilidad; Soluble en agua (1 gr en 10 ml).

Soluble en cloroformo (1 gr en 10 ml).

Soluble en metanol (1 gr en 10 ml).

Punto de fusión; (instantáneo) 110 a 115 °C.

pH; aproximadamente 3.0 en solución acuosa al 1 % m/v.

Espectro de absorción UV; en solución acuosa 0.0004 % presentando un máximo a 224.0 nm y un mínimo a 241.0 nm, su $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ = 1540 a 224 nm.

Propiedades farmacológicas: Amina terciaria vasodilatadora sintética, actúa sobre el sistema nervioso cardiovascular [3].

Acción vasodilatadora periférica, la presión arterial se modifica poco, existe vasodilatación coronaria. Tiene acción gangliohepática parcial a nivel del simpático cervical y la vasodilatación obedece a una acción arterial directa.

Se absorbe por todas las vías incluyendo la digestiva, su destino y secreción aún se desconocen, se sabe que se metaboliza parcialmente en el organismo, los metabolitos no se han identificado bien y se excretan en la orina.

Es poco tóxico, produciendo algunos trastornos digestivos, alérgicos (ardor epigástrico y náuseas), erupciones cutáneas de tipo urticario.

Indicado; para enfermedades vasculares periféricas, arteroesclerosis obliterante, tromboangieitis obliterante, angiopatía diabética, síndrome de Raynol [25].

B. Antecedentes experimentales.

Existe hasta esta fecha un método analítico oficial para cuantificar el oxalato ácido de naftidrofuryl en microgránulos de acción prolongada; método no muy preciso, exacto y con un tiempo y costo de análisis alto. Ello se debe a que dicho método establece que el análisis se debe de realizar a partir de los caldos (medio de liberación que posee disuelto al activo liberado en X periodo de liberación), obteniendo de esta manera y por medio de una diferencia (100 que es el total del activo - X que es lo que no se libero "microgránulos restantes" es igual al % de activo liberado en el medio de liberación).

En este método se emplean 6 de las 8 canastillas con las que cuenta el equipo para ensayar microsferas "Diffutest" y por ello sólo se pueden

determinar 3 periodos de liberación, la; la, 4a y 8a Hr , 2 muestras para cada periodo ya que el análisis se realiza por duplicado.

El manipuleo de los microgránulos restantes es muy delicado, ya que son muy frágiles y pequeños , ello aunado a tener solo 3 puntos en una gráfica del comportamiento de liberación proporciona la poca exactitud y precisión del análisis. El costo es alto debido a que se gastan grandes cantidades de metanol grado reactivo (aproximadamente 2 lt por lote) y en cuanto al tiempo de análisis es de aproximadamente 11 horas continuas. y por si ello fuera poco el análisis por dicho método resulta ser de gran riesgo para el analista debido a que para su cuantificación espectrofotométrica requiere precisamente metanol, y como es sabido el metanol es tóxico ya que se absorbe fácilmente por la piel, causando ceguera.

Es debido a lo anterior que este método oficial (llamado de ahora en adelante método A) no se considera adecuado para los fines de control de calidad del producto farmacéutico, por lo cual se procede a diseñar un método alternativo que nos proporcione mayor exactitud, precisión y que disminuya tanto el tiempo, costo y riesgo de análisis (llamado desde este momento método B) . Método analítico con fines de aseguramiento del control de la calidad del producto farmacéutico que contiene oxalato ácido de naftidrofuryl y que proporciona una liberación prolongada del mismo.

Es así como en base a las propiedades fisicoquímicas del activo se procede a diseñar un método alternativo para la cuantificación del activo

en cuestión a partir de microgránulos de acción prolongada, con la finalidad de cumplir con los objetivos planteados.

La primera etapa del desarrollo del método analítico consistió en definir el objetivo del método, el cual es diseñado con fines de control de calidad. Posteriormente se tomó en cuenta el antecedente un método oficial existente (Método A) y se evaluaron sus ventajas y desventajas con la finalidad de diseñar un método análítico alternativo que mejore al actual y no tanto que lo cambie.

La tercera etapa consistió en trazar el plan de desarrollo del método, verificando la solubilidad del activo en agua destilada y posteriormente se procedió a trabajar con placebos cargados en un inicio y después con la forma farmacéutica; estableciendo mediante una matriz de tratamientos las condiciones de trabajo, tiempo de agitación, tipo de agitación y temperatura.

También se realizaron ensayos comparativos entre el método oficial y el método diseñado con la finalidad de establecer el % de variación que se presenta por substitución de método.

2. MATERIAL.

A. SUBSTANCIAS.

Oxalato ácido de naftidrofuryl.

Microesferas inertes.

Eudragit RS 100.

B. SOLVENTES.

Agua destilada.

Metanol G.R.

C. SOLUCIONES.

Jugo gástrico pH = 1.5.

Jugo intestinal pH = 4.5.

Jugo intestinal pH = 6.9.

Jugo intestinal pH = 7.2.

Acido clorhídrico 1N.

Acido clorhídrico 0.1 N.

Hidróxido de sodio 1 N.

Hidróxido de sodio 0.1 N.

D. REACTIVOS.

Fosfato de potasio monobásico (merck).

Cloruro de sodio (merck).

E. MATERIAL.

Matraces aforados de 100 ml Pyrex.

Matraces aforados de 50 ml Pyrex.

Matraces aforados de 25 ml Pyrex.

Vasos de precipitados de 1000 ml Pyrex.

Vasos de precipitados de 250 ml Pyrex.

Probetas de 500 ml Pyrex.

Probetas de 100 ml Pyrex.

Probetas de 25 ml Pyrex.

Tubos de ensaye de 20 X 200 mm.

Tubos de vidrio para liberación de 25 X 120 mm.

con boca esmerilada y tapón de plástico.

Embudos de filtración talle corto.

Pipetas volumétricas de 50 ml Pyrex.

Pipetas volumétricas de 25 ml Pyrex

Pipetas volumétricas de 10 ml Pyrex.

Pipetas volumétricas de 5 ml Pyrex.

Pipetas volumétricas de 3 ml Pyrex.

Gradilla metálica.

Malla metálica de 30 hilos/ cm.

Magnetos.

Papel Whatman # 41 y # 42.

Perilla de succión.

Piseta de plástico de 500 ml.

F. INSTRUMENTOS.

Espectrofotómetro Beckman DU-70.

Espectrofotómetro Beckman MOD 35

Graficador Beckman.

Balanza analítica digital Ohaus (Galaxy 160 D).

Balanza analítica digital Mettler AE 50.

Ultrasonido Branson 221.

Base de agitación magnética Thermolyne 1000.

Termómetro Taylor de - 30 a 50 °C.

Termómetro Cole - Parmer de 25 a 56 °C.

Potenciómetro Beckman pH meter 71.

Potenciómetro Beckman Zeromatic IV .

Diffutest Eurand.

3. METODO ANALITICO.

A. VALORACION DEL OXALATO ACIDO DE NAFTIDROFURYL.

Mezclar perfectamente y con cuidado el contenido de 20 cápsulas y triturar hasta obtener un polvo fino, transferir alrededor de 500 mg de polvo exactamente pesados, a un matraz volumétrico de 100 ml y adicionar aproximadamente 50 ml de agua destilada, agitar con magneto durante 30 minutos. Al término del período de agitación, se retira con cuidado el magneto, enjuagandolo con agua destilada y se afora a volumen con aga destilada, se filtra por papel whatman # 41 desechando los primeros 20 ml del filtrado, tomar una alícuota de 5 ml y llevarla a un matraz aforado de 50 ml con agua destilada, homogeneizar perfectamente y de esta solución se toma una nueva alícuota de 5 ml, la cual se lleva a un matraz aforado de 50 ml, aforando con agua destilada y se mezcla bien.

Preparar una solución estándar de oxalato ácido de naftidrofuryl, pesando con exactitud 60 mg de estándar, los cuales son transferidos a un matraz aforado de 100 ml, adicionar 50 ml de agua destilada y agitar con magneto por 10 minutos, al término de este período se retira el magneto y se lleva a la marca con agua destilada, se mezcla perfectamente la solución. Tomar una alícuota de 5 ml y llevar a 100 ml con agua destilada.

Se determina la absorbancia de la muestra y de la solución estándar a 283 nm, empleando agua destilada como blanco.

Se obtienen los mg de oxalato ácido de naftidrofuryl contenidos por cápsula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{mg/cáp} = \frac{\text{Abs Mta} \times [\text{St}] \times 50 \times 50 \times \text{PM}}{\text{Abs St} \times 5 \times 5 \times \text{P mta}}$$

En donde :

[St] = concentración del estándar (Aproximadamente 3.0 mg/ 100 ml).

PM = Peso promedio real de la cápsula (Mg).

P Mta = Peso de la muestra (Mg).

B. VELOCIDAD DE LIBERACION DEL OXALATO ACIDO DE NAFTIDROFURYL.

Mezclar perfectamente y con cuidado el contenido de 20 cápsulas, colocando 500 mg de microgránulos exactamente pesados en cada uno de los tubos de liberación destinados para el ensayo (para una determinación de liberación hasta la 8a Hr son necesarios dos tubos, ya que el ensayo se realiza por duplicado) adicionar con cuidado 25 ml de jugo gástrico pH 1.5 a 37 °C, cerrar los tubos y colocarlos en su respectiva canastilla instalada dentro del Diffutest, y ponerlos a rotar por una hora.

Transcurrido este período de tiempo se sacan los tubos y se muestrean los caldos, los cuales son colectados en matraces aforados de 100 ml previamente adaptados con un embudo de filtración talle corto y una malla metálica de 30 hilos/ cm; por medio de la cual retendremos a los microgránulos que restan, enjuagamos con 15 ml de agua destilada a temperatura ambiente y colectamos los lavados en el mismo matraz aforado de 100 ml.

Reintegramos los microgránulos retenidos, con la ayuda de 25 ml de jugo intestinal pH 4.5 a 37 °C, cerramos los tubos y los ponemos a rotar por espacio de 1 hora a 30 r.p.m, bajo una temperatura constante de 37 °C \pm 0.5 °C.

Finalizando el segundo período de liberación, se retiran los tubos y se colectan los caldos en otros matraces aforados de 100 ml, al igual que

los lavados, los microgránulos restantes se reintegran a sus respectivos tubos con la ayuda de 25 ml de jugo intestinal pH 6.9, se cierran los tubos y se ponen a rotar por 2 horas a 30 r.p.m y a una temperatura constante de $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

Cuando a transcurrido este período se retiran los tubos y se muestra la 4a Hr de liberación en matraces aforados de 100 ml, lavando los microgránulos restantes con 15 ml de agua destilada a temperatura ambiente y colectando esta agua de lavado en el mismo matraz aforado. Reintegramos los microgránulos restantes a su respectivo tubo con la ayuda de 25 ml de jugo intestinal pH de 6.9 y los ponemos a rotar por un período de 2 Hrs a 30 r.p.m y a temperatura controlada de $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

Al término de dicho período se muestrean los caldos correspondientes a la 6a Hr de liberación y los microgránulos que aún quedan se reintegran a su respectivo tubo con 25 ml de jugo intestinal pH de 7.2, cerramos el tubo y lo colocamos dentro del difufitest por espacio de 2 Hrs , a 30 r.p.m y a temperatura constante de 37°C . Al término de este período de liberación contamos con la 8a hora del ensayo y se muestrean los caldos de la forma que se ha venido realizando.

Las muestras colectadas en sus respectivos matraces aforados de 100 ml se llevan a volumen con agua destilada y se agitan manualmente, homogeneizando perfectamente, para posteriormente filtrar por papel whatman # 41, desechando los primeros 20 ml del filtrado.

Las alícuotas que se toman a partir de los filtrados son las siguientes; según el período de liberación.

- Primera hora de liberación:

Se toma una alícuota de 3 ml del filtrado y se lleva a 100 ml con agua destilada homogeneizando perfectamente.

- Para la segunda y cuarta hora:

Respectivamente para cada período, se toman 3 ml de filtrado y se llevan a 50 ml con agua destilada, mezclando perfectamente.

Para la sexta y octava hora de liberación:

Respectivamente para cada período, se toma una alícuota de 5 ml del filtrado y se llevan a 50 ml con agua destilada, homogeneizando bien.

Se determina la absorbancia a 283 nm, empleando como blanco agua destilada.

Y comparando contra un estándar de oxalato ácido de naftidrofuryl, en solución acuosa de 3.0 mg /100 ml .

Los mg liberados de oxalato ácido de naftidrofuryl para cada periodo de tiempo pueden calcularse como sigue:

1a Hora de liberación:

$$X = \frac{\text{Abs mta} \times \{ \text{St} \} \times 100 \times 100 \times \text{PM}}{\text{Abs St} \times 3 \times \text{T} \times \text{Pmta}}$$

2a y 4a Hora de liberación:

$$X = \frac{\text{Abs mta} \times \{ \text{St} \} \times 100 \times 50 \times \text{PM}}{\text{Abs St} \times 3 \times \text{T} \times \text{Pmta}}$$

6a y 8a Hora de liberación:

$$X = \frac{\text{Abs mta} \times \{ \text{St} \} \times 100 \times 50 \times \text{PM}}{\text{Abs St} \times 5 \times \text{T} \times \text{Pmta}}$$

En donde:

[St] = mg/100 ml

T = Valoración (mg/cáp).

PM = Peso promedio de la cápsula.

PREPARACION DE LOS MEDIOS DE LIBERACION:

Jugo gástrico pH = 1.5.

Disolver aproximadamente 2 gr de cloruro de sodio en aproximadamente 800 ml de agua destilada, adicionar 7 ml de ácido clorhídrico 1.0 N , agitar y llevar a pH = 1.5 ± 0.5 con ácido clorhídrico y/o hidróxido de sodio 0.1 N según se requiera, usar para ajustar el pH un potenciómetro. Llevar a 1000 ml con agua destilada mezclando perfectamente.

Jugos intestinales pH = 4.5, 6.9 y 7.2 .

En tres vasos de precipitados de 1000 ml, colocar sendas alícuotas de 25 ml cada una de fosfato monopotásico al 3.48 % en agua y 48 ml de hidróxido de sodio 1.0 N, llevar a 800 ml con agua destilada y ajustar el pH con la ayuda de un potenciómetro a pH de 4.5, 6.9 y 7.2 respectivamente usando para ello ácido clorhídrico 0.1 N y/o hidróxido de sodio 0.1 N. Llevar a 100 ml con agua destilada y mezclar perfectamente.

Estas soluciones deberán de conservar su valor de pH durante varias semanas, pero es obligatorio checar su valor de pH cada que se use, debiendo corresponder al pH indicado ± 0.5 .

VII. VALIDACION.

1. LINEALIDAD DEL SISTEMA DE MEDICION.

Tabla VII.1

X	Y	Y'	X ²	Y ²	XY
Concentración (Mg/100 ml)	Absorbancia				
1.8010	0.252	0.2531	3.2436	0.06350	0.4538
2.4018	0.337	0.3359	2.7686	0.11350	0.8094
2.7013	0.381	0.3772	7.2970	0.14510	1.0291
3.0065	0.416	0.4192	9.0390	0.17300	1.2507
3.3016	0.459	0.4599	10.9296	0.21060	1.5174
3.6046	0.502	0.5017	12.9931	0.25200	1.8095
4.2048	0.585	0.5841	17.6635	0.34250	2.4586

SX = 21.024

$\bar{X} = 3.0034$

SY = 2.932

$S (X - \bar{X})^2 = 3.4290$

SY² = 1.3002

S = 0.7560 Desviación estándar.

SX² = 66.9344

SXY = 9.3285

$$m = \frac{7 (9.3285) - (21.024) (2.932)}{7 (66.9344) - (21.024)^2}$$

$$m = \frac{3.6595}{26.54}$$

m = 0.1378 pendiente.

$$b = 0.4188 - 0.1378 (3.0034)$$

$$b = 0.4188 - 0.4138$$

b = 0.005 ordenada al origen.

$$r^2 = \frac{[7 (9.3285) - (21.024) (2.932)]^2}{[7 (69.9344) - (21.024)^2] [7 (1.3002) - (2.932)^2]}$$

$$r^2 = \frac{(3.6572)^2}{(26.5323) (0.5048)}$$

r² = 0.9986 coeficiente de correlación.

$$s_{Y/X} = \sqrt{\frac{1.3002 - 0.005 (2.932) - 0.1378 (9.3285)}{7}}$$

$$s_{Y/X} = \sqrt{2.0 \times 10^{-3}}$$

s_{Y/X} = 4.4721 X 10⁻³ Error experimental.

$$\hat{S}_{Y/X} = \sqrt{\frac{7}{7-2}} (4.4721 \times 10^{-3})$$

$$\hat{S}_{Y/X} = \sqrt{\frac{7}{5}} (4.4721 \times 10^{-3})$$

$$\hat{S}_{Y/X} = (1.1832) (4.4721 \times 10^{-3})$$

$$\hat{S}_{Y/X} = 5.2915 \times 10^{-3} \quad \text{Error típico de experimentación modificada.}$$

Prueba de hipótesis para la ordenada al origen (b).

$$H_0 \quad b = 0$$

$$H_a \quad b \neq 0$$

$$t = \frac{0.005 - 0}{5.2915 \times 10^{-3} \sqrt{\frac{66.9344}{7 (3.4290)}}}$$

$$t = \frac{0.005}{5.2915 \times 10^{-3} \sqrt{2.7885}}$$

$$t = \frac{0.005}{8.83 \times 10^{-3}}$$

$$t = 0.5658$$

$$t_{\text{tablas}} = 1 - \frac{\alpha}{2}, \text{ G.l} = n - 2$$

$$t_{\text{tablas}}, 0.975, 5 = 2.5706$$

Región de aceptación:

$$t \leq -\frac{\alpha}{2} \quad \text{or} \quad t \geq \frac{\alpha}{2}$$

$$- 2.5706 < 0.5658 < 2.5706$$

Por lo tanto el método tiene ordenada al origen igual a cero

Intervalo de confianza para la ordenada al origen.

$$0.005 - (5.2915 \times 10^{-3}) (1.6699) < 0.005 <$$

$$0.005 + (5.2915 \times 10^{-3}) (1.6699)$$

$$- 0.0038 < 0.005 < 0.01383$$

Prueba de hipótesis para la pendiente (m).

$$H_0 \quad m = 1$$

$$H_a \quad m \neq 1$$

$$t_m = \frac{(0.1378 - 1.0) 0.7560 \sqrt{6}}{5.2915 \times 10^{-3}}$$

$$t_m = \frac{-1.59}{5.2915 \times 10^{-3}}$$

$$t_m = -301.73$$

$$T_{\text{tablas}}, 1 - \frac{\alpha}{2}, G1 = n - 2$$

$$t_{\text{tablas}}, 0.975, 5 = 2.5706$$

$$-2.5706 > -301.73 < 2.5706$$

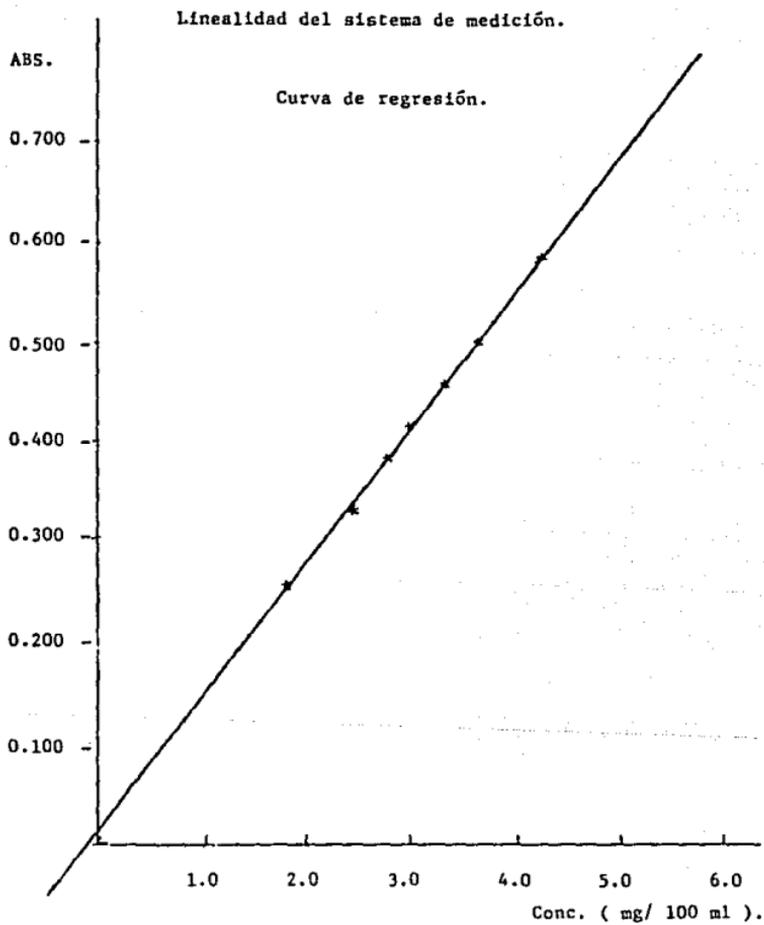
Intervalo de confianza para la pendiente.

$$0.1378 - [(2.5706) (2.8574 \times 10^{-3})] < 0.1378 < 0.1378 + [(2.5706) (2.8574 \times 10^{-3})]$$

$$0.1378 - 7.3452 \times 10^{-3} < 0.1378 < 0.1378 + 7.3452 \times 10^{-3}$$

$$\underline{0.13045 < 0.1378 < 0.1451}$$

Gráfica VII.1



2. LIMITE DE DETECCION.

Tabla VII.2

X	Y	X	Y	XY
Concentración. (mg/100 ml)	Absorbancia.			
0.1507	0.019	0.0227	0.00036	0.0028
0.3007	0.040	0.0904	0.0016	0.0120
0.4502	0.061	0.2026	0.0037	0.0270
0.6007	0.085	0.3608	0.0072	0.0510
0.7501	0.110	0.5626	0.1210	0.0825

$$SX = 2.2524$$

$$S (X - \bar{X}) = 0.22463$$

$$SY = 0.315$$

$$S X = 0.2369 \text{ Desviación estándar.}$$

$$SXY = 0.1753$$

$$SX^2 = 1.2391$$

$$SY^2 = 0.02496$$

$$\bar{X} = 0.45048$$

$$n = 5$$

$$m = \frac{5 (0.1753) - (2.2524) (0.315)}{5 (1.2391) - (2.2524)^2}$$

$$m = \frac{0.167}{1.1222}$$

$$m = 0.1488$$

$$b = 0.063 - 0.1488 (0.45048)$$

$$b = 0.063 - 0.06703$$

$$b = - 0.00403$$

$$r^2 = \frac{[5 (0.1753) - (2.2524) (0.315)]^2}{[5 (1.2391) - (2.2524)^2] [5 (0.2429) - (0.315)^2]}$$

$$r = \frac{0.02788}{(1.122) (0.02557)}$$

$$r = 0.9716$$

$$s_{Y/X} = \sqrt{\frac{0.02496 + 0.00403 (0.315) - 0.1488 (0.1753)}{3}}$$

$$s_{Y/X} = \sqrt{\frac{0.02496 + 1.2694 \times 10^{-3} - 0.02608}{3}}$$

$$S_{Y/X} = \sqrt{\frac{1.494 \times 10^{-3}}{3}}$$

$$S_{Y/X} = \sqrt{4.98 \times 10^{-5}}$$

$$\underline{S_{Y/X} = 7.056 \times 10^{-3}}$$

$$\hat{S}_{Y/X} = \sqrt{\frac{5}{3}} (4.98 \times 10^{-3})$$

$$\hat{S}_{Y/X} = \sqrt{1.6666} (4.98 \times 10^{-3})$$

$$\hat{S}_{Y/X} = 1.2909 (4.98 \times 10^{-3})$$

$$\underline{\hat{S}_{Y/X} = 6.42 \times 10^{-3}}$$

Prueba de hipótesis para la ordenada al origen (b) .

$$H_0 \quad b = 0$$

$$H_a \quad b \neq 0$$

$$t_b = \frac{-0.00403 - 0}{6.42 \times 10^{-3} \sqrt{\frac{1.2391}{5 (0.22462)}}}$$

$$t_b = \frac{-0.00403}{6.42 \times 10^{-3} \sqrt{\frac{1.2391}{1.1231}}}$$

$$t_b = \frac{-0.00403}{6.42 \times 10^{-3} \sqrt{1.1032}}$$

$$t_b = \frac{-0.00403}{6.42 \times 10^{-3} (1.050)}$$

$$t_b = \frac{-0.00403}{6.74 \times 10^{-3}}$$

$$t_b = -0.5976$$

$$t_{\text{tablas}} = 1 - \frac{\alpha}{2}, G.1 = n - 2$$

$$t_{\text{tablas}, 0.975, 3} = 3.1825$$

$$-3.1825 < -0.00403 < 3.1825$$

Por lo tanto nuestro método tiene ordenada al origen igual a cero.

Intervalo de confianza para la ordenada al origen .

$$- 0.00403 - (6.42 \times 10^{-3} * 1.050) < - 0.00403 < - 0.00403 + (6.42 \times 10^{-3} * 1.050)$$

$$- 0.00403 - 6.74 \times 10^{-3} < - 0.00403 < - 0.00403 + 6.74 \times 10^{-3}$$

$$- 0.01070 < - 0.00403 < 0.0027$$

Prueba de hipotesis para la pendiente.

$$H_0 \quad m = 1$$

$$H_a \quad m \neq 1$$

$$t_m = \frac{(0.1488 - 1.0) 0.2369 \sqrt{4}}{6.42 \times 10^{-3}}$$

$$t_m = \frac{- 0.4032}{6.42 \times 10^{-3}}$$

$$t_m = - 62.80$$

$$t_{\text{tablas}} = 1 - \frac{\alpha}{2} \quad , \quad g.l = n - 2$$

$$t_{\text{tablas}} , 0.975 , 3 = 3.1825$$

$$-3.1825 < -62.80 < 3.1825$$

Por lo tanto nuestro método no tiene pendiente igual a 1.0

Intervalo de confianza para la pendiente.

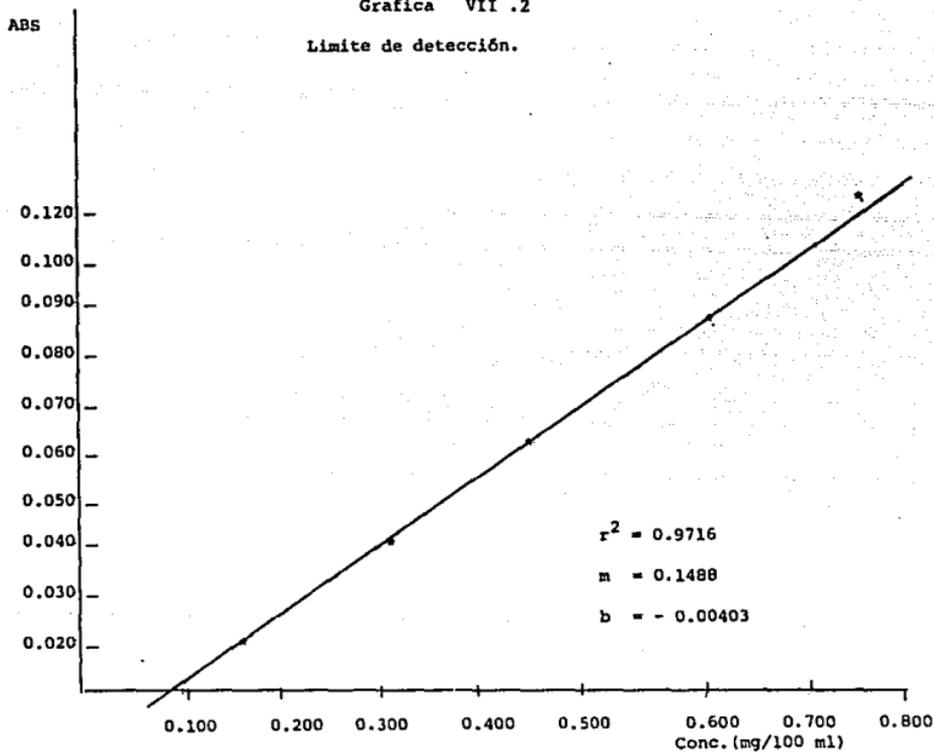
$$0.1488 - (3.1825 * \frac{6.42 \times 10^{-3}}{0.4738}) \quad 0.1488 \quad 0.1488 + (3.1825 * \frac{6.42 \times 10^{-3}}{0.4738})$$

$$\frac{6.42 \times 10^{-3}}{0.4738})$$

$$0.1488 - 0.04312 \quad 0.1488 \quad 0.1488 + 0.04312$$

$$\underline{0.10576 < 0.1488 < 0.1919}$$

Gráfica VII .2
Limite de detección.



3. LINEALIDAD DEL METODO DE MEDICION.

Tabla VII.3

X Mg Adicionados	Y Mg recuperados	Y'	X ²	Y ²	XY
154.16	153.85	154.43	23765.30	23669.82	23717.516
230.60	232.00	232.36	53176.36	53824.00	53499.200
307.57	313.23	310.83	94599.30	98113.03	96340.150
384.67	388.06	389.44	147971.00	150590.56	149275.040
461.67	467.87	467.94	213139.18	218902.33	216001.540

n = 5

$\bar{X} = 307.73$

$5 (X - \bar{X})^2 = 59150.079$

$\bar{Y} = 311.00$

SX = 1.216 Desviación estándar

SX = 1538.67

SY = 1555.01

Para curva de regresión:

$SX^2 = 532651.14$

$Y' = mX + b$

$SY^2 = 545099.7425$

SXY = 538833.446

$m = \frac{5 (538833.446) - (1538.67) - (1555.01)}{5 (532651.14) - (1538.67)^2}$

$$m = \frac{2694167.23 - 2392647.237}{2663255.7 - 2367505.369}$$

$$m = \frac{301519.993}{295750.331}$$

$$m = \underline{1.0195}$$

$$b = 311.00 - (1.0195) (307.73)$$

$$b = 311.00 - 313.73$$

$$b = \underline{-2.73}$$

$$r^2 = \frac{[5(538833.446) - (1538.67)(1555.01)]^2}{[(5)(532651.14) - (1538.67)^2][5(545099.7425) - (1555.01)^2]}$$

$$r^2 = \frac{(2694167.23 - 2392647.23)^2}{(2663255.7 - 2367505.36)(2725498.713 - 2418056.1)}$$

$$r^2 = \frac{9.091 \times 10^{10}}{(295750.34)(297173.0861)}$$

$$r^2 = \frac{9.091 \times 10^{10}}{9.092 \times 10^{10}}$$

$$r^2 = \underline{0.9998}$$

$$S Y/X = \sqrt{\frac{545099.7425 - (-2.73) (1555.01) - 1.0195 (538833.44)}{5}}$$

$$S Y/X = \sqrt{\frac{545099.7425 + 4245.1773 - 549340.6982}{5}}$$

$$S Y/X = \sqrt{\frac{4.2216}{5}}$$

$$S Y/X = \sqrt{0.8443}$$

$$\underline{S Y/X = 0.9188}$$

$$\hat{S} Y/X = \sqrt{\frac{5}{5-2}} (0.9188)$$

$$\hat{S} Y/X = \sqrt{1.666} (0.9188)$$

$$\hat{S} Y/X = 1.29 (0.9188)$$

$$\underline{\hat{S} Y/X = 1.1852}$$

Prueba de hipótesis para la ordenada al origen (b) .

$$H_0 \quad b = 0$$

$$H_a \quad b \neq 0$$

Estadígrafo de contraste t " Student " .

$$t = \frac{-2.37 - 0}{1.1852 \sqrt{\frac{532651.14}{5 (59150.079)}}}$$

$$t = \frac{-2.37}{1.1852 \sqrt{\frac{532651.14}{295750.395}}}$$

$$t = \frac{-2.37}{1.18 \sqrt{1.8010}}$$

$$t = \frac{-2.37}{1.58}$$

$$t = -1.5$$

$$t_{\text{tablas}}, 1 - \frac{\alpha}{2}, G.1 = n - 2$$

$$t_{\text{tablas}}, 0.975, 3 = 3.1825$$

$$t_1 = \frac{\alpha}{2} < t_{bo} < t = \frac{\alpha}{2}$$

$$-3.1825 < -1.5 < 3.1825$$

Por lo tanto nuestro método tiene ordenada al origen de cero.

Intervalo de confianza para la ordenada al origen (b).

$$- 2.73 - (3.1825 * 1.58) < - 2.73 < - 2.73 + (3.1825 * 1.58)$$

$$- 2.73 - 5.02835 < - 2.73 < - 2.73 + 5.028$$

$$\underline{-7.7583 < -2.73 < 2.298}$$

Prueba de hipótesis para la pendiente (m).

$$H_0 \quad m = 1$$

$$H_a \quad m \neq 1$$

$$t_m = \frac{(1.0195 - 1.0) [1.216 (\sqrt{4})]}{1.1852}$$

$$t_m = \frac{0.0195 (243.20)}{1.1852}$$

$$t_m = \frac{4.7424}{1.1852}$$

$$\underline{t_m = 4.00}$$

$$t_{\text{tablas}}, 1 - \frac{\alpha}{2}, G.l = n - 2$$

$$\underline{t_{\text{tablas}}, 0.975, 3 = 3.1825}$$

$$\underline{- 3.1825 < 4.00 > 3.1825}$$

Por lo tanto nuestro método no tiene pendiente igual a 1

Intervalo de confianza para la pendiente.

$$1.0195 - \left(3.1825 * \frac{1.1852}{121.60} \right) < 1.0195 < 1.0195 + \left(3.1825 * \frac{1.1852}{121.60} \right)$$

$$\left(3.1825 * \frac{1.1852}{121.60} \right)$$

$$1.0195 - \left(3.1825 * \frac{1.1852}{243.2} \right) < 1.0195 < 1.0195 + \left(3.1825 * \frac{1.1852}{243.2} \right)$$

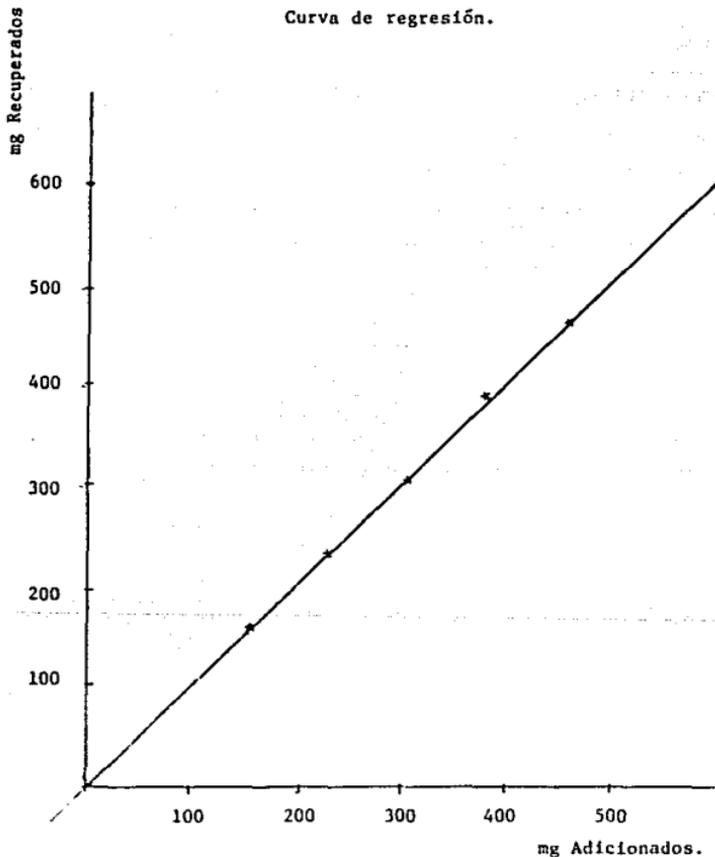
$$1.0195 - 0.01550 < 1.0195 < 1.0195 + 0.0195$$

$$\underline{1.004 < 1.0195 < 1.035}$$

Gráfica VII .3

Linealidad del método de medición.

Curva de regresión.



4. EXACTITUD.

Tabla VII.4

Z	Y % De Recobro.	Y ²
50	99.79	9958.044
75	100.60	10120.360
100	101.83	10369.340
125	100.87	10174.750
150	101.31	10263.710

$$SY = 504.4$$

$$SY^2 = 50886.2041$$

$$\bar{Y} = 100.88$$

$$S = \sqrt{\frac{SY^2 - \left(\frac{(SY)^2}{n} \right)}{n - 1}} \quad \text{Desviación estándar.}$$

$$S = \sqrt{\frac{50886.2041 - \left(\frac{(504.4)^2}{5} \right)}{5 - 1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{50886.2041 - 50883.872}{4}}$$

$$S = \sqrt{\frac{2.3321}{4}}$$

$$S = \sqrt{0.5830}$$

$$S = 0.7638$$

D.E.R = $\frac{S}{\bar{Y}}$ X 100 Desviación estándar relativa. ó Coeficiente de Variación.

$$D.E.R = \frac{0.7638}{100.88}$$

$$D.E.R = 0.7572 \%$$

6 CV

Prueba de hipótesis.

$$H_0 = 100$$

$$H_a \neq 100$$

Estadígrafo de contraste t " Student "

DATOS:

$$n = 5$$

$$\bar{Y} = 100.88$$

$$s = 0.7638$$

$$t = \frac{(\bar{Y} - 100) (\sqrt{n})}{s}$$

$$t = \frac{(0.88) (2.2360)}{0.7638}$$

$$t = 2.57$$

$$t_{\text{tablas}}, 1 - \frac{\alpha}{2}, G.l = n - 1$$

$$t_{\text{tablas}}, 0.975, 4 = 2.7764$$

$$t \frac{\alpha}{2} \leq t_{\text{experimental}} \leq t 1 - \frac{\alpha}{2}$$

$$- 2.7764 \leq 2.57 \leq 2.7764$$

Por ello se acepta H_0 y por lo tanto nuestro método carece de error sistemático constante; lo cual indica que es exacto.

Intervalo de confianza.

$$= Y \pm t * \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$$= 100.88 \pm 2.7764 * \frac{0.7638}{\sqrt{5}}$$

$$= 100.88 \pm 2.7764 * 0.3415$$

$$= 100.88 \pm 0.9483$$

$$\underline{99.93\% < \mu < 101.82\%}$$

5. REPETIBILIDAD.

Tabla VII.5

\bar{x}	X	$(x - \bar{x})^2$	x^2
Z De Recobro.			
85	99.89	0.0216	9978.0121
85	100.05	0.0947	10010.0000
85	100.09	1.8150	10219.1881
85	101.75	4.0289	10353.0625
85	100.83	1.1820	10166.6889
85	102.45	7.3290	10496.0025
100	99.05	0.4799	9810.9025
100	98.74	1.0055	9749.5876
100	98.85	0.7970	9771.3225
100	99.91	0.0279	9982.0081
100	98.30	2.0816	9662.8900
100	98.80	0.8888	9761.4400
115	99.95	0.4294	9990.0000
115	98.66	1.1724	9733.7900
115	98.81	0.8700	9763.4161
115	98.90	0.7102	9781.2100
115	99.64	0.0105	9928.1290
115	99.70	0.00182	9940.0900

$$\sum X = 1795.37$$

$$\bar{X} = 99.74$$

$$n = 18$$

$$s^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}$$

$$s^2 = \frac{22.55}{17}$$

$$s^2 = 1.3264$$

$$s = \sqrt{s^2}$$

$$s = \sqrt{1.3264}$$

$$s = 1.1517$$

$$CV = \frac{1.1517 * 100}{99.74}$$

$$CV = 1.1547 \%$$

Prueba de χ^2

$$H_0 = \sigma = 1 \%$$

$$H_a = \sigma \neq 1 \%$$

$$\chi^2_{cal} = \frac{(n - 1) s^2}{\sigma^2}$$

$$\chi^2_{cal} = \frac{(18 - 1) (1.3264)}{1^2}$$

$$\underline{\chi^2_{\text{cal}} = 22.54}$$

$$\text{tablas, } 1 - \frac{\alpha}{2}, \text{ G.L} = n - 1$$

$$\underline{\text{tablas, } 0.975, 17 = 30.191}$$

Área de aceptación

$$\chi^2_{\text{cal}} < \chi^2_{\text{tablas}}$$

$$22.54 < 30.191$$

Por lo tanto el método posee repetibilidad

Intervalo de confianza.

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

$$\sigma = \frac{s (X - \bar{X})^2}{n}$$

$$\sigma = \frac{23.15}{18}$$

$$\sigma = 1.2861$$

$$\underline{\sigma = 1.1340}$$

$$\sqrt{\frac{(18-1)(1.3264)}{30.191}} < \sigma < \sqrt{\frac{(18-1)(1.3264)}{7.564}}$$
$$\sqrt{0.7468} < 1.1340 < \sqrt{2.9810}$$
$$\underline{0.8642} < 1.1340 < \underline{1.7265}$$

La diferencia entre el resultado mayor (en % de recobro) y el menor es de:

$$102.45 - 98.30 = 4.15$$

DATOS:

$$n = 18$$

$$\bar{X} = 99.74$$

$$S = 1.1517$$

$$t_{1 - \frac{\alpha}{2}}, G.I = n - 1$$

$$t_{0.975, 17} = 2.1098$$

$$\bar{X} \pm t * \frac{S}{n}$$

$$99.74 \pm 2.1098 * 0.2714$$

$$99.74 \pm 0.5725$$

$$\underline{\underline{99.16 \% < \mu < 100.31 \%}}$$

$$t_1 - \frac{\alpha}{2}, G.1 = n - 1 * S$$

$$2.1098 * 1.1517 = 2.4298$$

2.4298 es la repetibilidad del método.

$$2 * 2.4298 = 4.8596$$

4.86 es mayor que la diferencia encontrada entre el resultado mayor (en % de recobro) y el menor 4.15

$$4.15 < 4.8596$$

Por lo tanto sí hay repetibilidad.

6. REPRODUCIBILIDAD.

Tabla VII.6

		<u>ANALISTA.</u>	
		<u>1</u>	<u>2</u>
1	<u>DIA.</u>	101.89	98.12
		100.82	99.12
		102.04	99.49
		<hr/>	<hr/>
		304.75	296.73
2		100.36	101.79
		98.84	101.90
		98.70	102.23
		<hr/>	<hr/>
		247.90	305.92
		<u>602.65</u>	<u>602.65</u> = 1205.3

Y ...

i = 1,2 Factor analista.

j = 1,2 Factor día

k = 1,2,3 Replicaciones que pertenecen al analista x día.

MODELO: $Y_{ijk} = \mu + A_i + D_j(i) + E_k(i, j)$

A_i = Fuente de variación del analista.

$D_j (i)$ = Factor día por analista.

E_k = Error experimental de la replicación y del analista i el día j .

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA (ANADEVA).

<u>Fuente de variación.</u>	<u>Grados de libertad.</u>	<u>Suma de cuadrados.</u>	<u>Media cuadrática.</u>
FV	G.1	SC	MC
<u>Ai</u>	1	$\frac{SYi..^2}{jk}$	$\frac{SCA}{i-1}$
<u>Dj (i)</u>	2	$\frac{SS Yij^2}{k}$	$\frac{SCD}{(j-1)i}$
<u>Ek (ij)</u>	8	$\frac{SSS Yijk^2}{k}$	$\frac{SCE}{(k-1)j}$

$$\frac{SY_{i..}^2}{jk} = \frac{Y_{1.}^2 + Y_{2.}^2}{2 * 3} = \frac{(602.65)^2 + (602.65)^2}{6}$$

$$\frac{SY_{i..}^2}{jk} = \frac{363187.022 + 363187.022}{6}$$

$$\frac{SY_{i..}^2}{jk} = 121062.3408$$

$$\frac{Y_{...}^2}{ijk} = \frac{(1205.3)^2}{2 * 2 * 3}$$

$$\frac{Y_{...}^2}{ijk} = \frac{1452748.09}{12}$$

$$\frac{Y_{...}^2}{ijk} = 121062.3408$$

$$\frac{SS Y_{ij.}^2}{k} = \frac{Y_{11.}^2 + Y_{12.}^2 + Y_{21.}^2 + Y_{22.}^2}{3}$$

$$\frac{SS Y_{ij.}^2}{k} = \frac{(304.75)^2 + (297.9)^2 + (296.73)^2 + (305.92)^2}{3}$$

$$\frac{SS Y_{ij.}^2}{k} = \frac{92872.56 + 88744.41 + 88048.69 + 93587.046}{3}$$

$$\frac{SS Y_{ij.}^2}{3} = 121087.9272$$

$$\begin{aligned} SSS Y_{ijk}^2 &= 10381.5721 + 10164.6724 + 10412.1616 + \\ &10072.1296 + 9769.3456 + 9741.69 + \\ &9627.5344 + 9824.7744 + 9898.2601 + \\ &10361.2041 + 10383.61 + 10450.9729 \end{aligned}$$

$$\underline{SSS Y_{ijk}^2 = 121087.9272}$$

$$\frac{S Y_{i..}^2}{jk} - \frac{Y_{...}^2}{ijk} = 121062.3408 - 121062.3408 = 0$$

$$\frac{SS Y_{ij.}^2}{k} - \frac{S Y_{i..}^2}{jk} = 121084.2353 - 121062.3408 = 21.8945$$

$$SSS Y_{ijk}^2 - \frac{SS Y_{ij.}^2}{k} = 121087.9272 - 121084.2353 = 3.6919$$

$$F_{calculada} = \frac{MC A (i)}{MC D_j (i)} = \frac{0}{10.9482} = 0 \quad \text{ANALISTA.}$$

$$F_{calculada} = \frac{MCD}{MCE} = \frac{10.9472}{0.4614} = 23.72 \quad \text{ANALISTA - DIA.}$$

F_{tablas} = F con un 95 % de confianza y 1/2 g.1

F_{tablas} = 18.51 ANALISTA.

F_{tablas} con un 95 % de confianza y 2/8 de gl

$F_{\text{tablas}} = 4.46$

Toma de decisión.

PARA ANALISTA:

Si $F_{\text{calculada}}$ es mayor que F_{tablas} Existe efecto del parámetro estudiado.

Si $F_{\text{calculada}}$ es menor o igual a F_{tablas} No existe efecto.

$0 < 18.51$

Por lo tanto no existe efecto por analista.

PARA DIA:

Si $F_{\text{calculada}}$ es mayor que F_{tablas} Existe efecto del parámetro estudiado.

Si $F_{\text{calculada}}$ es menor o igual a F_{tablas} No existe efecto.

$23.72 > 4.46$

Por lo tanto existe efecto por día; lo cual indica que el analista no trabaja igual todos los días.

7. ESPECIFICIDAD.

Tabla VII.7

X	X De Recobro			
	Medio de liberación.			
	pH =	Gástrico 1.5	-----Intestinal----- 4.5	6.9
Tiempo (Hr).	1	1	4	2
60	100.65	97.14	101.10	101.20
80	101.41	98.73	99.76	99.65
100	101.42	98.78	100.63	99.65
120	101.07	98.98	101.20	98.75
140	101.75	99.40	101.21	101.17

Se calculan los siguientes parámetros:

\bar{X}

t_{tablas}

S

Coefficiente de variación (CV).

t_{cal}

Tabla VIII.1

Resultados comparativos del análisis de dos lotes de microgránulos, empleando ambos métodos (método oficial. A y método diseñado. B).

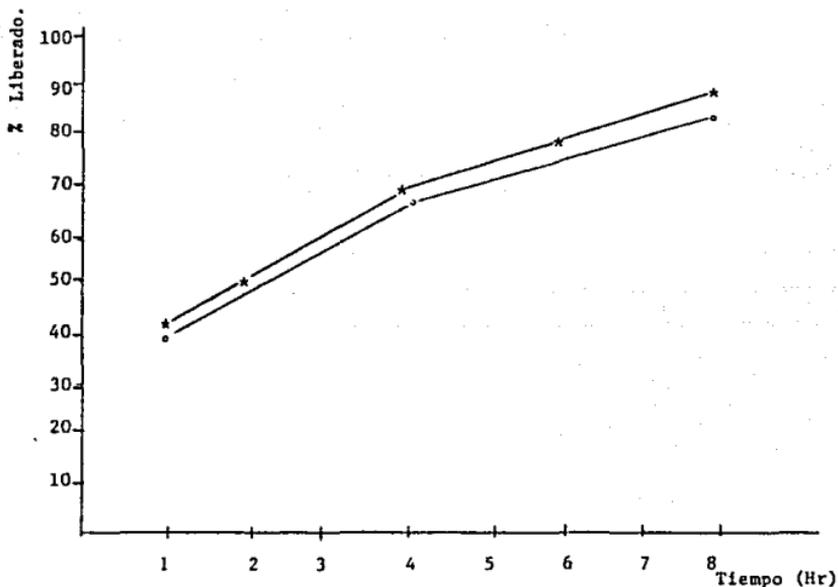
PARAMETRO		Lote 01		Lote 02	
CUANTIFICADO		Método A	Método B	Método A	Método B
Valoración del oxalato ácido de naftidrofuryl. (mg/c5p).		197.77	202.0	190.37	188.50
Velocidad de liberación (%)	Tiempo (Hr)				
	1a	34.18	36.85	38.42	39.89
	2a	--	48.31	--	47.95
	4a	63.50	65.84	62.47	65.16
	6a	--	74.61	--	74.61
	8a	83.50	80.74	78.46	80.74

Tabla VIII.2

Resultado del % de variación obtenido por método en el análisis de dos lotes de microgránulos.

PARAMETRO CUANTIFICADO.		LOTE	
		01	02
Valoración del oxalato ácido de naftidrofuryl.		%	%
		2.04	0.98
Velocidad de liberación.	Tiempo (Hr)		
	1a	7.24	3.68
	4a	3.55	4.12
	8a	3.30	2.82

GRAFICA : VIII . 1

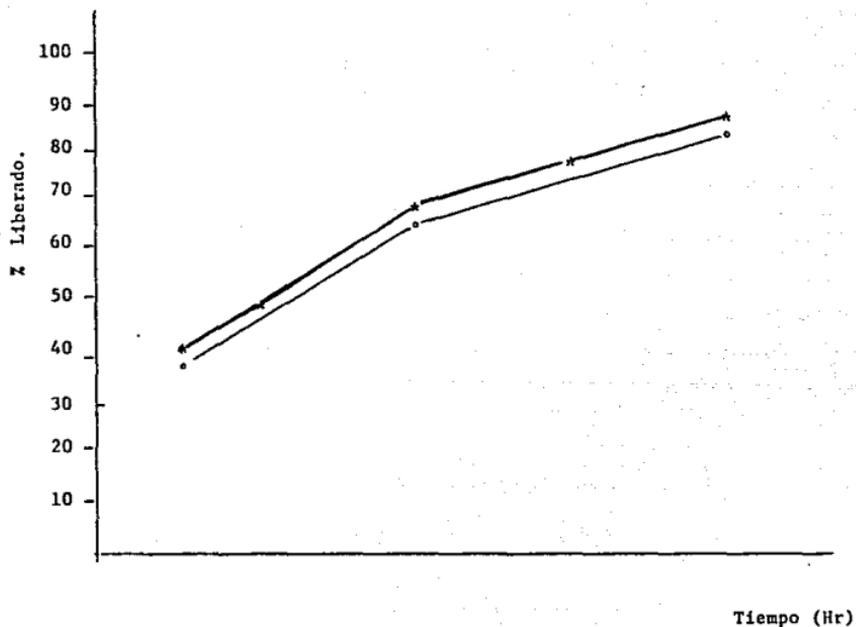


Gráfica del comportamiento de liberación del oxalato ácido de naftidrofuryl a partir del lote 01 de microgránulos de acción prolongada.

(****) Método A

(****) Método B

GRAFICA : VIII . 2



Gráfica del comportamiento de liberación del oxalato ácido de naftidrofuryl a partir de microgránulos de acción prolongada lote 02.

(****) Método A .

(****) Método B.

Tabla VIII.3

Resultados comparativos de la validación de Ambos métodos analíticos

A. Método oficial

B. Método diseñado

PARAMETRO	METODO	
	A	B
<u>Linealidad del sistema de medición.</u>		
Pendiente (m).	0.1500	0.1378
Ordenada al origen (b).	0.0048	0.005
Coefficiente de correlación (r).	0.99943	0.9986
<u>Linealidad del método de medición.</u>		
Pendiente (m).	1.010	1.0195
Ordenada al origen (b).	7.840	- 2.7300
Coefficiente de correlación (r).	0.99920	0.9998
<u>Límite de detección.</u>		
Pendiente (m).	0.1600	0.1488
Ordenada al origen (b).	- 0.00929	- 0.00403
Coefficiente de correlación (r).	0.9945	0.9716

PARAMETRO	METODO	
	A	B
<u>Exactitud.</u>		
Media (\bar{X}).	104.08	100.88
Desviación estándar (S).	2.1863	0.7630
Coefficiente de variación (CV).	2.1000	0.7572
Intervalo de confianza (Z).	101.32- 106.78	99.33 - 101.82
Conclusión.	No Exacto.	Exacto.
<u>Precisión.</u>		
- Repetibilidad.		
Media (\bar{X}).	101.057	99.74
Desviación estándar (S).	1.1747	1.1517
Coefficiente de Variación (CV).	1.1624	1.1547
Repetibilidad.	2.4800	2.4298
Conclusión.	Si es repetible.	si es repetible.
- Reproducibilidad.		
Conclusión.	Reproducible, con efecto por día	Reproducible, con efecto por día.

Tabla VIII.4.

ESPECIFICIDAD.

PARAMETRO.	MEDIO DE LIBERACION.			
	Gástrico. pH= 1.5	pH= 4.5	Intestinal. pH= 6.9	pH = 7.2
\bar{X}	100.152	100.45	100.092	100.01
Desviación estándar. (S)	0.5865	0.7112	0.3745	0.9892
Coefficiente de variación (CV) %	0.5856	0.7080	0.3741	0.9891
$t_{calculada}$.	0.5803	1.4147	0.5492	0.0220
$t_{tablas} 1 - \frac{\alpha}{2}$ Gl= n-1 (0.975 , 4)	2.7764	2.7764	2.7764	2.7764
Intervalo de confianza (%)	99.42 - 100.87	99.56 - 101.33	99.62 - 100.55	99.78 - 101.23
Conclusión.				

Tabla VIII.5

Ventajas y desventajas de ambos métodos.

FACTOR.	METODO.	
	A	B
Tiempo de análisis (Hr).	Aproximadamente 11	Aproximadamente 9
Costo de análisis.	Aproximadamente 10 veces mayor al del método B.	Menor.
Riesgo de análisis.	Existe riesgo considerable por el uso de metanol como disolvente.	No existe riesgo ya que se emplea agua como disolvente.
Calidad de resultados	Menor, ya que sólo se puede reportar : 1a, 4a y 8a Hr.	Mayor, ya que se puede reportar : 1a, 2a, 4a, 6a y 8a Hr.

IX. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS.

Las propiedades de solubilidad del oxalato ácido de naftidrofuryl permiten que para su cuantificación espectrofotométrica pueda substituirse el uso de metanol como disolvente, por otro más común, de bajo costo y fácil adquisición como es el agua destilada.

Por otra parte los resultados obtenidos al validar el método diseñado indican que:

a) La mínima cantidad de principio activo que con seguridad puede ser detectada por el espectrofotómetro UV/Vis es de 0.1507 mg/100 ml, lo cual corresponde al límite de detección (tabla. VII.2),pero es recomendable trabajar por arriba de 0.75 mg/100 ml y por debajo de 3.60 mg/100 ml con la finalidad de obtener una respuesta entre 0.1 y 0.5 unidades de absorbancia, cumpliendo de esta manera con la ley de Beer.

b) Al analizar la gráfica VII.1 correspondiente a la linealidad del sistema de medición; se deduce con claridad que existe una relación lineal entre la respuesta del espectrofotómetro UV/Vis y una concentración de principio activo que puede ir desde 1.80 mg/100 ml hasta 4.20 mg/100 ml, lo cual nos permite asegurar que el empleo de una solución de 3.0 mg/ 100 ml es adecuada.

c) La tabla VII.3 correspondiente a la linealidad del método de medición, proporciona resultados que nos indican que la linealidad se sigue conservando aún estando presentes los excipientes de la formulación, lo cual demuestra que no existe interferencia alguna por parte de éstos.

d) El método es exacto y posee un coeficiente de variación bajo que corresponde a 0.7572 % , sus límites son; 99.9 % a 101.9 % .
(tabla VIII.3).

e) El método posee precisión, aunque presenta efecto por día, lo cual indica que el analista no trabaja igual todos los días (tabla VIII.3), pero aún así es reproducible. Presenta también una repetibilidad aceptable de 2.4298 %.

En resumen; nuestro método es exacto, preciso, lo cual nos brinda la seguridad de proporcionar resultados más confiables que los que se proporcionan empleando el método oficial, el cual cumple de manera adecuada con el límite de detección, linealidad del sistema de medición y con la precisión, pero carece de exactitud (tabla VIII.3).

f) La tabla VIII.4 correspondiente a la especificidad del método analítico nos proporciona resultados que nos dejan ver con claridad que no existe interferencia alguna por parte de los medios de liberación empleados; ya que se sigue conservando la exactitud del método y los

coeficientes de variación son adecuados, lo cual nos brinda confianza para cuantificar solamente principio activo sin la interferencia de excipientes y/o medios de liberación.

g) En la tabla VIII.1 correspondiente a los lotes 01 y 02 de microgránulos de acción prolongada analizados por ambos métodos (A método oficial y B método diseñado) se obtienen resultados muy similares, tanto para su cuantificación directa como para la liberación del activo a X periodo de tiempo. Pero es evidente que el método B nos proporciona un mejor perfil del comportamiento de la liberación del activo a partir de la formulación (gráficas VIII.1 , VIII.2), debido a que se pueden cuantificar dos periodos más de liberación teniendo de esta manera 5 puntos (1a,2a,4a,6a y 8a Hr) con respecto al método A (oficial) el cual solo proporciona 3 puntos (1a,4a y 8a Hr) dando una gráfica poco definida.

X CONCLUSIONES.

Es evidente que la solubilidad del oxalato ácido de naftidrofuryl es una propiedad fisicoquímica determinante para la elección de un método analítico adecuado, que nos permita su cuantificación espectro fotométrica a partir de microgránulos de acción prolongada.

El método analítico diseñado, es un método que debe de substituir al método oficial, ya que no solo es de bajo costo, poco riesgo y con un tiempo de análisis menor, lo que nos permite proporcionar resultados confiables a la mayor brevedad posible, sino que además cuenta con la exactitud de la cual carece el método oficial. (tabla VIII.3 y VIII.Z).

Otra de las ventajas obtenidas con el presente método analítico es la obtención de un mejor perfil del comportamiento de liberación, proporcionando de esta manera datos más continuos que permiten realizar un mejor seguimiento de la velocidad de liberación del activo a lo largo del tiempo.

También con dicho método (B) se pueden analizar hasta 4 lotes de producto a la vez, debido a que por cada lote se ocupan dos de las 8 canastillas con que cuenta el equipo de liberación "Diffutest " y no

los 6 espacios que se ocupan por lote empleando el método oficial (A), logrando así una mayor eficacia y eficiencia, además de obtener un mejor provecho del equipo, analizando más de un lote ó también analizando otro producto distinto, que también sea de liberación prolongada.

Otro de los puntos importantes a considerar, es el hecho de que el presente método cumple satisfactoriamente con todos los parámetros que se requieren para una validación; lo cual implica que la capacidad de dicho método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

XI. PROPUESTA.

Se propone que; de ser posible se fabriquen lotes piloto de microgránulos de acción prolongada con diferentes concentraciones de material de recubrimiento y que sean sometidos a análisis empleando el método diseñado, con la finalidad de demostrar que en verdad el método es aplicable desde el inicio de la manufactura del producto hasta la finalización del mismo.

También se propone que el presente método analítico sea aplicado a estudios de estabilidad, con el propósito de investigar si con dicho método se tiene la capacidad de eliminar interferencias por parte de productos de degradación del oxalato ácido de naftidrofuryl y de los excipientes, sobre todo de los materiales de recubrimiento.

ANEXO.

VALIDACION.

Formulario:

$$\text{Pendiente: } m = \frac{n \text{ SXY} - (\text{SX}) (\text{SY})}{n \text{ SX}^2 - (\text{SX})^2}$$

$$\text{Ordenada al origen. } b = \bar{Y} - mX$$

$$\text{Coeficiente de correlación } r^2 = \frac{[n \text{ SX} - (\text{SX}) (\text{SY})]^2}{[n \text{ SX}^2 - (\text{SX})^2] [n \text{ SY}^2 - (\text{SY})^2]}$$

$$\text{Error experimental. } S_{Y/X} = \sqrt{\frac{\text{SY}^2 - b \text{ SY} - m \text{ SXY}}{n}}$$

$$\text{Error típico de experimentación modificado. } \hat{S}_{Y/X} = \sqrt{\frac{n}{n-2}} * S_{Y/X}$$

$$t_{\text{cal}} = \frac{b - 0}{\hat{S}_{Y/X} \sqrt{\frac{\text{SX}^2}{n [S(X - \bar{X})^2]}}} \quad \text{para la ordenada al origen.}$$

Intervalo de confianza para la ordenada al origen:

$$b - \left(t \frac{\alpha}{2} * \hat{S}_{Y/X} \sqrt{\frac{\text{SX}^2}{n [S(X - \bar{X})^2]}} \right) < b < \left(t \frac{\alpha}{2} * \hat{S}_{Y/X} \sqrt{\frac{\text{SX}^2}{n [S(X - \bar{X})^2]}} \right)$$

$$t \text{ cal para la pendiente} = \frac{(n-1) S_X \sqrt{n-1}}{\hat{S}_{Y/X}}$$

Intervalo de confianza para la pendiente.

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

$$\text{Desviación estándar. } S = \sqrt{\frac{S_Y^2 - \left(\frac{(S_Y)^2}{n} \right)}{n-1}}$$

$$\text{Coeficiente de variación CV \%} = \frac{S}{\bar{Y}} * 100$$

Exactitud.

$$T_{\text{cal}} = \frac{(\bar{Y} - 100) \sqrt{n}}{S}$$

Intervalo de confianza.

$$\bar{Y} \pm t * \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Repetibilidad

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

$$\text{Intervalo de confianza. } \sqrt{\frac{(n-1) S^2}{1 - \frac{\alpha}{2}}} < \sqrt{\frac{(n-1) S^2}{\frac{\alpha}{2}}}$$

$$\sigma = \frac{s (X - \bar{X})^2}{n}$$

Reproducibilidad.

$$\frac{SY_{i..}^2}{jk} = \frac{Y_{1..}^2 + Y_{2..}^2}{jk}$$

$$\frac{Y_{...}^2}{i j k} = \frac{Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + \dots + Y_{223}}{i j k}$$

$$\frac{SS Y_{ij.}^2}{k} = \frac{Y_{11.}^2 + Y_{12.}^2 + Y_{21.}^2 + Y_{22.}^2}{k}$$

$$F \text{ cal Analista} = \frac{MC A (i)}{MC Dj (i)}$$

$$F \text{ cal analista/dfa} = \frac{MC D}{MC E}$$

$$MC A_i = \frac{SC A}{i - 1}$$

$$MC D_j = \frac{SC D}{(j - 1) i}$$

$$MC E_k (ij) = \frac{SC E}{(k - 1) j}$$

Suma de cuadrados.

$$SC A = \frac{SY_{i..}^2}{jk} - \frac{Y^2 \dots}{i j k}$$

$$SC D = \frac{SS Y_{ij}^2}{k} - \frac{SY_{i..}^2}{jk}$$

$$SC E = \frac{SSS Y_{ijk}^2}{k} - \frac{SS Y_{ij}^2}{k}$$

Calibración de los espectrofotómetros

Beckman DU - 70 y Beckman Mod 35.

Con filtro de Holmium.

Longitud de onda ideal (nm).	Longitud de onda real (nm).	
	DU - 70	Mod 35
278.80	278.90	278.85
287.35	287.45	287.40
333.35	333.40	333.30
418.20	418.20	418.30
445.45	445.45	445.50
459.55	459.60	459.60
536.10	536.25	536.25
637.15	637.30	637.50
648.48	648.40	648.40

Con Dicromato de potasio. (60.63 mg/1000 ml de ácido sulfúrico 0.01 N).

Longitud de onda ideal (nm).	Abs ideal.	Longitud de onda real (nm).		Abs real.	
		DU-70	Mod 35	DU-70	Mod 35
235.00	0.748	233.75	235.00	0.740	0.742
257.00	0.865	256.75	256.25	0.868	0.858
313.00	0.292	312.50	312.75	0.2852	0.289
350.00	0.640	350.00	349.75	0.6480	0.6370

BIBLIOGRAFIA.

1. ATach, J.M., Biofarmacia. Ed. El Manual Moderno. México. 1983.
2. Ballard, B.E., Nelson, E., Prolonged Action Pharmaceuticals in Remington's Pharmaceuticals Science. XVI. Ed. Mack Publishing Company. USA. 1970.
3. Lehman, K., Pharm International. No 3 (1971).
4. Lehman, K., Dreher, D., Pharmaceutical Technology International. 34 (1972).
5. Niebergall, P. J., Goyan, J.E., Disolution Rate Studies I. J. Pharm. Sci 52, 29 - 33. 1963.
6. Niebergall, P. J., Patel., M.Y., Sugital. E.T., Simultaneous Determination of Disolution and Partitioning Rates in vitro. J. Pharmaceutical. Sci 56, 943 - 947. 1967.
7. Connors, K., Kennon, L.I., Chemical Stabillite of Pharmaceutical A Handbook for Pharmacists. A Wiley Interscience Publication. John Wiley & Sons. USA. 1979.

8. Goodman, L., Gilman, A y Goodman, A., Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Sexta edición, Edit ; Médica Panamericana. México 1982.
9. Connors, K. A., A Textbook of Pharmaceutical Analysis. Second Edition, John Wiley & Sons, Inc. New York 1975.
10. Clarke, E. G. C., Isolation and identification of drugs. The Pharmaceutical Press. London 1978. Vol 2.
11. Helman, J., Farmacotecnia Teórica y Práctica. Tomo VI. Edit Continental, S.A. México 1982.
12. Benita, S., Dronbrow, M., Effect of Polyisobutylene on ethyl-cellulose - walled Microcapsules. Journal of Pharmaceutical Sci, Vol 71. # 2, 1982.
13. Nolen, R. L., Microencapsulation and Fabrication of Fuel Pellets for Internal Confinement Fusion. Journal of Pharmaceutical Sci , Vol 70, # 4. 1971.
14. Gutierrez, C. R, Martínez, M. C, Soberón, E., Estudios de Estabilidad de Acetaminofén, Carbamazepina y Trihidrato de Ampicilina Substancias de referencia. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. México. 1981.

15. The United States Pharmacopeia XXI and National Formulary.
XVI edition. Mack Printing Company Easton, P.A. USA, 1985.
16. The United States Pharmacopeia XXII and National Formulary.
XVII edition. Mack Printing Company Easton, P.A. USA 1990.
17. Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos. Cuarta edición. S.S.A., México 1974.
18. British Pharmacopeia. Vol 1, 2. England 1980.
19. The Extra Pharmacopeia. Martindale, edited By Normand W. Blacow.,
Twenty sixth edition., London 1972.
20. Litter. M., Farmacología experimental y Clínica. Séptima edición.
Edit; Ateneo., Buenos Aires 1986.
21. Eudragit L y S. Empleo en la fabricación de medicamentos.
Röhm Pharma G.M.B.H (folleto).
22. Lehman, K., Practical Course in Lacquer Coating. Röhm Pharma.
Germany 1979.
23. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas PLM. 35a edición.
México 1986

24. Merck & Co., The Merck Index. Ninth edition. New York, USA 1976.
25. Litter, M., Farmacología General. Edit; El Ateneo. Buenos Aires 1974.
26. Eudragit Resinas Acrílicas. Röhm Pharma. (folleto).
27. Guía de Prácticas Adecuadas De Manufactura Farmacéutica.
Comisión Institucional De Prácticas Adecuadas De Manufactura
Para La Industria Farmacéutica A.C. 3a edición. México 1988.
28. Gale, W., Instrumental Methods of Chemical Analysis. Edit; Mc
Graw Hill, USA 1975.
30. Douglas A. Skoog, Donal. N. West., Fundamentos de Química
Analítica. Edit; Reverté. México 1979.
31. Vogel, Arthur I., Química Analítica Cuantitativa. Edit;
Kapelusz. Vol I. Buenos Aires 1969.