

16-A
2 eje.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE ACIDO UNDECILENICO TOTAL EN CREMA Y POLVO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
LEONCIO JOSE LUIS CRUZ ANGELES

U N A M
ZARAGOZA



LEONARDO
1971

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1994



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.

2012
ESTR
DE LA
BIBLIOTECA
NO DEBE
SER
REPRODUCIDA
NI
DISTRIBUIDA

Entre mas obstáculos encuentres en
el camino, mas grande es el sabor
del triunfo.

A mis hermanos: Norma y Hugo.

A quien me dió la vida,
y a quien con su esfuerzo
he logrado esta meta:

MI MADRE.

A Anselmo Angeles, Isidra López
y a sus hijos Angel y Laura por
su apoyo incondicional.

A mis maestros.

A Laboratorios Columbia, por haber
permitido la realización de este
trabajo, en especial a
Q.F.B. José Inés Juárez
y a todo el personal del laboratorio
de Control de Calidad.

A mis amigos y compañeros:
Elizabeth, Genaro, Manuel y Sara.

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCION.....	1
II. FUNDAMENTOS.....	4
1. ACIDO UNDECILENICO.....	4
1.1. FORMULA.....	4
1.2. DESCRIPCION.....	4
1.3. SOLUBILIDAD.....	4
1.4. PUNTO DE FUSION.....	5
1.5. PUNTO DE EBULLICION.....	5
1.6. DENSIDAD.....	5
1.7. INDICE DE YODO.....	6
1.8. INDICE DE REFRACCION.....	6
1.9. ROTACION ESPECIFICA.....	6
1.10. OBTENCION.....	7
1.10.1. A PARTIR DE ACEITE DE CASTOR.....	7
1.10.2. SINTESIS.....	8
1.11. METODOS DE ANALISIS.....	9
1.11.1. VOLUMETRIA.....	9
1.11.2. CROMATOGRAFIA DE GASES.....	9
1.11.3. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS.....	10

2. CROMATOGRAFIA.....	11
2.1. CROMATOGRAFIA DE GASES.....	12
2.2. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS.....	13
2.2.1. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCION....	14
3. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS.....	18
3.1. LINEARIDAD.....	18
3.1.1. LINEARIDAD DEL SISTEMA.....	19
3.1.1.1. CRITERIO.....	19
3.1.2. LINEARIDAD DEL METODO.....	19
3.1.2.1. CRITERIO.....	20
3.2. EXACTITUD.....	21
3.2.1. CRITERIO.....	21
3.3. PRECISION.....	21
3.3.1. REPRODUCIBILIDAD.....	22
3.3.1.1. CRITERIO.....	23
3.4. ESPECIFICIDAD.....	23
3.4.1. CRITERIO.....	24
3.5. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.....	24
3.5.1. CRITERIO.....	25
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	26
IV. OBJETIVOS.....	29

V. HIPOTESIS.....	30
VI. METODOLOGIA.....	31
1. MATERIAL.....	31
2. EQUIPO.....	32
3. REACTIVOS.....	33
4. PROCEDIMIENTO.....	34
4.1. FASE MOVIL.....	36
4.2. SOLUCION DEL ESTANDAR INTERNO.....	37
4.3. SOLUCION ESTANDAR.....	37
4.4. SOLUCION MUESTRA.....	38
4.5. CONDICIONES CROMATOGRAFICAS.....	38
4.6. CONDICIONES DEL INTEGRADOR.....	38
4.7. PARAMETROS DE VALIDACION EVALUADOS.....	40
4.7.1. LINEARIDAD DEL SISTEMA.....	40
4.7.2. PRECISION DEL SISTEMA.....	41
4.7.3. ESPECIFICIDAD DEL METODO.....	41
4.7.4. LINEARIDAD DEL METODO.....	41
4.7.5. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%.....	42
4.7.6. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD).....	42
4.7.7. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.....	42

VII. RESULTADOS	44
1. METODO ANALITICO.....	44
1.1. ESTANDARIZACION DEL ACIDO UNDECILENICO Y UNDECILENATO DE ZINC.....	44
1.2. ESPECTRO ULTRAVIOLETA DEL ACIDO UNDECILENICO.....	44
1.3. TIEMPOS DE RETENCION APROXIMADOS PARA EL ACIDO UNDECILENICO Y TOLNAFTATO.....	45
2. LINEARIDAD DEL SISTEMA.....	46
2.1. COEFICIENTE DE CORRELACION, COEFICIENTE DE DETERMINACION, PENDIENTE Y LA ORDENADA AL ORIGEN.....	46
2.2. COEFICIENTE DE VARIACION.....	47
2.3. ANALISIS DE VARIANZA.....	47
2.4. GRAFICA.....	48
3. PRECISION DEL SISTEMA.....	49
3.1. COEFICIENTE DE VARIACION.....	49
4. ESPECIFICIDAD DEL METODO PARA CREMA.....	50
5. ESPECIFICIDAD DEL METODO PARA POLVO.....	51

6. LINEARIDAD DEL METODO PARA CREMA.....	52
6.1. COEFICIENTE DE CORRELACION, COEFICIENTE DE DETERMINACION, PENDIENTE Y LA ORDENADA AL ORIGEN.....	52
6.2. CONTRATE DE HIPOTESIS PARA $m=1$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE.....	53
6.3. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $b=0$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ORDENADA AL ORIGEN.....	53
6.4. COEFICIENTE DE VARIACION DE LOS PORCIENTOS DE RECOBRO.....	54
6.5. GRAFICA.....	55
7. LINEARIDAD DEL METODO PARA POLVO.....	56
7.1. COEFICIENTE DE CORRELACION, COEFICIENTE DE DETERMINACION, PENDIENTE Y LA ORDENADA AL ORIGEN.....	56
7.2. CONTRATE DE HIPOTESIS PARA $m=1$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA PENDIENTE.....	57
7.3. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $b=0$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ORDENADA AL ORIGEN.....	57
7.4. COEFICIENTE DE VARIACION DE LOS PORCIENTOS DE RECOBRO.....	58
7.5. GRAFICA.....	59

8. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100% PARA CREMA.....	80
8.1. COEFICIENTE DE VARIACION.....	80
8.2. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $R=100$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA DEL PORCIENTO DE RECOBRO..	80
8.3. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $\alpha \leq 2$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL VALOR DE LA DESVIACION ESTANDAR EN LA REPETIBILIDAD DEL METODO.....	81
9. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100% PARA POLVO.....	82
9.1. COEFICIENTE DE VARIACION.....	82
9.2. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $R=100$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA DEL PORCIENTO DE RECOBRO..	82
9.3. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $\alpha \leq 2$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL VALOR DE LA DESVIACION ESTANDAR EN LA REPETIBILIDAD DEL METODO.....	83
10. PRECISION DEL METODO (REPRODUCIBILIDAD) PARA CREMA.	84
10.1. COEFICIENTE DE VARIACION.....	84
10.2. ANALISIS DE VARIANZA.....	85
11. PRECISION DEL METODO (REPRODUCIBILIDAD) PARA POLVO.	86
11.1. COEFICIENTE DE VARIACION.....	86
11.2. ANALISIS DE VARIANZA.....	87

12. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA PARA CREMA.....	68
12.1. INTERVALO DE CONFIANZA A TEMPERATURA AMBIENTE POR 48 HORAS.....	68
12.2. FACTOR I.....	69
13. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA PARA POLVO.....	70
13.1. INTERVALO DE CONFIANZA A TEMPERATURA AMBIENTE POR 48 HORAS.....	70
13.2. FACTOR I.....	71
VIII. DISCUSION DE RESULTADOS.....	72
1. DEL METODO ANALITICO DESARROLLADO.....	72
2. DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO.....	73
2.1. LINEARIDAD DEL SISTEMA.....	73
2.2. PRECISION DEL SISTEMA.....	73
2.3. ESPECIFICIDAD DEL METODO.....	74
2.4. LINEARIDAD DEL METODO.....	74
2.5. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%.....	75
2.6. PRECISION DEL METODO (REPRODUCIBILIDAD).....	76
2.7. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.....	77
IX. CONCLUSIONES.....	78

X. ANEXOS	79
1. FORMULAS DE CALCULO.....	79
2. ABREVIATURAS.....	85
3. TABLAS.....	87
XI. BIBLIOGRAFIA.....	92

INDICE DE TABLAS.

TABLA I. Temperaturas de ebullición del ácido undecilénico a distintas presiones.....	5
TABLA II. Densidades del ácido undecilénico a distintas temperaturas.....	6
TABLA III. Criterios de aceptación para el promedio de recobros y coeficiente de variación en la linealidad y exactitud del método.....	20
TABLA IV. Resultados analíticos de concentración vs respuesta para la linealidad del sistema....	40
TABLA V. Tabla de análisis de varianza para la regresión.....	47
TABLA VI. Resultados analíticos (captura de la muestra/ altura del estándar interno) para la precisión del sistema.....	49
TABLA VII. Resultados analíticos de cantidad adicionada vs cantidad recuperada para la linealidad del método para crema.....	52
TABLA VIII. Porcientos recuperados para la linealidad del método para crema.....	54
TABLA IX. Resultados analíticos de cantidad adicionada vs cantidad recuperada para la linealidad del método para polvo.....	56
TABLA X. Porcientos recuperados para la linealidad del método para polvo.....	58
TABLA XI. Resultados analíticos del por ciento	

	recuperado para la exactitud y repetibilidad al 100% del método para crema.....	60
TABLA XII.	Resultados analíticos del porcentaje recuperado para la exactitud y repetibilidad al 100% del método para polvo.	62
TABLA XIII.	Tabla de porcentos de recobro por día y analista, para la reproducibilidad del método para crema.....	64
TABLA XIV.	Tabla de análisis de varianza para cada una de las fuentes de variación en la reproducibilidad del método para crema.....	65
TABLA XV.	Tabla de porcentos de recobro por día y por analista, para la reproducibilidad del método en para polvo.....	66
TABLA XVI.	Tabla de análisis de varianza para cada una de las fuentes de variación en la reproducibilidad del método para polvo.....	67
TABLA XVII.	Porcentajes recuperados del análisis de las mismas muestras, inicial y 48 horas después a temperatura ambiente para la estabilidad de la muestra analítica para crema.....	68
TABLA XVIII.	Porcentajes recuperados del análisis de las mismas muestras, inicial y 48 horas después a temperatura ambiente para la estabilidad de la muestra analítica para polvo.....	70

TABLA XIX. Tabla de cálculos en el análisis de varianza de la regresión.....	81
TABLA XX. Tabla de cálculos en el análisis de varianza para la reproducibilidad del método.....	84
TABLA XXI. Tabla de valores de la distribución- t de Student.....	87
TABLA XXII. Tabla de valores de la distribución χ^2	88
TABLA XXIII. Tabla de valores de la distribución F de Fischer con una probabilidad acumulada de 0.975.....	90
TABLA XIV. Tabla de valores t^* de Dunnett con una probabilidad acumulada de 0.975.....	91

INDICE DE FIGURAS.

- FIGURA I. Espectro ultravioleta del ácido undecilénico
en fase móvil.....44
- FIGURA II. Cromatogramas que muestran la especificidad
del método en crema.....50
- FIGURA III. Cromatogramas que muestran la
especificidad del método en polvo.....51

INDICE DE GRAFICAS.

- GRAFICA I. Gráfica de concentración vs respuesta en la
linearidad del sistema.....48
- GRAFICA II. Gráfica de cantidad adicionada vs cantidad
recuperada en la linearidad del método
para crema.....55
- GRAFICA III. Gráfica de cantidad adicionada vs
cantidad recuperada en la linearidad
del método para polvo.....59

I. INTRODUCCION.

La investigación y el interés por combatir las dermatomicosis, ha reportado como agentes antimicrobianos a ciertos ácidos grasos y compuestos relacionados ^{1 2 3}.

Se ha encontrado que la actividad sobre los hongos de los ácidos grasos saturados con mas de 11 átomos de carbono aumenta conforme se aumenta el número de átomos de carbono en la cadena, los ácidos grasos con cadenas laterales son menos activos que estos con cadenas lineales e igual número de átomos de carbono, y la sustitución de hidrógeno por hidroxilo disminuye la actividad ¹.

También ha sido demostrado que sobre los hongos saprófitos la actividad óptima es con los ácidos de 12 átomos de carbono, que los aniones de los ácidos grasos son inactivos, que los ácidos grasos insaturados son mas activos que sus correspondientes ácidos grasos saturados y que los ácidos dicarboxílicos carecen de actividad ¹.

El ácido undecilénico, un ácido graso de 11 átomos de carbono, es activo contra diversos hongos; sin embargo, es fungistático y no fungicida ^{1 2 3}, aunque puede observarse actividad fungicida tras larga

exposición a concentraciones elevadas ².

El ácido undecilénico se presenta en diversas formas farmacéuticas, estas incluyen: espumas, ungüentos, polvos, jabones, soluciones, aerosoles y champúes ^{2 3}.
4. Muy a menudo se acompaña de sus sales de zinc, cobre y calcio ^{4 5}.

Los preparados de ácido undecilénico, se emplean en varias dermatomycosis, especialmente en la tinea del pie (pie de atleta). Las concentraciones de ácido así como su sal de zinc para su aplicación a la piel son de hasta el 10 y 20% respectivamente. Para su uso en mucosas, las concentraciones de ácido no deben ser mayores del 1%. Generalmente, los preparados, no son irritantes para los tejidos en las concentraciones citadas, y la sensibilización a las mismas no es común. Los preparados, suministran indudables beneficios en el retardo del crecimiento fúngico en el pie de atleta, pero frecuentemente la infección persiste a pesar del tratamiento intensivo aún con preparados compuestos del ácido y su sal de zinc, y cuando mucho el índice de curación clínica es de alrededor del 50% ⁶. La eficacia en el tratamiento de *Tinea capitis* (tinea del pelo) es marginal, y el fármaco ya no se usa para este fin ^{2 7}.

Este trabajo, presenta el desarrollo y validación de

un método analítico para cuantificar ácido undecilénico total mediante el uso de la cromatografía de líquidos de alta resolución en dos formas farmacéuticas, que son polvo y crema.

Los parámetros de validación evaluados en el método analítico para cada una de las formas farmacéuticas fueron: Linearidad del sistema, precisión del sistema, linealidad del método, exactitud y repetibilidad al 100%, precisión del método (reproducibilidad) y estabilidad de la muestra.

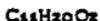
Los resultados muestran que el método es específico, lineal, preciso, exacto y la muestra analítica estable dentro de las 48 horas posteriores a su preparación para ambas formas farmacéuticas.

II. FUNDAMENTOS.

1. ACIDO UNDECILENICO.

1.1. FORMULA.

El ácido undecilénico, también es llamado ácido-10-undecenoico, ácido-10-hendecenoico y ácido-9-undecilénico. Está compuesto de un 71.69% de carbono, 10.94% de hidrógeno y un 17.36% de oxígeno. Su peso molecular es de 184.27 ^g.



(1).

1.2. DESCRIPCION.

El ácido undecilénico, es un líquido claro incoloro o amarillo pálido, o una masa blanca o amarilla pálida con olor característico ⁴.

1.3. SOLUBILIDAD.

Prácticamente insoluble en agua, soluble en alcohol, cloroformo y éter ⁴.

1.4. PUNTO DE FUSION.

El punto de fusión del ácido-10-undecenoico es de 24.5 grados centígrados ^o.

1.5. PUNTO DE EBULLICION.

Las temperaturas de ebullición a diferentes condiciones de presión son:

Presión (mm de Hg).	Temperatura de ebullición (°C).
760	275 (desc.)
182	232 - 235
130	230 - 235
100	213.5
80	198 - 200
15	168.3
1	131

TABLA I. Temperaturas de ebullición del ácido undecilénico a distintas presiones ^o.

1.6. DENSIDAD.

La densidad del ácido-10-undecenoico a diferentes

temperaturas se muestra a continuación:

Temperatura (°C)	Densidad (g/ml)
4 - 24 (vacío)	0.8072
25	0.8102
45	0.8093
4 - 79.9 (vacío)	0.8553

TABLA II. Densidades del ácido - undecenoico a distintas temperaturas ⁸.

1.7. INDICE DE YODO.

El índice de yodo del ácido undecilénico es 137.3 ⁸, la USP lo especifica entre 131 y 138 ¹⁰.

1.8. INDICE DE REFRACCION.

El índice de refracción está entre 1.447 y 1.448 ¹⁰.

1.9. ROTACION ESPECIFICA.

La rotación específica a 25 grados centígrados y con la línea D del sodio es 1.4486 ⁸.

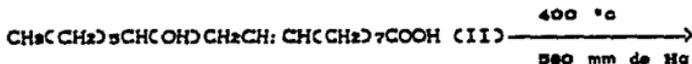
1.10. OBTENCION.

1.10.1. A PARTIR DE ACEITE DE CASTOR ¹ 2.

El aceite de castor es derivada de la habichuela de la planta de castor, *Rícínus communis* L., de la familia Euphobiaceae. El aceite de castor es también conocido como aceite de ricino, es típico de la mayoría de las grasas, es un triglicérido de ácidos grasos, es única en su tipo, y la grasa contiene del 87 a 90% de ácido ricinoleico (ácido-cis-12-hidroxióctadec-9-enoico) (II):

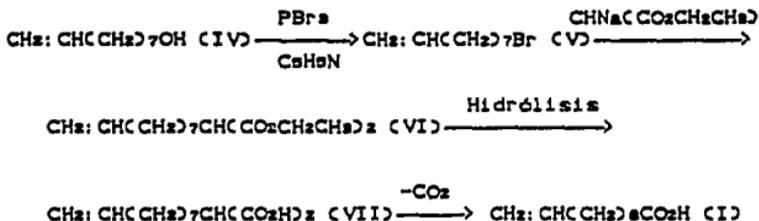


Para la obtención del ácido-10-undecenoico a partir del aceite de ricino, Perkins y Cruz ², encontraron que la destilación a 400 grados centígrados bajo una presión de 580 mm de mercurio de este aceite producía un destilado compuesto de alrededor de 40% de heptaldehído (CIII) y 20% de ácido undecilénico (I).



1.10.2. SINTESIS.

Gaubert y cols. ^B, sintetizaron ácido undecilónico a partir de 8-nonen-1-ol (IV) mediante la siguiente secuencia de reacciones:



(VI) Diéster etílico del ácido nonenilmalónico.

La descarboxilación del ácido nonenilmalónico (VII), fué llevado a cabo a una temperatura de 140 °C por tres horas; el residuo que solidificó por enfriamiento fué disuelto en una solución de bicarbonato y se le extrajo el material neutro por extracciones con éter; la solución remanente se acidificó y extrajo con éter; la destilación del último extracto seco produjo un rendimiento del 53%. El ácido undecilónico así obtenido tuvo un punto de fusión de 24 a 24.5 °C.

1.11. METODOS DE ANALISIS.

1.11.1. VOLUMETRIA.

El National Formulary 5, describe un método para la cuantificación del ácido undecilénico en unguento, el cual, involucra extracciones con éter etílico y una titulación posterior con hidróxido de sodio.

1.11.2. CROMATOGRAFIA DE GASES.

La United States Pharmacopeia, en su vigésima segunda edición ¹⁰, describe un método por cromatografía de gases para la cuantificación total de ácido undecilénico a partir de un unguento que también contiene la sal de zinc del ácido. El método involucra extracciones con cloroformo al unguento que ha sido acidificado con ácido clorhídrico; el ácido undecilénico extraído es sometido a una reacción de derivación con bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida durante 30 minutos y cuantificado así por cromatografía de gases. El sistema cromatográfico descrito es un equipo con detector de ionización de flama, una columna de 1.8 m de longitud por 2 mm de diámetro interno, empacada con un soporte de malla de 100 a 200 de tierra silíceo para cromatografía de gases que ha sido mezclada con diatomita y carbonato de sodio y calcinada a 800 °C; y con un 3% de aceite de

polisiloxano como fase líquida. El gas acarreador es helio, la temperatura de la columna de 165 °C, el flujo del gas acarreador de 30 ml por minuto, el estándar interno es ácido tridecanoico y el volumen de inyección recomendado entre 2 a 5 microlitros.

1.11.3. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS.

Leung y Leung ⁴, desarrollaron un método por cromatografía de líquidos de alta resolución para la determinación del ácido undecenoico en preparados dermatológicos con detección ultravioleta directa. Para ello extrajeron el ácido a partir de una dispersión acuosa con cloroformo, posteriormente para la separación y cuantificación usaron una columna de octadecil-sílica de 25 cm de longitud por 4.6 mm de diámetro interno y un tamaño de partícula de 7 μ de diámetro, un flujo de 1.5 ml por minuto de una fase móvil compuesta de 0.65 partes de acetonitrilo y 0.35 partes de ácido fosfórico al 0.1%, tolnaftato como estándar interno, una longitud de onda de detección de 200 nm. Se obtiene un tiempo de retención del ácido undecilénico de alrededor de 6 minutos y el del estándar interno de alrededor de 12 minutos.

2. CROMATOGRAFIA.

La cromatografía es una técnica desarrollada a principios de siglo, que permite la separación de sustancias que se encuentran en una mezcla. El nombre cromatografía se debe a que las primeras separaciones se llevaron a cabo con pigmentos de plantas, los cuales, se observan como bandas coloridas. En general, la cromatografía es un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil, gas o líquido, y retenidos selectivamente por una fase estacionaria que puede ser un líquido o un sólido. De acuerdo a la naturaleza de las fases involucradas y los mecanismos de separación, la cromatografía se divide en m :

CROMATOGRAFIA DE GASES	[Cromatografía de gas-líquido (partición).
		Cromatografía de gas-sólido (adsorción).

CROMATOGRAFIA
LIQUIDA.

Cromatografía
plana.

Cromatografía en
capa delgada
(adsorción).

Cromatografía en
papel (partición).

Cromatografía
en
columna.

Cromatografía
líquido-sólido
(adsorción).

Cromatografía
líquido-líquido
(partición).

Cromatografía de
intercambio
iónico.

Cromatografía de
exclusión.

2.1. CROMATOGRAFIA DE GASES.

La cromatografía de gases es de los primeros y el más maduro de todos los métodos cromatográficos instrumentales ^{17, 18}.

En la cromatografía de gases, la fase móvil es un gas y la fase estacionaria es un líquido o sólido. En la cromatografía gas-líquido, la fase estacionaria líquida es inmovilizada como una capa delgada sobre un soporte sólido inerte finamente dividido, tales como tierra silicea molida y calcinada, perlas de vidrio o sobre la pared interior de un tubo de pequeño diámetro. Si el tubo

es llenado con un sólido finamente dividido recubierto con un líquido, es llamada columna empacada. Si la pared interior de un tubo de pequeño diámetro es cubierta con un líquido, es llamada columna capilar o tubular abierta. Si el interior de la pared de la columna tubular abierta es tratada depositando un soporte irregular o poroso que ha sido recubierto con la fase líquida, es llamada columna tubular abierta con soporte recubierto. En la cromatografía gas-sólido, la situación es idéntica, excepto que la fase líquida está ausente y el sólido son adsorbentes activos, tales como alúmina, sílica gel, o carbón 9 16 17.

Los sistemas de detección usados en cromatografía de gases son el de conductividad térmica, de ionización de flama, de captura de electrones, entre otros 9 17, 19.

2.2. CROMATOGRAFIA LIQUIDA.

En la cromatografía líquida moderna, se usan sistemas de alta presión para abastecer de líquido a través de columnas que son empacadas con pequeñas partículas. Esta forma optimizada de cromatografía ha revolucionado muchos métodos analíticos debido a su eficiencia, rapidez y capacidad cuantitativa. Esta técnica es conocida como cromatografía de líquidos de alta resolución o cromatografía de líquidos de alta

presión, y no pocas veces es referida como HPLC (de las siglas en inglés "High Performance Liquid Chromatography").

2.2.1. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCION.

Las formas de cromatografía líquidos de alta resolución mas usadas son: Intercambio Iónico, Partición, Adsorción y Exclusión Molecular ^{9 10 11 12}.

La cromatografía de intercambio iónico es usada en la separación de materiales iónicos o ionizables de pesos moleculares menores a 1500. Las fases estacionarias de intercambio iónico son usualmente resinas orgánicas sintéticas. Las resinas de intercambio catiónico contienen sitios activos negativamente cargados, y son usadas para separar sustancias básicas tales como aminas; mientras que las resinas de intercambio aniónico tienen sitios activos de carga positiva, las cuales, se usan para separar sustancias con grupos tales como fosfatos, sulfonatos o carboxilatos, que están negativamente cargados. El pH de la fase móvil, la temperatura, el tipo de ión, la concentración iónica y modificadores orgánicos afectan la atracción del soluto, por lo que, estas variables deberán ser ajustadas para obtener el grado de separación deseado.

En la cromatografía de partición, se usan fases móviles y estacionarias de diferente polaridad. Si la fase móvil es polar y la fase estacionaria no polar, se refiere a la cromatografía en fase reversa, en la cual es factible separar, por su afinidad a la fase estacionaria, compuestos no polares con peso molecular menor a 1000, tales como vitaminas liposolubles y antraquinonas. Si la fase móvil es no polar y la fase estacionaria polar, se puede cromatografiar material polar como lo son alcoholes y aminas.

La cromatografía de adsorción, involucra el uso de sólidos adsorbentes como fase estacionaria, los cuales son partículas de gran área superficial donde las moléculas son atraídas y retenidas, dando lugar a la separación. Este tipo de cromatografía es usada para la separación de compuestos no iónicos.

En la cromatografía de exclusión molecular, el empaque es un material poroso donde el tamaño del poro esta bien definido. De esta manera las moléculas que son demasiado grandes para el poro salen rápidamente de la columna que las que son pequeñas, debido a que al penetrar en los poros prolongan su tiempo de elución. Este tipo de cromatografía es muy empleado para separar compuestos por su tamaño molecular.

Aunque los modos originales de cromatografía de líquidos de alta resolución fueron los de adsorción y partición, estos han sido reemplazados por el uso de fases enlazadas, a tal grado que en la actualidad raras veces se llevan a cabo las separaciones líquido-líquido. La cromatografía usando fases enlazadas, es más fácil, más versátil, más rápida y tiene mucho mayor reproducibilidad que los métodos más viejos. En una fase enlazada, la superficie polar más alta de la sílica es alterada por el ataque de grupos funcionales, que pueden ser no polares (por ejemplo: octadecilo, fenilo, octilo) polares (por ejemplo: amino, ciano) o ionizables (por ejemplo: ácido sulfónico, amonio cuaternario). Así también, la introducción de grupos ionizables produce fases enlazadas con propiedades útiles para llevar a cabo separaciones por intercambio iónico ².

Los detectores más comúnmente usados en cromatografía de líquidos de alta resolución son el ultravioleta, el fluorómetro, el detector ultravioleta con arreglo de diodos y el refractómetro diferencial, entre otros ² ² ².

Para llevar a cabo una separación con el uso de la cromatografía de gases, se cuenta con tan solo un mínimo de variables entre las cuales está regida la selectividad; estas son: el tipo de columna, la

temperatura (elución isotérmica o con gradiente), la preparación de derivados, además de la alta eficiencia de las columnas y en general por la superioridad de los detectores. No así, la cromatografía de líquidos de alta resolución, sin embargo, tiene la ventaja de poseer un gran número de variables que pueden ser usadas para variar la selectividad [2, 23]; estas son:

- Tipo de disolvente (metanol, acetonitrilo, tetrahidrofurano, agua).
- Porcentaje de la fase orgánica - agua.
- pH
- Tipo de columna.
- Concentración de aditivos (soluciones amortiguadoras, sales).
- Temperatura.

3. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS 24.

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

La validación de un método analítico se define como el proceso en el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

Los parámetros a valorar en un método analítico dependen de la aplicación del mismo. Entre estos parámetros están: la linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, especificidad, tolerancia y estabilidad de la muestra.

3.1. LINEARIDAD.

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

3.1.1. LINEARIDAD DEL SISTEMA.

Se determina construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida) utilizando cuando menos 5 diluciones preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo análisis cuando menos por duplicado para cada dilución.

El intervalo de concentraciones a analizar dependerá del propósito del método, y deberá estar incluida la concentración seleccionada como 100% (Se considerará el 100% como la concentración de la muestra en la solución final a analizar que proporciona una respuesta adecuada dependiendo del método de cuantificación).

3.1.1.1. Criterio.

$$CV \leq 1.5\%$$

$$r \geq 0.99$$

$$r^2 \geq 0.98$$

3.1.2. LINEARIDAD DEL METODO.

Se determina a partir de placebos adicionados de cuando menos 3 diferentes cantidades de la muestra de interés (placebos cargados), cada uno de manera independiente, haciendo los análisis por triplicado. Las

concentraciones de los placebos cargados deben ser las adecuadas para que, utilizando el método propuesto, las concentraciones de las soluciones finales a analizar estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema, incluyendo siempre la correspondiente al 100%.

La amplitud del estudio dependerá de del uso y aplicaciones del método y deberá llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación.

3.1.2.1. Criterio.

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada: $m = 1$, $b = 0$, $r^2 \geq 0.98$. Los porcentos recuperados y los CV a cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad deberán estar de acuerdo con la Tabla III.

METODO	PROMEDIO DE RECOBRO	CV
Cromatográficos	98 - 102%	$\leq 2\%$
Volumétricos	98 - 102%	$\leq 2\%$
Químicos y espectrofotométricos	97 - 103%	$\leq 3\%$
Microbiológicos	95 - 105%	$\leq 5\%$

TABLA III. Criterios de aceptación para el promedio de recobros y coeficiente de variación en la linealidad y exactitud del método.

Para suspensiones y semisólidos se acepta una ampliación del 1% en el intervalo expresado en el promedio de recobro y el $CV \leq 3\%$.

3.2. EXACTITUD.

La exactitud de un método analítico, es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porciento de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

Se determina de cuando menos 6 placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de sustancia de interés para obtener la concentración del 100%, utilizando el método propuesto y haciendo el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

3.2.1. CRITERIO.

El porciento recuperado y el coeficiente de variación deberán estar de acuerdo a la Tabla III.

3.3. PRECISION.

La precisión de un método analítico es el grado de

concordancia 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 expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparato, laboratorio, etc.).

b) REPRODUCIBILIDAD. Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre las determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes (diferentes analistas, en diferentes días en el mismo y/o en diferentes laboratorios, utilizando el mismo y/o diferentes equipos, etc.).

3.3.1. REPRODUCIBILIDAD.

Se determina de una muestra homogénea del producto

cercana al 100% de la concentración teórica, analizada cuando menos por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado.

3.3.1.1. Criterio.

El CV total debe cumplir con los siguientes criterios:

<u>METODO</u>	<u>CV</u>
Cromatográficos	≤ 2%
Químicos y espectrofotométricos	≤ 3%
Microbiológicos	≤ 5%

Cuando se establece la fuente de variación del método mediante un análisis de varianza, los criterios son: $F_{calc} < F_{teo}$ para determinar la reproducibilidad del método analítico para cualesquiera de las fuentes de variación.

3.4. ESPECIFICIDAD.

Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

Se determina analizando placebos del producto. Se identifican la(s) respuesta(s) del(los) activo(s), y si procede de los excipientes y/o de otras sustancias presentes.

3.4.1. CRITERIO.

Confirmar que el método desarrollado es capaz de cuantificar la sustancia de interés sin que exista interferencia de otras sustancias presentes.

3.5. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.

Es la propiedad de una muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de la sustancia de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.

Se determina almacenando las muestras inicialmente analizadas bajo distintas condiciones (por ejemplo: temperatura ambiente, refrigeración, protegidas de la luz, etc.), durante un tiempo predeterminado por el analista dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de la sustancia. Se reanalizan bajo las mismas condiciones de operación, utilizando una solución de referencia recientemente preparada, para cada tiempo, de acuerdo a

lo establecido en el método analítico. La determinación debe ser efectuada por un mismo analista.

3.5.1. CRITERIO.

La muestra es estable si el intervalo de confianza (IC) para la diferencia de la media de la muestra con respecto a la media del análisis inicial incluye el valor de cero y/o la magnitud del efecto no excede los siguientes porcentajes:

Cromatográficos	± 2%
Volumétricos	± 2%
Químicos y espectrofotométricos	± 3%
Microbiológicos	± 5%

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Para combatir y contribuir al tratamiento de micosis superficiales, un laboratorio farmacéutico produce en dos distintas formas farmacéuticas, polvo y crema, un producto que contiene en su formulación ácido undecilénico y undecilenato de zinc como agentes antimicóticos.

La concentración de ácido undecilénico y undecilenato de zinc son del 2 y 17% en el polvo y del 4 y 10% en la crema respectivamente.

El análisis químico cuantitativo del ácido undecilénico incluido en las formas farmacéuticas antes mencionadas, no es incluido en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. El National Formulary XIII, describe un método para ungüentos que involucra la separación del ácido undecilénico por extracciones y una posterior cuantificación por volumetría con hidróxido de sodio. La Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP), en su XXII edición, incluye un método para la cuantificación de ácido undecilénico total en un ungüento que contiene ácido undecilénico y undecilenato de zinc; este método involucra la hidrólisis del undecilenato de zinc, la extracción del ácido undecilénico total, la derivación del ácido con bis-trimetilsilil-

trifluoroacetamida y la cuantificación del derivado por cromatografía de gases con detección por ionización de flama.

El método descrito por el National Formulary, a pesar de su sencillez, es poco específico y tiende a formar emulsiones con ciertos ungüentos. El método de la USP, es comparativa y mayormente específico, pero requiere de un reactivo de derivación relativamente inestable y caro, incluyendo que para el análisis cromatográfico de cada muestra se requiere de un tiempo relativamente grande, además de que el resultado obtenido depende directamente del grado de derivación logrado.

Actualmente, el laboratorio farmacéutico cuantifica al ácido undecilénico, tanto en la crema como en el polvo, mediante la síntesis de undecilenato de zinc a partir del ácido undecilénico presente en la muestra con un exceso de sulfato de zinc y cuantificando la cantidad de zinc consumido por la muestra mediante un método volumétrico con E.D.T.A.. Sin embargo, este método también es inespecífico y es bastante cuestionable la cuantitatividad de la reacción llevada a cabo. El undecilenato de zinc, por su parte, es cuantificado sin mayor problema mediante la utilización de una técnica por absorción atómica.

Como puede observarse, los métodos analíticos antes mencionados tienen sus propias deficiencias y limitaciones en la cuantificación de ácido undecilénico. Es por ello que en este trabajo se pretende desarrollar un método analítico para cuantificar al ácido undecilénico total y que pueda superar esta problemática, además de que como parte integral del desarrollo de un método analítico se llevara a cabo la validación del mismo para probar se efectividad.

IV. OBJETIVOS.

1. Desarrollar un método analítico, para control de calidad, por cromatografía de líquidos de alta resolución para la cuantificación de ácido undecilénico total en las formas farmacéuticas de polvo y crema.

2. Validar el método analítico desarrollado, involucrando los siguientes parámetros:
 - a) Linearidad del sistema.
 - b) Precisión del sistema.
 - c) Linearidad del método.
 - d) Exactitud y repetibilidad al 100%.
 - e) Precisión (reproducibilidad).
 - f) Especificidad
 - g) Estabilidad de la muestra.

V. HIPOTESIS.

La cromatografía es un método de separación de los componentes de una mezcla que ha sufrido constantes cambios que casi siempre han sido encaminados a aumentar su eficacia en las separaciones, a tal grado que ha llegado a ser un método muy útil en el análisis químico cuantitativo; una de las variantes de la cromatografía, es la de líquidos de alta resolución, la cual, aplicada a la cuantificación de ácido undecilénico bajo condiciones adecuadas, este será satisfactorio para poder ser usado como un método de control de calidad que permita conocer la cantidad de ácido presente en las dos distintas formas farmacéuticas (polvo y crema).

VI. METODOLOGIA.

1. MATERIAL.

- Embudos de separación 125 ml.
- Soporte universal.
- Anillos para soporte
- Matraces volumétricos de 50 y 100 ml.
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5 y 10 ml.
- Embudos de filtración tallo corto.
- Vasos de precipitados de 250 ml.
- Algodón.
- Papel filtro Whatman No. 4.
- Membranas de 0.45 micras de tamaño de poro millipore.
- Matraces kitazato de 500 ml.
- Columna de octadecil-silica de 15 cm de longitud, 4.8 cm de diámetro interno y 5 micras de tamaño de partícula, Spherisorb.

2. EQUIPO.

- Equipo de microfiltración por vacío millipore.
- Equipo de baño ultrasónico Mettler ME 4.6.
- Espectrofotómetro UV/VIS Beckman DU 68.
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución con los siguientes componentes.
 - +Sistema de bombeo Beckman 114M.
 - +Loop de inyección de 40 μ l Beckman 340.
 - +Detector UV de longitud de onda variable Beckman 163.
 - +Integrador Spectra Physics SP4290.

3. REACTIVOS.

-Agua deionizada.

-Acido fosfórico R. A. J. T. Baker.

-Acetonitrilo grado HPLC Omnisolv.

-Tolnaftato R. A. Sigma.

-Acido undecilénico R. A. Merk.

-Undecilenato de zinc R. A. Merck.

-Solución de ácido clorhídrico 1 N. Sigma.

-Cloroformo R. A. J. T. Baker.

-Metanol R. A. J. T. Baker.

4. PROCEDIMIENTO.

1. Se llevó a cabo la estandarización de ácido undecilénico y undecilenato de zinc mediante el uso de técnicas volumétricas ácido-base como lo describe la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica ¹³, para ambos casos.

2. Se determinó el espectro ultravioleta del ácido undecilénico en la fase móvil descrita por Leung y Leung ¹⁴ para su análisis cromatográfico (Ácido fosfórico 0.1% : Acetonitrilo, 35:65), entre las longitudes de onda de 200 y 300 nm usando como blanco la misma fase móvil.

3. Se reprodujo el análisis cromatográfico descrito por Leung y cols. aplicándose a varias soluciones de ácido undecilénico en fase móvil como disolvente exclusivo, en concentraciones aproximadas de 30, 60 y 90 µg por ml, con la variante de usar una columna de menor longitud y de menor tamaño de partícula, 15 cm y 5 µ respectivamente. Se identificó el pico y tiempo de retención correspondiente al ácido undecilénico en los cromatogramas obtenidos.

4. Se reprodujo el procedimiento del paso anterior para el tolnaftato (estándar interno) a concentraciones

aproximadas de 1, 2, 3, 4 y 5 μg por ml, para identificar el pico y su tiempo de retención en los cromatogramas obtenidos.

5. Se estableció un sistema de ácido undecilénico y tolnaftato disueltos en fase móvil a concentraciones de 60 y 2.2 μg por ml respectivamente para ser utilizado como estándar de referencia en la cuantificación de ácido undecilénico contenido en distintas muestras.

6. Establecidas las condiciones anteriores, se procedió a cuantificar ácido undecilénico total a partir de crema y polvo de distintas muestras de las formas farmacéuticas así como a placebos sin ácido undecilénico y undecilenato de zinc de las mismas, a las cuales se pretendía aplicar el método. Para ello se pesaron cantidades de muestra de crema, polvo y placebos de ambas formas farmacéuticas equivalentes a 60 mg de ácido undecilénico total, se pasaron a embudos de separación de 125 ml, se suspendieron en 50 ml de ácido clorhídrico 1 N y se dejaron reposar durante 30 minutos con agitación ocasional. Se extrajo con tres porciones de cloroformo de 40 ml recibiendo los extractos en vasos de precipitado que contenían perlas de ebullición y filtrándolos a través de pequeños trozos de algodón. Se removió el cloroformo, se reconstituyó con metanol transvasándose cuantitativamente a un matraces volumétricos de 100 ml.

se mezcló y aforó con metanol; la solución resultante se filtró a través de papel whatman No. 4, se tomaron alícuotas de 5 ml del filtrado y se transvasaron a matraces volumétricos de 50 ml, se adicionaron 2 ml de solución de estándar interno (tolnaftato disuelto en fase móvil a una concentración aproximada de 55 µg por ml), se mezcló y llevó a volumen con fase móvil. Todas las muestras se filtraron a través de membranas de 0.45 µ y se inyectaron al cromatógrafo para la cuantificación del ácido undecilénico contenido en las muestras y para observar que no existía interferencia para ello debida a los excipientes de cada forma farmacéutica, lo cual, se efectuó con la ayuda de los placebos procesados y usando como referencia el sistema de de ácido undecilénico - tolinaftato descrito anteriormente.

Las condiciones finales del método desarrollado se describen a continuación:

4.1. FASE MOVIL.

Se diluyó 1 ml de ácido fosfórico R. A. en 1000 ml de agua deionizada (solución al 0.1% v/v).

Se mezclaron 35 partes de ácido fosfórico al 0.1% con 55 partes de acetonitrilo HPLC. La solución resultante se filtró a través de membranas de 0.45 µ de

tamaño de poro y se degasificó mediante baño ultrasónico durante 10 minutos.

4.2. SOLUCION DEL ESTANDAR INTERNO.

Se pesaron aproximadamente 5.5 mg de tolnaftato R. A., se pasaron a un matraz volumétrico de 100 ml, se disolvió y aforó con fase móvil (concentración: 55 $\mu\text{g/ml}$).

4.3. SOLUCION ESTANDAR.

Se pesaron con exactitud alrededor de 150 mg de ácido undecilénico estándar de referencia, se pasaron a un matraz volumétrico de 50 ml, se disolvió y llevó a volumen con metanol R. A.

Se transvasó una alícuota de 10 ml de la solución resultante a un matraz volumétrico de 50 ml, se llevó a volumen con fase móvil.

Se transvasaron 5 ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50 ml, se adicionaron 2 ml de solución de estándar interno, se mezcló y aforó con fase móvil.

La solución final (concentración: 60 y 2.2 $\mu\text{g/ml}$ de ácido undecilénico y tolnaftato respectivamente), se

filtró a través de una membrana de 0.45μ de tamaño de poro y se inyectó al cromatógrafo.

4.4. SOLUCION MUESTRA.

Se pesó una cantidad de forma farmacéutica equivalente a 60 mg de ácido undecilénico total (365.3 y 480.5 mg para polvo y crema respectivamente), se transfirió a un embudo de separación de 125 ml. Se adicionaron 50 ml de una solución de ácido clorhídrico 1 N, se dispersó la muestra y se permitió reposar durante 30 minutos con agitación ocasional (2 a 3 veces). Se extrajo con una porción de 40 ml de cloroformo, se filtró a través de una pequeña capa de algodón la capa orgánica y se colocó en un vaso de precipitados de 250 ml que contenía perlas de ebullición. Se repitió por dos veces mas la extracción y se combinaron los extractos.

Se evaporó completamente el cloroformo, se reconstituyó con aproximadamente 30 a 40 ml de metanol absoluto, se transvasó cuantitativamente a un matraz volumétrico de 100 ml y aforó con el mismo disolvente. Se filtró la muestra por papel whatman número 4 desechándose los primeros mililitros del filtrado. Se tomó una alícuota de 5 ml del filtrado y se pasó a un matraz volumétrico de 50 ml, se añadieron 2 ml de solución de estándar interno, se mezcló y se llevó a volumen con fase

móvil.

La solución resultante (concentración final de 60 y 2.2 $\mu\text{g/ml}$ de ácido undecilénico total y tolnaftato respectivamente), se filtró a través de una membrana de 0.45 μ de tamaño de poro y se inyectó al cromatógrafo.

4.5. CONDICIONES CROMATOGRAFICAS.

- Columna de octadecil-silica de 15 cm de longitud, 4.6 mm de diámetro interno y 5 micras de tamaño de partícula.
- Velocidad de flujo de la fase móvil 1.5 ml por minuto.
- Presión aproximada 1.15 Kpsi.
- Rango de absorbancia 0.05 (sensibilidad).
- Volumen de inyección 40 microlitros.

4.6. CONDICIONES DEL INTEGRADOR.

- Modo de integración por alturas.
- Atenuación 16.
- Velocidad de carta 0.5 cm por minuto.
- Área mínima de rechazo 100 000.
- Amplitud del pico 3.
- Nivel de ruido (PTD) 200.

4.7. PARAMETROS DE VALIDACION EVALUADOS.

Los parámetros evaluados se llevaron a cabo tanto para polvo como para crema, y se realizaron de acuerdo a lo siguiente:

4.7.1. LINEARIDAD DEL SISTEMA.

Se llevó a cabo mediante la preparación de una solución stock de ácido undecilénico como a continuación se describe:

En un matraz volumétrico de 50 ml se pesaron 150.1 mg de ácido undecilénico estándar de referencia, se disolvió y llevó a volumen con metanol R. A.. Se tomó una alícuota de 5 ml de esta solución y se pasaron a un matraz volumétrico de 50 ml, se mezcló y aforó con fase móvil.

De esta solución stock, por duplicado, se midieron por separado alícuotas de 6, 8, 10, 12 y 14 ml, se colocaron en matraces volumétricos de 50 ml, a cada matraz se añadieron 2 ml de solución de estándar interno, se mezcló y aforó con fase móvil; obteniendo así las concentraciones del 60, 80, 100, 120 y 140%; cuyas concentraciones fueron de 36, 48, 60, 72 y 84 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente.

Todas las soluciones se filtraron a través de membranas de 0.45 micras de tamaño de poro, y se inyectaron al cromatógrafo.

4.7.2. PRECISION DEL SISTEMA.

Se llevó a cabo con el análisis por sextuplicado de una misma solución estándar correspondiente al 100% (80 $\mu\text{g/ml}$ de ácido undecilénico) de lo establecido en la linealidad del sistema.

4.7.3. ESPECIFICIDAD DEL METODO.

Con el método propuesto se hicieron análisis para cada una de las formas farmacéuticas de placebos y placebos adicionados, y se identificaron las respuestas del ácido undecilénico, tolnaftato (estándar interno) y excipientes.

4.7.4. LINEARIDAD DEL METODO.

El análisis se determinó por triplicado a partir de placebos adicionados de cinco diferentes cantidades de ácido undecilénico - undecilenato de zinc (placebos cargados de manera independiente con ambos principios activos en las cantidades proporcionales en que estas sustancias se encuentran en la forma farmacéutica), que

incluyeron el 60, 80, 100, 120 y 140% de ácido undecilénico total de las cantidades establecidas en la linealidad del sistema.

4.7.5. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%.

Se determinó de 6 placebos cargados de manera independiente con las cantidades de ácido undecilénico y undecilenato de zinc equivalentes al 100% de ácido undecilénico total de la cantidad establecida en la linealidad del sistema y al mismo tiempo en cantidades proporcionales en que se encuentran en la forma farmacéutica, utilizando el método propuesto y haciendo el análisis en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

4.7.6. PRECISION (REPRODUCIBILIDAD).

Se llevó a cabo a partir de una muestra homogénea de la forma farmacéutica cercana al 100% de la concentración teórica de ácido undecilénico total, analizada por dos analistas en dos días diferentes, por triplicado y usando las condiciones de operación del método propuesto.

4.7.7. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.

Se determinó analizando con el método propuesto a 3

muestras con una cantidad cercana al 100% de ácido undecilénico total de la establecida en la linealidad del sistema, y reanalizando las mismas muestras después de permanecer 48 horas en frascos de vidrio de color ámbar, tapa de plástico y a temperatura ambiente.

VII. RESULTADOS.

1. METODO ANALITICO.

1.1. ESTANDARIZACION DE ACIDO UNDECILENICO Y UNDECILENATO DE ZINC.

Acido undecilénico: 99.98% B. H.

Undecilenato de zinc: 99.76% B. H.

1.2. ESPECTRO ULTRAVIOLETA DEL ACIDO UNDECILENICO.

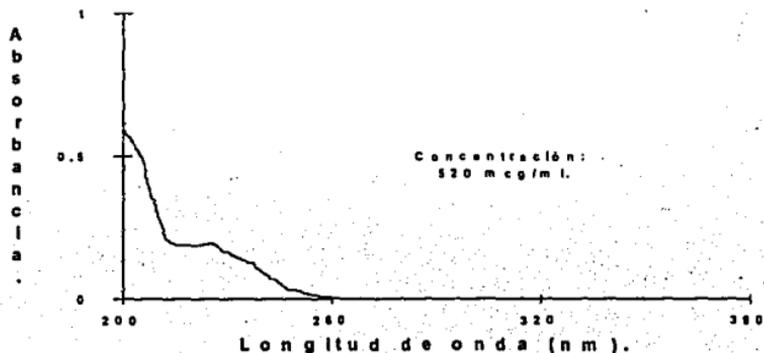


FIGURA I. Espectro ultravioleta del ácido undecilénico en fase móvil.

**1.3. TIEMPOS DE RETENCION APROXIMADOS PARA EL ACIDO
UNDECILENICO Y TOLNAFTATO.**

Acido undecilénico: 3 minutos aproximadamente.

Tolnafatato: 5.7 minutos aproximadamente.

2. LINEARIDAD DEL SISTEMA.

Concentración. C μ g/ml). X.	Respuesta. (Alt mtra/Alt std int).	
	Y.1	Y.2
36.024	0.484756	0.485687
48.032	0.663635	0.663762
60.040	0.809185	0.811485
72.048	0.997690	0.994243
84.056	1.167310	1.170760

TABLA IV. Resultados analíticos de concentración vs respuesta para la linealidad del sistema.

2.1. COEFICIENTE DE CORRELACION, COEFICIENTE DE DETERMINACION, PENDIENTE Y LA ORDENADA AL ORIGEN.

$$r=0.99945476$$

$$r^2=0.99890982$$

$$m=0.01415635$$

$$b=-0.0250962$$

2.2. COEFICIENTE DE VARIACION.

Relación respuesta/concentración.

F.1	F.2
0.01345647	0.01348232
0.01381652	0.01381916
0.01347743	0.01351574
0.01384757	0.01379973
0.01388729	0.01392833

CV=1.4117158%

2.3. ANALISIS DE VARIANZA.

Ho: La respuesta (Y) no depende de la concentración (X).

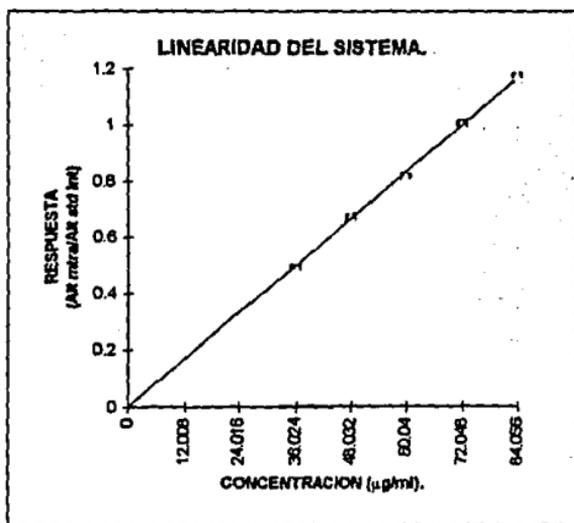
Ha: La respuesta (Y) depende de la concentración (X).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Fcalc	Fteo (*)
Regresión	1	0.57792	0.57792	7330.20	7.57
Error	8	0.00063	0.0000788		

Tabla V. Tabla de análisis de varianza para la regresión.

(*): El valor de Fteo con un nivel de significancia de 0.05.

2.4. GRAFICA.



GRAFICA 1. Gráfica de concentración vs respuesta en la linealidad del sistema.

3. PRECISION DEL SISTEMA.

Respuesta. (Alt mtra/Alt std int). Y
0.781626
0.792546
0.789955
0.783051
0.780697
0.782587

TABLA VI. Resultados analíticos (Altura de la muestra/Altura del estándar interno) para la precisión del sistema.

3.1. COEFICIENTE DE VARIACION.

$$CV=0.5460416\%$$

4. ESPECIFICIDAD DEL METODO PARA CREMA.

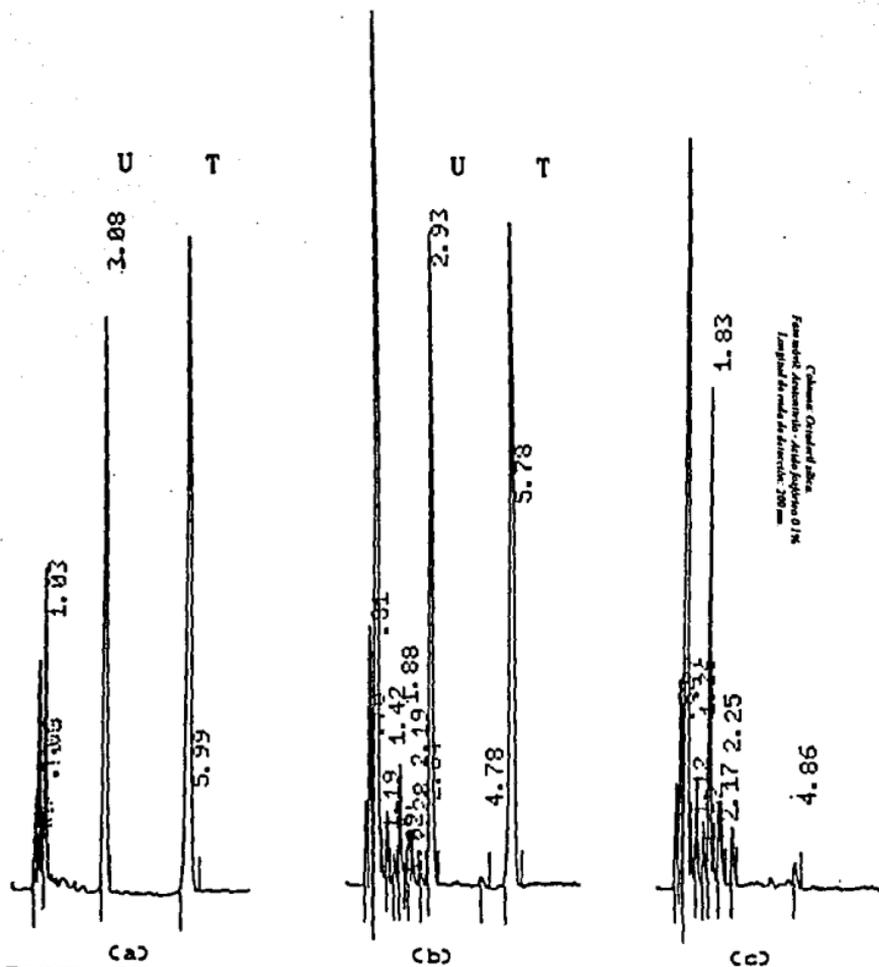


FIGURA II. Cromatogramas que muestran la especificidad del método en crema.

(a) Solución estándar.

(b) Solución muestra.

(c) Excipientes.

U: Acido undecilénico.

T: Tolnaftato.

5. ESPECIFICIDAD DEL METODO PARA POLVO.

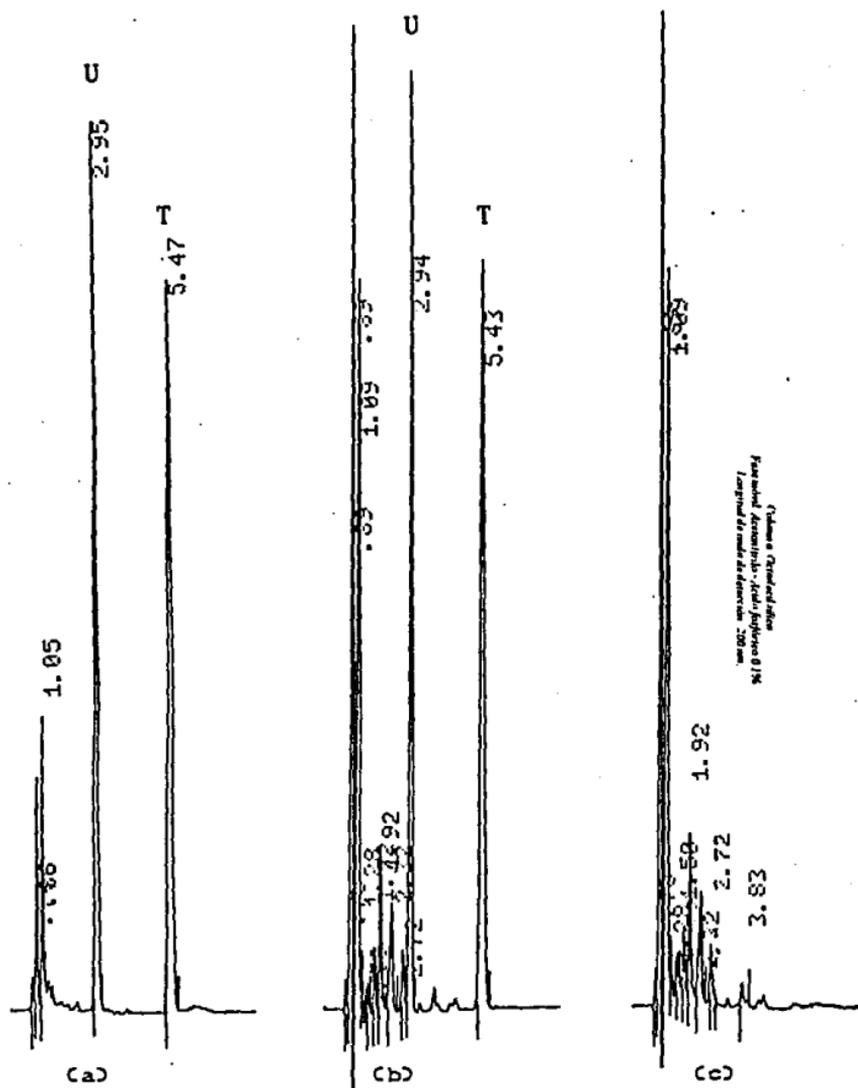


FIGURA III. Cromatogramas que muestran la especificidad del método en polvo.

(a) Solución estándar.

(b) Solución muestra.

(c) Excipientes.

U: Acido undecilénico.

T: Tolnaftato.

6. LINEARIDAD DEL METODO PARA CREMA.

Cantidad adicionada. (mg de ácido undecenoico total).			Cantidad recuperada.		
X.1	X.2	X.3	Y.1	Y.2	Y.3
36.31	36.73	36.98	36.30	36.88	36.79
48.38	48.46	48.06	48.87	49.05	48.59
61.38	60.79	60.95	60.28	60.22	60.57
72.12	72.03	72.00	72.09	72.08	72.15
84.86	84.94	84.74	84.41	84.61	84.45

TABLA VII. Resultados analíticos de cantidad adicionada vs cantidad recuperada para la linealidad del método para crema.

6.1. COEFICIENTE DE CORRELACION, COEFICIENTE DE DETERMINACION, PENDIENTE Y LA ORDENADA AL ORIGEN.

$$r=0.99971056$$

$$r^2=0.9994212$$

$$m=0.98988678$$

$$b=0.52001226$$

6.2. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $m=1$ E INTERVALO DE
CONFIANZA PARA LA PENDIENTE.

$$H_0: m=1$$

$$H_a: m \neq 1$$

$$\alpha=0.05 \quad \text{g.l.} = n-1$$

$$t_{\text{calc}} = -1.53067956 \quad t_{\text{teo}} = \pm 2.1325$$

$$\text{I.C.} = 0.97579733 < m < 1.00397623$$

6.3. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $b=0$ E INTERVALO DE
CONFIANZA PARA LA ORDENADA AL ORIGEN.

$$H_0: b=0$$

$$H_a: b \neq 0$$

$$\alpha=0.05 \quad \text{g.l.} = n-1$$

$$t_{\text{calc}} = 1.25091084 \quad t_{\text{teo}} = \pm 2.1315$$

$$\text{I.C.} = -0.36606712 < b < 1.40609184$$

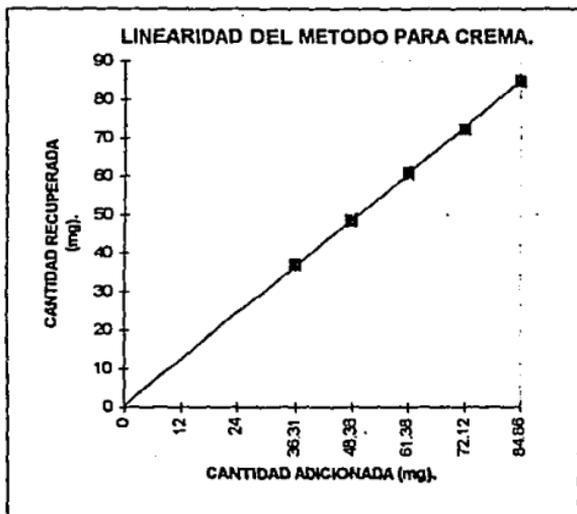
6.4. COEFICIENTE DE VARIACION DE LOS PORCIENTOS DE
RECUBRO.

PORCENTAJES RECUPERADOS.		
R. 1	R. 2	R. 3
99.9724584	100.408386	99.4662088
101.012815	101.217499	101.102786
99.2078853	99.0623458	99.3765381
99.9584027	100.0699418	100.208333
99.4697148	99.6114905	99.6577767

TABLA VIII. Porcientos recuperados para la linealidad del
método para crema.

CV=0.80872107%

6.5. GRAFICA,



GRAFICA II. Gráfica de cantidad adicionada vs cantidad recuperada en la linealidad del método para crema.

7. LINEARIDAD DEL METODO PARA POLVO.

Cantidad adicionada. (mg de ácido undecenoico total).			Cantidad recuperada.		
X. 1	X. 2	X. 3	Y. 1	Y. 2	Y. 3
36.10	36.87	36.52	35.70	35.91	36.10
48.68	48.60	48.70	48.45	47.70	49.11
60.92	61.09	60.85	61.59	60.56	60.72
73.75	72.99	73.27	74.09	71.83	72.98
85.48	86.74	85.77	86.74	86.94	85.63

TABLA IX. Resultados analíticos de cantidad adicionada vs cantidad recuperada para la linealidad del método para polvo.

7.1. COEFICIENTE DE CORRELACION, COEFICIENTE DE DETERMINACION, PENDIENTE Y LA ORDENADA AL ORIGEN.

$$r=0.99949818$$

$$r^2=0.99899557$$

$$m=1.01565827$$

$$b=-1.10842068$$

7.2. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $m=1$ E INTERVALO DE
CONFIANZA PARA LA PENDIENTE.

$$H_0: m=1$$

$$H_a: m \neq 1$$

$$\alpha=0.05 \quad \text{g.l.} = n-1$$

$$t_{\text{calc}}=1.75388605 \quad t_{\text{teo}}=\pm 2.1325$$

$$\text{IC}=0.99661809 < m < 1.03489445$$

7.3. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $b=0$ E INTERVALO DE
CONFIANZA PARA LA ORDENADA AL ORIGEN.

$$H_0: b=0$$

$$H_a: b \neq 0$$

$$\alpha=0.05 \quad \text{g.l.} = n-1$$

$$t_{\text{calc}}=-1.95385567 \quad t_{\text{teo}}=\pm 2.1315$$

$$\text{I.C.} = -2.31761885 < b < 0.10077748$$

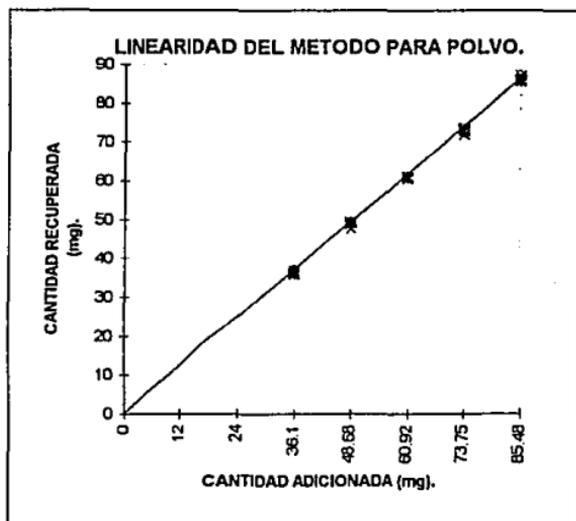
7.4. COEFICIENTE DE VARIACION DE LOS PORCIENTOS DE
RECOBRO.

PORCENTAJES RECUPERADOS.		
R. 1	R. 2	R. 3
98.8918668	97.3962571	98.8499452
99.5275267	98.1481481	100.841889
101.099803	99.1324276	99.7863599
100.461017	98.4107412	99.6042036
101.474029	100.230574	99.8367728

TABLA X. Porcientos recuperados para la linealidad del
del método para polvo.

CV=1.14478909%

7.5. GRAFICA.



GRAFICA III. Gráfica de cantidad adicionada vs cantidad recuperada en la linealidad del método para polvo.

8. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100% PARA CREMA.

Cantidad recuperada. C% R.
100.78
99.25
99.11
99.49
99.67
99.44

TABLA XI. Resultados analíticos del porcentaje recuperado para la exactitud y repetibilidad al 100% del método para crema.

8.1. COEFICIENTE DE VARIACION.

$$CV=0.6013198\%$$

8.2. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $R=100$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA DEL PORCIENTO DE RECOBRO EN LA EXACTITUD DEL METODO.

$$H_0: R=100$$

$$H_a: R \neq 100$$

$$\alpha=0.05 \quad \text{g.l. } =n-1$$

$$t_{\text{calc}}=-1.54016148 \quad t_{\text{teo}}=\pm 2.5706$$

$$\text{IC}=98.99465939 < \mu < 100.25200723$$

8.3. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $\sigma < 2$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL VALOR DE LA DESVIACION ESTANDAR EN LA REPETIBILIDAD DEL METODO.

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

$$H_a: \sigma > 2\%$$

$$\alpha=0.05 \quad \text{g.l. } n-1$$

$$\chi^2_{1-\alpha/2}=12.832 \quad \chi^2_{\alpha/2}=0.831$$

$$\chi^2_{\text{calc}}=4.19338368$$

$$\text{IC}=0.62572485 < \sigma < 2.45883885$$

9. EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100% PARA POLVO.

Cantidad recuperada. C% R.
99.30
100.15
100.54
100.45
100.34
99.76

TABLA XII. Resultados analíticos del porcentaje recuperado para la exactitud y repetibilidad al 100% del método para polvo.

9.1. COEFICIENTE DE VARIACION.

$$CV=0.4752192\%$$

9.2. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $R=100$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA DEL PORCIENTO DE RECOBRO EN LA EXACTITUD DEL METODO.

$$H_0: R=100$$

$$H_a: R \neq 100$$

$$\alpha=0.05 \quad \text{g.l.} = n-1$$

$$t_{\text{calc}}=0.4634826 \quad t_{\text{teo}}=\pm 2.5706$$

$$\text{IC}=99.59083563 < \mu < 100.5891644$$

9.3. CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA $\sigma \leq 2$ E INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL VALOR DE LA DESVIACION ESTANDAR EN LA REPETIBILIDAD DEL METODO.

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

$$H_a: \sigma > 2\%$$

$$\alpha=0.05 \quad \text{g.l.} = n-1$$

$$\chi^2_{1-\alpha/2}=12.832 \quad \chi^2_{\alpha/2}=0.831$$

$$\chi^2_{\text{calc}}=3.3295285$$

$$\text{IC}=0.49682282 < \sigma < 1.95230741$$

10. PRECISION DEL METODO (REPRODUCIBILIDAD) PARA CREMA.

		ANALISTA (1)			
		Y1..		Y2..	
		1		2	
		98.63		99.44	
1		99.30		99.98	D
		100.73		99.48	I
		100.03		98.80	A
2		99.30		99.13	CJ)
		99.91		100.01	

TABLA XIII. Tabla de porcentos de recobro por día y por analista, para la reproducibilidad del método para crema.

10.1. COEFICIENTE DE VARIACION.

$$CV=0.5981054\%$$

10.2. ANALISIS DE VARIANZA.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F _{calc}	F _{teo} (*)
Analista	1	0.09363	0.09363	0.8931	38.51
Día	2	0.20986	0.10483	0.2348	6.06
Error	8	3.57126	0.44640		

TABLA XIV. Tabla de análisis de varianza para cada una de las fuentes de variación en la reproducibilidad del método para crema.

(*) El valor de F_{teo} es tomando en cuenta los grados de libertad del numerador y los grados de libertad del denominador y con una probabilidad acumulada del 0.975.

11. PRECISION DEL METODO (REPRODUCIBILIDAD) PARA POLVO.

		ANALISTA (1)			
		Y1..		Y2..	
		1		2	
		98.80		100.46	
1		99.07		100.88	
		99.81		100.83	
		98.90		99.94	
2		98.70		99.98	
		99.47		100.14	
					D
					I
					A
					(J)

TABLA XV. Tabla de porcentos de recobro por día y por analista, para la reproducibilidad del método para polvo.

11.1. COEFICIENTE DE VARIACION.

$$CV=0.0.7854348\%$$

11.2. ANALISIS DE VARIANZA.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Fcalc	Fteo (*)
Analista	1	4.88963	4.88963	12.934	38.51
Día	2	0.75603	0.37806	3.8714	6.06
Error	8	0.78113	0.44540		

TABLA XVI. Tabla de análisis de varianza para cada una de las fuentes de variación en la reproducibilidad del método para polvo.

(*) El valor de Fteo es tomando en cuenta los grados de libertad del numerador y los grados de libertad del denominador y con una probabilidad acumulada de 0.975.

12. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA PARA CREMA.

Porcentaje recuperado. t_0 Y_0	Porcentaje recuperado. t_{48} Y_1
99.30	99.46
100.15	100.08
100.54	99.67

TABLA XVII. Porcentajes recuperados del análisis de las mismas muestras, inicial y 48 horas después a temperatura ambiente para la estabilidad de la muestra analítica para crema.

12.1. INTERVALO DE CONFIANZA A TEMPERATURA AMBIENTE POR
48 HORAS.

El valor de t de Dunnett contemplado para el cálculo de este intervalo es tomando en cuenta 2 comparaciones, 6 grados de libertad y con una probabilidad acumulada de 0.975.

$$IC = -1.21473053 \text{ a } 0.69473053$$

12.2. FACTOR I.

El siguiente resultado es el coeficiente de variación global (media de todos los factores I, los cuales son los coeficientes de variación para cada tiempo y muestra respecto al valor inicial).

$$\bar{I} = 99.74197\%$$

13. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA PARA POLVO.

Por ciento recuperado. to Yo	Por ciento recuperado. t ₄₈ Y ₁
100.78	99.44
99.25	99.41
99.11	99.92

TABLA XVIII. Porcentajes recuperados del análisis de las mismas muestras, inicial y 48 horas después a temperatura ambiente para la estabilidad de la muestra analítica para polvo.

13.1. INTERVALO DE CONFIANZA A TEMPERATURA AMBIENTE POR
48 HORAS.

El valor de t de Dunnett contemplado para el cálculo de este intervalo es tomando en cuenta 2 comparaciones, 8 grados de libertad y con una probabilidad acumulada de 0.975.

$$IC = -1.7662198 \text{ a } 0.85288626$$

13.2. FACTOR I.

El siguiente resultado es el coeficiente de variación global (media de todos los factores I, los cuales son los coeficientes de variación para cada tiempo y muestra respecto al valor inicial).

$$\bar{I} = 99.54662\%$$

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS.

1. DEL METODO ANALITICO DESARROLLADO.

El método analítico desarrollado en comparación con el descrito por Leung y cols. ¹⁴, difieren en un principio en las características de la columna usada en la separación, esto es la longitud y el tamaño de partícula del empaque. La longitud y el tamaño de partícula de la columna descrita por Leung, es de 25 cm y 7 μ de diámetro y la usada en este trabajo de 15 cm y 5 μ respectivamente. Sin embargo estas modificaciones no manifiestan interferencias ni ponen en riesgo la resolución en la separación del ácido undecilénico y del estándar interno (tolnaftato) de los excipientes de las formas farmacéuticas a las que se aplicó.

Otra variación significativa encontrada y consecuencia de la anterior, es la disminución del tiempo de análisis, ya que Leung y cols., obtienen un tiempo de retención del ácido undecilénico de alrededor de 8 minutos y del estándar interno de alrededor de 12 minutos, en comparación con los que se obtienen con el método que aquí se propone, que son del alrededor de 3 y 5.7 minutos para el ácido undecilénico y el estándar interno respectivamente.

2. DE LA VALIDACION DEL METODO ANALITICO.

2.1. LINEARIDAD DEL SISTEMA.

Para la linealidad del sistema se tiene que hay un coeficiente de correlación de 0.99945476, un coeficiente de determinación de 0.99890982, además de una pendiente de 0.01415635, un valor de la ordenada al origen de -0.0250862, la aceptación de H_0 en el análisis de varianza de la regresión, que aunque estos últimos no son parámetros que se incluyan como criterios de aceptación o rechazo en el Manual de validación de Métodos Analíticos 24, se consideran importantes para observar el comportamiento de la linealidad del sistema.

De acuerdo a los límites sugeridos por el Manual de Validación de Métodos Analíticos, que son para el coeficiente de correlación de 0.998 y para el coeficiente de determinación 0.98, aunado a que el coeficiente de variación resultante fué de 1.4117158%, es decir menor que el valor límite de 1.5%, se determina entonces; de esta manera que el sistema es lineal para el intervalo de concentraciones en las cuales se trabajó.

2.2. PRECISION DEL SISTEMA.

En la precisión del sistema se tiene que el

coeficiente de variación para los resultados analíticos es de 0.0580416%, menor al 1.5% del valor especificado para considerar la precisión del sistema, por lo cual se establece que el sistema es preciso.

2.3. ESPECIFICIDAD DEL METODO.

De acuerdo a los cromatogramas de las figuras 1 y 2, se observa que tanto para crema como para polvo, el método es capaz de cuantificar al ácido undecilénico sin que exista interferencia por ninguno de los excipientes de cada una de las formas farmacéuticas y sin que estos mismos causen interferencia a la respuesta del estándar interno. Por lo cual se considera al método como específico en la aplicación a cualesquiera de las formas farmacéuticas con las que se trabajó (crema y polvo).

2.4 LINEARIDAD DEL METODO.

Los criterios de aceptación para la linealidad del método son $m=1$, $b=0$, $r^2 \geq 0.98$, los coeficientes de variación de los porcentajes recuperados y los coeficiente de variación a cada nivel y los globales de todo el intervalo de la linealidad deberán ser menores o iguales al 2%.

Los resultados mostrados en la linealidad del método

para crema son $r=0.99971056$, $r^2=0.9994212$, $m=0.98988678$, $b=0.52001226$ y un $CV=0.80872107\%$. Dado que m y b pueden ser considerados como $m=1$ y $b=0$ de acuerdo a los contrastes de hipótesis e intervalos de confianza para estos parámetros, además de que se cumple con las especificaciones antes mencionadas, se considera al método lineal cuando es aplicado a la forma farmacéutica de crema.

Los resultados mostrados en la linealidad del método para polvo son $r=0.99949816$, $r^2=0.99899657$, $m=1.01565627$, $b=-1.10842068$, un $CV=1.14478909\%$ para los porcentos de recobro y los contrastes de hipótesis e intervalos de confianza para m y b mostrando que se pueden considerar a como 1 y 0 respectivamente; por tanto, tomando en cuenta el mismo criterio usado para la linealidad del método para crema; entonces, el método es lineal cuando se aplica a la forma farmacéutica de polvo.

2.5 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD AL 100%.

Los límites sugeridos por el Manual de Validación de Métodos Analíticos para la exactitud y repetibilidad al 100% del método son un coeficiente de variación menor o igual al 2% y un intervalo para la media del porcentaje de recobro entre 98 y 102%.

Los resultados muestran que el coeficiente de variación para crema es de 0.6013198% y para polvo de 0.4752192%; el intervalo de confianza para la media de los porcentajes recuperados es de 98.99465939 a 100.2520072 para crema y de 99.59083563 a 100.5991644 para polvo. Aunando esto a los intervalos de confianza para el valor de la desviación estándar de 0.62572485 a 2.45883885 para crema y de 0.49882282 a 1.99230741 para polvo, además de que el contraste de hipótesis para el valor de $\alpha \leq 2\%$ se acepta en ambos casos, hace que el método sea exacto y repetible al 100% tanto para crema como para polvo.

2.6. PRECISION DEL METODO (REPRODUCIBILIDAD).

En la precisión del método se tiene que este es preciso si el coeficiente de variación de los porcentos de recobro para los dos analistas en los dos días es menor o igual al 2%. Cuando se establece la fuente de variación mediante un análisis de varianza, el método es reproducible para cada fuente, cuando la Fcalc es menor a la Fteo.

Ya que el CV para crema es de 0.5961054% y para polvo de 0.7664348%, el método es preciso para ambas formas farmacéuticas.

Respecto a la fuentes de variación, se tiene que la F_{teo} para el analista es de 38.51 y para el día de 6.06; la F_{calc} para el analista para crema y polvo son 0.8931 y 12.934 respectivamente, la F_{calc} para el día para crema y polvo son de 0.2348 y 3.8714 también respectivamente, lo que hace que el método analítico sea reproducible por los analistas y reproducible en distintos días por un mismo analista, para ambas formas farmacéuticas.

2.7. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.

De acuerdo con el Manual de Validación de Métodos Analíticos editado por el colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos, se dice que la muestra es estable si el intervalo de confianza para la diferencia de la media del análisis inicial incluye al valor de cero y/o la magnitud del efecto (factor I) se encuentre entre el 98 y 102%.

Para este parámetro se tiene que el intervalo de confianza para 48 horas a temperatura ambiente, única condición a la que se evaluó este parámetro, es de -1.21473053 a 0.89473053 para crema y de -1.7662186 a 0.85288626 para polvo; además de que el factor I para crema es de 99.74197% y para polvo de 99.54662%, lo que hace que la muestra analítica sea estable en ambas formas farmacéuticas.

IX. CONCLUSIONES.

1. El método desarrollado es un método similar al descrito por Leung ^M, salvo que las variantes que se llevan a cabo en este método modifican notablemente los resultados cromatográficos, disminuyendo en alrededor de un 50% el tiempo de análisis, lo que hace de este, un método mas rápido y como consecuencia de menor costo, además de tener la ventaja de que se aplica a el análisis de dos distintas formas de preparados farmacéuticos (polvo y crema).

2. Dados los resultados de la validación se concluye que el método es específico, lineal, preciso, exacto y que la muestra analítica es estable por 48 horas para todas las condiciones y concentraciones con que se trabajó para crema y polvo.

3. Por lo anterior, el método analítico es factible de usar como un método rutinario de control de calidad para la cuantificación de ácido undecilénico total en las dos distintas formas farmacéuticas para las condiciones y concentraciones con que se trabajó.

X. ANEXOS.

1. FORMULAS DE CALCULO.

GENERALES.

$$\Sigma X = nCX_1 + X_2 + \dots + X_n$$

$$\Sigma Y = Y_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n} + Y_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n} + \dots + Y_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn}$$

$$\Sigma X^2 = nCX_1^2 + X_2^2 + \dots + X_n^2$$

$$\Sigma Y^2 = Y_{11}^2 + Y_{12}^2 + \dots + Y_{1n}^2 + Y_{21}^2 + Y_{22}^2 + \dots + Y_{2n}^2 + \dots + Y_{t1}^2 + Y_{t2}^2 + \dots + Y_{tn}^2$$

$$\Sigma XY = X_1CY_{11} + Y_{12} + \dots + Y_{1n} + X_2CY_{21} + Y_{22} + \dots + Y_{2n} + \dots + X_tCY_{t1} + Y_{t2} + \dots + Y_{tn}$$

Para de la DE y el CV. la x puede aplicarse como el factor F (relación respuesta/concentración en la linealidad del sistema), X, Y o a R.

$$s = DE = (CNC\Sigma x^2) - (C\Sigma x)^2 / (CNCN-1)$$

$$CV = DE * 100/\bar{x}$$

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

COEFICIENTE DE CORRELACION, COEFICIENTE DE DETERMINACION, PENDIENTE Y ORDENADA AL ORIGEN.

$$r = \frac{(n \sum XY - \sum X \sum Y) / \sqrt{(n \sum X^2 - (\sum X)^2)(n \sum Y^2 - (\sum Y)^2)}}{1}$$

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

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

$$b = \frac{\sum Y - m \sum X}{n}$$

CONTRASTE DE HIPOTESIS E INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL VALOR DE m .

$$t_{calc} = \frac{m - m_0}{s_{xy} / \sqrt{(n-1) s_x^2}}$$

$$IC = m - t_{1-\alpha/2} s_{xy} / \sqrt{(n-1) s_x^2} < m < m + t_{1-\alpha/2} s_{xy} / \sqrt{(n-1) s_x^2}$$

Donde: s_x = desviación estandar de los valores de x .

$$s_{yx} = \sqrt{((n-1)(s_y^2 - m^2 s_x^2)) / (n-2)}$$

s_y = desviación estándar de los valores de y .

CONTRASTE DE HIPOTESIS E INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL
VALOR DE b.

$$t_{calc} = (b - b_0) / (s_{xy} * \sqrt{1/n + \bar{x}^2 / ((n-1) * s_x^2)})^{1/2}$$

$$IC = b - t_{1-\alpha/2} * s_{xy} * \sqrt{1/n + \bar{x}^2 / ((n-1) * s_x^2)}^{1/2} < b < b + t_{1-\alpha/2} * s_{xy} * \sqrt{1/n + \bar{x}^2 / ((n-1) * s_x^2)}^{1/2}$$

ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Fcalc	Fteo
Regresión	glr=2-1	Sce	Mce = $\frac{Sce}{glr}$	Fc = $\frac{Mce}{Mci}$	Fglr / gle
Error	gle=n-2	Sci	Mci = $\frac{Sci}{gle}$		

TABLA XIX. Tabla de cálculos en el análisis de varianza de la regresión

Donde: $Sce = m\sum XY + b\sum Y - (\sum Y)^2/n$

$$Sci = \sum Y^2 - m\sum XY - b\sum Y$$

CONTRASTE DE HIPOTESIS E INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL
VALOR DEL PORCIENTO DE RECOBRO.

$$t_{calc} = (\bar{R} - \mu_0) / (s / \sqrt{n})^{1/2}$$

$$IC = \bar{R} - t_{1-\alpha/2} * (s / (n)^{1/2}) < \mu < \bar{R} + t_{1-\alpha/2} * (s / (n)^{1/2})$$

CONTRASTE DE HIPOTESIS E INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL VALOR DE LA DESVIACION ESTANDAR.

$$X^2_{calc} = (n-1) * s / \sigma_0$$

$$IC = ((n-1) * s^2 / X^2_{1-\alpha/2})^{1/2} < \sigma < ((n-1) * s^2 / X^2_{\alpha/2})^{1/2}$$

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA ESTABILIDAD DE LA MUESTRA.

$$LIIC = (\bar{Y}_1 - \bar{Y}_0) - t * (s^p * (2/3))^{1/2}$$

$$LSIC = (\bar{Y}_1 - \bar{Y}_0) + t * (s^p * (2/3))^{1/2}$$

$$\text{Donde: } s^p = (CNC(Y^2) - (CY)^2) / (CNCN - 1)$$

$$s^p = (2s^0 + 2s^1) / 2(c + 1)$$

ANALISIS DE VARIANZA EN LA REPRODUCIBILIDAD DEL METODO.

El modelo hipotético que representa este caso es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j(c_i) + \xi_k(i,j)$$

Y_{ijk} = El ensayo de la sustancia de interés de la kaésima muestra analizada por el iésimo analista en jésimo día.

μ = Media poblacional del ensayo de la sustancia de

interés en la muestra.

α_i =Efecto del analista en el ensayo (donde $i=1$ hasta a).

δ_j (j)=Efecto del día anidado en el analista (donde $j=1$ hasta d).

ϵ_k (i,j)=Error del método analítico (donde $k=1$ hasta r).

a =Número de analistas (donde $a=2$).

d =Número de días (donde $d=2$).

r =Número de replicaciones (donde $r=3$).

$$Y_{11.} = Y_{111} + Y_{112} + Y_{113}$$

$$Y_{12.} = Y_{121} + Y_{122} + Y_{123}$$

$$Y_{21.} = Y_{211} + Y_{212} + Y_{213}$$

$$Y_{22.} = Y_{221} + Y_{222} + Y_{223}$$

$$Y_{1..} = Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + Y_{122} + Y_{123}$$

$$Y_{2..} = Y_{211} + Y_{212} + Y_{213} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223}$$

$$Y_{...} = Y_{1..} + Y_{2..}$$

$$\sum \sum C(Y_{ij.})^2 = C(Y_{11.})^2 + C(Y_{12.})^2 + C(Y_{21.})^2 + C(Y_{22.})^2$$

$$\sum C(Y_{i..})^2 = C(Y_{1..})^2 + C(Y_{2..})^2$$

$$\sum \sum \sum C(Y_{ijk})^2 = Y_{111}^2 + Y_{112}^2 + Y_{113}^2 + \dots + Y_{221}^2 + Y_{222}^2 + Y_{223}^2$$

$$S_{ca} = \sum C(Y_{i..})^2 / dr - C(Y_{...})^2 / adr$$

$$S_{cd} = \sum \sum C(Y_{ij.})^2 / r - \sum C(Y_{i..})^2 / dr$$

$$S_{cd} = \frac{\sum \sum (Y_{ijk})^2}{r} - \frac{\sum (Y_{ij.})^2}{r}$$

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F _{calc}	F _{teo}
Analista (a)	g _{la} = a - 1	S _{ca}	M _{ca} = $\frac{S_{ca}}{g_{la}}$	F _a = $\frac{M_{ca}}{M_{cd}}$	F _{g_{la}, g_{ld}}
Día (b)	g _{ld} = (d - 1) * a	S _{cd}	M _{cd} = $\frac{S_{cd}}{g_{ld}}$	F _d = $\frac{M_{cd}}{M_{ce}}$	F _{g_{ld}, g_{le}}
Error (c)	g _{le} = (r - 1) * a * d	S _{ce}	M _{ce} = $\frac{S_{ce}}{g_{le}}$		

TABLA XX. Tabla de cálculos en el Análisis de Varianza para la reproducibilidad del método.

2. ABREVIATURAS.

- b: Ordenada al origen o intercepto.
- r: Coeficiente de correlación.
- r^2 : Coeficiente de correlación.
- CV: Coeficiente de variación.
- IC: Intervalo de confianza.
- Σ : Sumatoria.
- m: Pendiente.
- n: Número de aplicaciones.
- t: Número de diluciones o de cantidades adicionadas, o el valor de la distribución t de Student con una probabilidad acumulada de 0.975.
- \bar{Y} : Media aritmética.
- N: Número total de determinaciones.
- s: Desviación estándar.
- s^2 : Varianza.
- DE: Desviación estándar.
- X: Dilución o cantidad adicionada.
- Y: Propiedad medida o cantidad recuperada.
- H₀: Hipótesis nula.
- H_a: Hipótesis alterna.
- α : Nivel de significancia.
- χ^2 : Valor de la distribución de ji-cuadrada.
- σ : Desviación estándar poblacional.
- σ_0 : Valor de la desviación estándar poblacional que toma el valor presunto en H₀.
- R: Porcentaje recuperado.

- \bar{R} : Promedio aritmético del porciento recuperado.
- glr: Grados de libertad de la regresión.
- gle: Grados de libertad del error.
- Sce: Suma de cuadrados referentes a la desviación explicada o al error.
- Sci: Suma de cuadrados referentes a la desviación inexplicada.
- Mce: Media de cuadrados de la desviación explicada.
- Mci: Media de cuadrados de la desviación inexplicada.
- t°: Valor de la distribución t de Dunnett con una probabilidad acumulada del 0.975
- s²_p: Varianza ponderada.
- Sca: Suma de cuadrados referentes al analista.
- Scd: Suma de cuadrados referentes al día.
- Mca: Media de cuadrados referentes al analista.
- Mcd: Media de cuadrados referentes al día.
- F: Valor de la distribución F de Fischer con una probabilidad acumulada de 0.975 o factor para cálculos en la linealidad del sistema.
- gl: Grados de libertad.
- Y...: Total.
- I: Factor de cálculos en la estabilidad de la muestra.
- c: Número de comparaciones en la prueba t de Dunnett.

3. TABLAS.

ν	$t_{0.99}$	$t_{0.975}$	$t_{0.95}$	$t_{0.90}$	$t_{0.85}$	$t_{0.80}$	$t_{0.75}$	$t_{0.70}$	$t_{0.65}$
1	0.2501	0.7270	1.376	3.078	6.3138	12.706	31.821	63.657	636.619
2	0.2585	0.6172	1.061	1.886	2.9200	4.3027	6.965	9.9248	31.593
3	0.2669	0.5840	0.978	1.638	2.3534	3.1825	4.541	5.8409	12.924
4	0.2707	0.5692	0.941	1.533	2.1318	2.7764	3.747	4.6041	8.610
5	0.2728	0.5598	0.920	1.476	2.0150	2.5706	3.365	4.0321	6.609
6	0.2744	0.5536	0.906	1.440	1.9432	2.4469	3.143	3.7074	5.959
7	0.2757	0.5493	0.896	1.415	1.8946	2.3646	2.998	3.4995	5.408
8	0.2768	0.5461	0.889	1.397	1.8595	2.3060	2.896	3.3554	5.041
9	0.2776	0.5436	0.883	1.381	1.8331	2.2622	2.821	3.2498	4.781
10	0.2782	0.5416	0.879	1.372	1.8125	2.2281	2.764	3.1693	4.587
11	0.2786	0.5400	0.876	1.363	1.7939	2.2010	2.718	3.1058	4.437
12	0.2790	0.5387	0.873	1.356	1.7823	2.1788	2.681	3.0545	4.318
13	0.2793	0.5375	0.870	1.350	1.7709	2.1604	2.650	3.0123	4.221
14	0.2795	0.5366	0.868	1.345	1.7613	2.1448	2.624	2.9768	4.140
15	0.2797	0.5358	0.866	1.341	1.7530	2.1315	2.602	2.9467	4.073
16	0.2799	0.5358	0.865	1.337	1.7459	2.1199	2.583	2.9208	4.015
17	0.2800	0.5344	0.863	1.333	1.7396	2.1098	2.567	2.8982	3.965
18	0.2801	0.5338	0.862	1.330	1.7341	2.1009	2.552	2.8784	3.922
19	0.2802	0.5333	0.861	1.328	1.7291	2.0930	2.539	2.8609	3.883
20	0.2803	0.5329	0.860	1.325	1.7247	2.0860	2.528	2.8453	3.850
21	0.2804	0.5325	0.859	1.323	1.7207	2.0796	2.518	2.8314	3.819
22	0.2804	0.5321	0.858	1.321	1.7171	2.0739	2.508	2.8188	3.792
23	0.2805	0.5318	0.858	1.319	1.7139	2.0687	2.500	2.8073	3.767
24	0.2805	0.5315	0.857	1.318	1.7109	2.0639	2.492	2.7969	3.745
25	0.2806	0.5312	0.856	1.316	1.7081	2.0595	2.485	2.7874	3.725
26	0.2806	0.5309	0.856	1.315	1.7056	2.0555	2.479	2.7787	3.707
27	0.2806	0.5307	0.855	1.314	1.7033	2.0518	2.473	2.7707	3.690
28	0.2807	0.5304	0.855	1.313	1.7011	2.0484	2.467	2.7633	3.674
29	0.2807	0.5302	0.854	1.311	1.6991	2.0452	2.462	2.7564	3.659
30	0.2807	0.5300	0.854	1.310	1.6973	2.0423	2.457	2.7500	3.646
35	0.2813	0.5292	0.8521	1.3062	1.6896	2.0301	2.438	2.7239	3.5919
40	0.2816	0.5286	0.8507	1.3031	1.6839	2.0211	2.423	2.7045	3.5511
45	0.2819	0.5281	0.8497	1.3007	1.6794	2.0141	2.412	2.6896	3.5207
50	0.2821	0.5278	0.8489	1.2987	1.6759	2.0086	2.403	2.6778	3.4963
60	0.2824	0.5272	0.8477	1.2959	1.6707	2.0003	2.390	2.6603	3.4606
70	0.2826	0.5268	0.8468	1.2938	1.6669	1.9945	2.381	2.6480	3.4355
80	0.2827	0.5265	0.8462	1.2922	1.6641	1.9901	2.374	2.6388	3.4169
90	0.2828	0.5263	0.8457	1.2910	1.6620	1.9867	2.368	2.6316	3.4022
100	0.2828	0.5261	0.8452	1.2901	1.6602	1.9840	2.364	2.6260	3.3909
120	0.2829	0.5258	0.8446	1.2887	1.6577	1.9799	2.358	2.6175	3.3736
140	0.2829	0.5256	0.8442	1.2876	1.6558	1.9771	2.353	2.6114	3.3613
160	0.2829	0.5255	0.8439	1.2869	1.6545	1.9749	2.350	2.6070	3.3527
180	0.2829	0.5253	0.8436	1.2863	1.6534	1.9733	2.347	2.6035	3.3456
200	0.2829	0.5252	0.8434	1.2858	1.6525	1.9719	2.345	2.6006	3.3400
∞	0.2829	0.5244	0.8416	1.2816	1.6449	1.9600	2.326	2.5758	3.2903

TABLA XXI. Tabla de valores de la distribución t de Student.

of	X _{2.00}	X _{2.50}	X _{3.00}	X _{3.50}	X _{4.00}	X _{4.50}	X _{5.00}	X _{5.50}	X _{6.00}	X _{6.50}	X _{7.00}	X _{7.50}	X _{8.00}	X _{8.50}	X _{9.00}
1	0.433	0.708	1.074	1.442	2.706	3.641	3.074	4.633	7.879	12.116					
2	1.386	1.933	2.479	3.118	4.603	5.941	7.374	9.210	10.347	15.202					
3	2.366	2.946	3.643	4.442	6.231	7.815	9.348	11.543	12.836	17.770					
4	3.337	4.043	4.878	5.939	7.779	9.488	11.143	13.277	14.860	19.979					
5	4.331	5.132	6.064	7.289	9.236	11.070	12.832	15.064	16.750	22.103					
6	5.348	6.211	7.231	8.558	10.645	12.592	14.449	16.812	18.438	24.151					
7	6.366	7.383	8.563	9.803	12.017	14.067	16.013	18.473	20.278	26.018					
8	7.344	8.351	9.524	11.040	13.362	15.307	17.333	20.070	21.933	27.868					
9	8.343	9.414	10.636	12.242	14.684	16.919	19.023	21.644	23.594	29.646					
10	9.342	10.473	11.781	13.442	15.987	18.307	20.493	23.209	25.188	31.419					
11	10.341	11.530	12.897	14.631	17.273	19.473	21.920	24.723	26.757	33.133					
12	11.340	12.588	14.011	15.812	18.549	21.026	23.334	26.217	28.301	34.811					
13	12.340	13.636	15.119	16.983	19.812	22.362	24.736	27.688	29.819	36.478					
14	13.339	14.685	16.232	18.151	21.064	23.483	26.119	29.141	31.319	38.109					
15	14.339	15.733	17.322	19.311	22.307	24.996	27.488	30.378	32.801	39.719					
16	15.338	16.780	18.418	20.465	23.542	26.296	28.843	32.000	34.267	41.208					
17	16.338	17.824	19.511	21.613	24.769	27.587	30.191	33.409	35.718	42.679					
18	17.338	18.868	20.601	22.760	25.989	28.869	31.376	34.803	37.156	44.131					
19	18.338	19.910	21.689	23.900	27.204	30.144	32.832	36.191	38.582	45.573					
20	19.337	20.951	22.773	25.038	28.432	31.410	34.170	37.366	39.997	47.008					
21	20.337	21.991	23.858	26.171	29.615	32.671	35.479	38.932	41.401	48.410					
22	21.337	23.031	24.939	27.301	30.813	33.924	36.781	40.239	42.786	50.011					
23	22.337	24.069	26.018	28.429	32.007	35.172	38.076	41.638	44.181	51.601					
24	23.337	25.106	27.096	29.553	33.196	36.433	39.364	42.980	45.338	53.079					
25	24.337	26.143	28.172	30.673	34.382	37.632	40.646	44.314	46.928	54.479					
26	25.336	27.179	29.246	31.793	35.563	38.883	41.923	45.642	48.290	56.007					
27	26.336	28.214	30.319	32.912	36.741	40.113	43.194	46.963	49.643	57.438					
28	27.336	29.249	31.391	34.027	37.916	41.337	44.461	48.278	50.993	58.900					
29	28.336	30.283	32.461	35.139	39.087	42.527	45.722	49.388	52.336	60.334					
30	29.336	31.316	33.530	36.250	40.236	43.773	46.979	50.892	53.672	62.161					
33	34.336	36.473	38.839	41.778	46.039	49.802	53.203	57.342	60.273	69.198					
40	39.333	41.822	44.163	47.269	51.803	53.739	59.342	63.891	66.764	76.093					
45	44.333	46.761	49.432	52.729	57.503	61.656	65.410	69.937	73.166	82.876					
50	49.333	51.892	54.723	58.164	63.167	67.503	71.420	76.134	79.490	89.361					
60	59.333	62.133	65.226	68.572	74.397	79.043	83.298	88.379	91.931	102.649					
70	69.334	72.338	75.689	79.715	83.927	90.331	93.023	100.423	104.213	113.377					
80	79.334	82.564	86.120	90.403	96.578	101.879	104.629	112.329	116.321	128.261					
90	89.334	92.761	96.524	101.034	107.563	113.149	119.136	124.116	128.299	140.781					
100	99.334	102.946	106.906	111.647	118.478	124.342	129.561	133.806	140.169	153.185					
120	119.334	123.789	127.616	132.806	140.333	146.567	152.219	158.350	163.648	177.602					
140	139.334	143.604	148.269	153.834	161.827	168.613	174.649	181.840	186.846	201.682					
160	159.334	163.898	168.876	174.828	183.311	190.516	196.913	204.330	209.324	222.496					
180	179.334	184.173	189.438	195.743	204.704	212.304	219.044	227.856	232.620	244.018					
200	199.334	204.434	209.983	216.609	226.021	233.994	241.038	249.443	253.264	272.422					

TABLA XXII. Continuación.

Grados de libertad del denominador	Grados de libertad del numerador								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47
4	12.22	10.65	9.98	9.60	9.36	9.20	9.07	8.98	8.90
5	10.01	8.43	7.76	7.39	7.15	6.98	6.85	6.76	6.68
6	8.81	7.26	6.60	6.23	5.99	5.82	5.70	5.60	5.52
7	8.07	6.54	5.89	5.52	5.29	5.12	4.99	4.90	4.82
8	7.57	6.06	5.42	5.05	4.82	4.65	4.53	4.43	4.36
9	7.21	5.71	5.08	4.72	4.48	4.32	4.20	4.10	4.03
10	6.94	5.46	4.83	4.47	4.24	4.07	3.95	3.85	3.78
11	6.72	5.26	4.63	4.28	4.04	3.88	3.76	3.66	3.59
12	6.53	5.10	4.47	4.12	3.89	3.73	3.61	3.51	3.44
13	6.41	4.97	4.35	4.00	3.77	3.60	3.48	3.39	3.31
14	6.30	4.86	4.24	3.89	3.66	3.50	3.38	3.29	3.21
15	6.20	4.77	4.15	3.80	3.58	3.41	3.29	3.20	3.12
16	6.12	4.69	4.08	3.73	3.50	3.34	3.22	3.12	3.03
17	6.04	4.62	4.01	3.66	3.44	3.28	3.16	3.06	2.98
18	5.98	4.56	3.95	3.61	3.38	3.22	3.10	3.01	2.93
19	5.92	4.51	3.90	3.56	3.33	3.17	3.05	2.96	2.88
20	5.87	4.46	3.86	3.51	3.29	3.13	3.01	2.91	2.84
21	5.83	4.42	3.82	3.48	3.25	3.09	2.97	2.87	2.80
22	5.79	4.38	3.78	3.44	3.22	3.05	2.93	2.84	2.76
23	5.75	4.35	3.75	3.41	3.18	3.02	2.90	2.81	2.73
24	5.72	4.32	3.72	3.38	3.15	2.99	2.87	2.78	2.70
25	5.69	4.29	3.69	3.35	3.13	2.97	2.85	2.75	2.68
26	5.66	4.27	3.67	3.33	3.10	2.94	2.82	2.73	2.65
27	5.63	4.24	3.65	3.31	3.08	2.92	2.80	2.71	2.63
28	5.61	4.22	3.63	3.29	3.06	2.90	2.78	2.69	2.61
29	5.59	4.20	3.61	3.27	3.04	2.88	2.76	2.67	2.59
30	5.57	4.18	3.59	3.25	3.03	2.87	2.75	2.65	2.57
40	5.42	4.05	3.46	3.13	2.90	2.74	2.62	2.53	2.45
60	5.29	3.93	3.34	3.01	2.79	2.63	2.51	2.41	2.33
120	5.15	3.80	3.23	2.89	2.67	2.52	2.39	2.30	2.22
∞	5.02	3.69	3.12	2.79	2.57	2.41	2.29	2.19	2.11

TABLA XXIII. Tabla de valores de la distribución F de Fischer con una probabilidad acumulada de 0.975.

f	COMPARACIONES								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	2.57	3.03	3.29	3.48	3.62	3.73	3.82	3.90	3.97
6	2.45	2.96	3.10	3.26	3.39	3.49	3.57	3.64	3.71
7	2.36	2.75	2.97	3.12	3.24	3.33	3.41	3.47	3.51
8	2.31	2.67	2.88	3.02	3.13	3.22	3.29	3.35	3.41
9	2.26	2.61	2.81	2.95	3.05	3.14	3.20	3.26	3.31
10	2.23	2.57	2.76	2.89	2.99	3.07	3.14	3.19	3.24
11	2.20	2.53	2.72	2.84	2.94	3.02	3.08	3.14	3.19
12	2.18	2.50	2.68	2.81	2.90	2.98	3.04	3.09	3.14
13	2.16	2.48	2.65	2.78	2.87	2.94	3.00	3.05	3.10
14	2.14	2.46	2.63	2.75	2.84	2.91	2.97	3.02	3.07
15	2.13	2.44	2.61	2.73	2.82	2.89	2.95	3.00	3.04
16	2.12	2.42	2.59	2.71	2.80	2.87	2.92	2.97	3.02
17	2.11	2.41	2.58	2.69	2.78	2.85	2.90	2.95	3.00
18	2.10	2.40	2.56	2.68	2.76	2.83	2.89	2.94	2.99
19	2.09	2.39	2.55	2.66	2.75	2.81	2.87	2.92	2.96
20	2.09	2.38	2.54	2.65	2.73	2.80	2.86	2.91	2.95
24	2.06	2.35	2.51	2.62	2.70	2.76	2.81	2.86	2.90
30	2.04	2.32	2.47	2.58	2.66	2.72	2.77	2.82	2.86
40	2.02	2.29	2.44	2.54	2.62	2.68	2.73	2.77	2.81
60	2.00	2.27	2.41	2.51	2.58	2.64	2.69	2.73	2.77
120	1.95	2.24	2.38	2.47	2.55	2.60	2.65	2.69	2.73
∞	1.90	2.21	2.35	2.44	2.51	2.57	2.61	2.65	2.69

TABLA XXIV. Tabla de valores t^* de Dunnett con una probabilidad acumulada de 0.975.

XI. BIBLIOGRAFIA.

1. Wyss, O.; Ludwig, B. J. and Joiner, R. R. The Fungistatic and Fungicidal Action of Fatty Acids and Related Compounds. *Int. Arch. Biochem.* 7, 415 - 425, (1945).
2. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 7a. edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 1986. 928.
3. Remington's. Pharmaceutical Sciences. 17th. edition. Mack Publishing Company. U. S. A. 1970. 928.
4. Martindale. The Extrapharmacopoeia. Twenty ninth edition. The Pharmaceutical Press. London. 1989. 435.
5. The National Formulary. Thirteenth edition. Published by The American Pharmaceutical Association. U. S. A. 1970. 750 - 752.
6. Smith, E. B.; Powell, R. F.; Grahan, J. L. and Ulrich, J. A. Topical Undecilenoic Acid in Tinea Pedis: a New Look Point View. *Int. J. Dermatol.* 16, 52 - 56, (1977).

7. Kligman, A. M. and Anderson W. W. Evaluation of Current Methods for the Local Treatment of Tinea Capitis. *J. Invest. Derm.* 18, 155 - 168, (1951).
8. The Merck Index. Tenth edition. Merck and Co., Inc. Rahway, N. J., U. S. A. 1983. 1408.
9. British Pharmacopoeia. V. 1. Her Majesty's Stationery Office. United Kingdom. 1988. 590 - 591.
10. United States Pharmacopeia. Twenty second revision. Mack Publishing Company. U. S. A. 1989. 1437, 1562 - 1568.
11. Kirk-Othmer. Encyclopedia of Chemical Technology. V. 5. Third edition. A Wiley Interscience Publication. U. S. A. 1979. 1 - 15.
12. Perkins, G. A. and Cruz, A. O. Synthesis of Compounds Similar to Chaulmoogric Acid. II. di-Chaulmoogric Acid. *J. Amer. Chem. Soc.* 49, 1070-1077. (1927).
13. Gaubert, P.; Linstead, R. P. and Rydon, H. N. Investigations of the Olefinic Acids. Part XVI. The Synthesis of Δ^8 -p-Undecenoic Acid. *J. Chem. Soc.* 113, 1971, (1937).

14. Leung, C. P. and Leung, K. W. Determination of Undecenoic Acid in Dermatological Preparations by Liquid Chromatography with Direct UV Detection. *Anal. Chim. Acta.* 229, (2), 255 - 259. (1990).
15. Knevel A. M. And DiGagi F. E. Jenkins' Quantitative Pharmaceutical Chemistry. Seveth edition. McGraw Hill Book Company. U. S. A. 1977. xod - xodii.
16. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Quinta edición. México. 1988. 106 - 120.
17. Novotny, M. B. Recent Developments in Analytical Chromatography. *Science.* 246, 51 - 57, (1989).
18. Snyder, L. R. The Future of Chromatography: Optimizing the Separation. *Analyst.* 116, 1237 -1244, (1991).
19. Connors, K. A. A Textbook of Pharmaceutical Analysis. A Wiley Interscience Publication. Thirdth Edition U. S. A. 1992. 373 - 455.
20. Dabrio Bañuls, M. V.; Farré Rius, F.; Gassiot Matas, M.; García Domínguez, J. A. y Martínez Utrilla, R. Cromatografía de Gases I. Editorial Alhambra, S. A. España 1979.

21. Lindsay , S. High Performance Liquid Chromatography.
Second edition. Jhon Wiley & Sons. London. 1992.

22. Synovec, R. E.; Johnson, E. L.; Moore, L. K. and
Renn C. N. Column Liquid Chromatography: Equipment and
Instrumentation. *Anal. Chem.* 62, 357R- 370R. (1990).

23. Schoenmakers, P. J.; Molle, S.; Hayes, C. M. G. and
Uunk, L. G. M. Effects of pH in Reversed-Phase Liquid
Chromatography. *Anal. Chim. Acta.* 250, 1 - 9, (1991).

24. Validacion de Metodos Analiticos. Colegio Nacional
de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C.

25. Marquez de Cantú. M. J. Probabilidad y Estadística
para Ciencias Químico Biológicas. Primera edición.
UNAM. México. 1988.