

114  
Ry

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

FACULTAD DE QUÍMICA



DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO  
PARA DETERMINAR ACETAMINOFEN, EN UN JARABE QUE  
ADEMAS CONTIENE CAFEINA, MALEATO DE  
CLORFENIRAMINA Y CLORHIDRATO DE  
FENILPROPANOLAMINA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

LETICIA TREJO MENESES

MEXICO, D.F.

1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

**JURADO ASIGNADO:**

**Presidente:** Prof. María Luisa García Padilla.  
**Vocal:** Prof. María Teresa Buentello Rodriguez.  
**Secretario:** Prof. Consuelo Arellano Borjas.  
**1er. Suplente:** Prof. Rosa Lorenia Mora-Tovar y Chávez.  
**2do. Suplente:** Prof. Georgina Margarita Maya Ruiz.

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:**

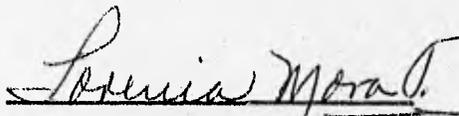
Departamento de Control Analítico.  
Facultad de Química, U.N.A.M.  
Edificio "B", Sotano.  
Coordinación de Servicios Analíticos e Investigación Controlada.  
Ciudad Universitaria México, D.F.

**Asesor del Tema:**



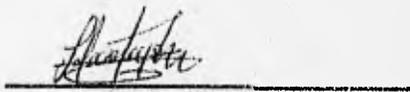
Q.F.B. María Luisa García Padilla

**Supervisor del Tema:**



Q.F.B. Rosa Lorenia Mora Tovar y Chavez

**Sustentante**



Leticia Trejo Menezes

## DEDICATORIAS

A Dios.

Por la alegría, por la unión de mi familia, por el éxito que me estimulo, por la salud que me sostuvo.

Por esos ojos que con ternura y comprensión me miraron, por esa mano oportuna que me levantó, por esos labios cuyas palabras y sonrisas me alentarón, por esos oídos que me escucharon, por ese corazón que amistad, cariño y amor me dieron.

A mis padres.

Por depositar en mí su confianza y cariño; brindándome siempre su consejo en el momento preciso, por sus llamadas de atención que me han ayudado a forjar mi carácter para salir adelante, pero sobre todo por ese gran esfuerzo y trabajo que han tenido que realizar para que sea alguien en la vida.

A mis hermanos.

Pedro y Beto por ser "dos pesadas compañías" que le han brindado a mi vida momentos de alegría, enojo y comprensión; el saber que cuento con ese alguien tan especial como ustedes me hacen sentir que no estoy sola; lo cual cumple con el fin que fueron creados.

A las familias Trejo y Meneses, por ser esa gran base que me sostiene.

## AGRADECIMIENTOS.

A Laboratorios Carnot productos Científicos, S.A.,

Por haber proporcionado las sustancias requeridas para la realización de este estudio por su apoyo y colaboración que siempre han brindado a nuestra Facultad.

A todos los que conforman el Departamento de Control Analítico.

A las maestras: Gina, Cristy, Tere, Chelo e Isaura por todos sus consejos, paciencia y por su gran disposición que siempre han tenido para ayudarme en mi formación profesional y personal. Siempre les estaré agradecida.

Quiero agradecer de manera muy especial a las maestras Ma. Luisa García P., Lorenia Mora T. y Consuelo Arellano B. por haberme brindado parte de su valioso tiempo y darme la oportunidad de haber realizado este trabajo a cargo de gente tan profesional como ustedes.

Al Sr. Jesús, Amparo, Sra. Vicky y Martha de los que siempre recibí su ayuda.

Al Departamento de Farmacia.

Por su gran apoyo en mi carrera universitaria muy especialmente a los maestras: Graciela, Inés, Honoria y Socorro que depositaron su confianza en mí.

A los maestros Carlos Pérez y Adelina Jiménez por brindarme esas grandes oportunidades y por su amistad.

Al Laboratorio de Farmacología:

Alejandro, Enrique, J.Luis, René, Susana A., Ricardo y Susana por su ayuda incondicional que me brindaron, especialmente a Gloria por su apoyo y tiempo invertido.

A mis amigos:

Los cuales estuvieron cerca de mí ofreciéndome su amistad y apoyo para lograr este objetivo. No quisiera omitir a ninguno de ellos, aunque ustedes saben quienes son . . . .

A la distinguida:

Facultad de Química por todo lo que ella me ha brindado.

# INDICE

	Página
<b>CAPITULO I</b>	
INTRODUCCION	1
1.1.- Objetivos	5
<b>CAPITULO II : GENERALIDADES</b>	
2.1.- Depresores del Sistema Nervioso	6
2.1.1.- Depresores Centrales de Acción no Específica	6
2.1.2.- Depresores Centrales de Acción Específica	7
2.2.- Monografía del Acetaminofén	9
2.2.1.- Historia del Acetaminofén	14
2.2.2 Propiedades química	15
2.2.3.- Farmacocinética	17
2.2.4.- Farmacodinamia	19
2.2.5.- Vía de Administración	21
2.2.6.- Dosis	21
2.2.7.- Formas Farmacéuticas Dosificadas	21
2.2.9.- Contraindicaciones	21
2.2.10 Indicaciones Terapéuticas	22
2.2.11 Efectos Colaterales	23

2.3.- Validación de Métodos Analíticos	24
--	----

### **CAPITULO III : PARTE EXPERIMENTAL**

3.1.- Desarrollo del método analítico	37
3.1.1.- Reactivos	37
3.1.2.- Preparación de la solución de la sustancia de referencia	38
3.1.3.- Preparación de la solución de la muestra problema	38
3.1.4.- Procedimiento	38
3.1.5.- Cálculos	39
3.2.- Validación del Método Analítico	39
3.2.1.- Especificidad	40
3.2.2.- Linealidad del sistema	40
3.2.3.- Repetibilidad del sistema	40
3.2.4.- Linealidad del método	40
3.2.5.- Exactitud del método	41
3.2.6.- Repetibilidad del método	41
3.2.7.- Reproducibilidad del método	41
3.2.8.- Estabilidad de la muestra analítica	42

### **CAPITULO IV : RESULTADOS**

4.1.- Especificidad	43
---------------------	----

4.2.- Linealidad del sistema	48
4.3.- Repetibilidad del sistema	52
4.4.- Linealidad del método	53
4.5.- Repetibilidad y exactitud al 100 %	57
4.6.- Reproducibilidad del método	58
4.7.- Estabilidad de la muestra analítica	61

#### **CAPITULO V : CONCLUSIONES**

5.1.- Especificidad	63
5.2.- Linealidad del sistema	63
5.3.- Linealidad del método	64
5.4.- Exactitud del método	64
5.5.- Repetibilidad del método	65
5.6.- Reproducibilidad del método	65
5.7.- Estabilidad de la muestra analítica	65
Conclusión final	66

<b>APENDICE I :</b>	67
---------------------	----

<b>CAPITULO VI REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	78
---	----

## CAPITULO I

### INTRODUCCION

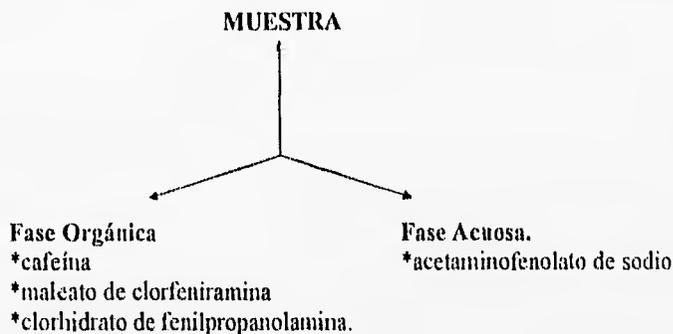
Existen varios medicamentos con acción analgésica y antipirética, con formulaciones que incluyen acetaminofén, el cual es un principio activo cuyo efecto analgésico se basa en que actúa como depresor del sistema nervioso central; además posee actividad antitérmica, ya que es un agente capaz de provocar una disminución en la temperatura corporal.

En este tipo de medicamentos el acetaminofén se encuentra tanto solo como combinado con otros principios activos; las formas farmacéuticas más usuales son tabletas, cápsulas, jarabe y solución, las cuales se encuentran incluidas en el Cuadro Básico de Medicamentos del Sector Salud.

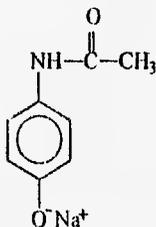
Debido a que no existe un método de cuantificación oficial para valorar acetaminofén en el jarabe que también contiene cafeína, maleato de clorfeniramina y clorhidrato de fenilpropranolamina, se considera importante desarrollar y validar un método analítico para cuantificar el acetaminofén.

El fundamento del método analítico desarrollado para la valoración de acetaminofén en el jarabe analizado, se basa en las propiedades físicoquímicas de los principios activos y en sus coeficientes de distribución, pues se efectuaron procesos de extracción líquido-líquido para lograr la separación del acetaminofén, de los demás componentes de la formulación (cafeína, maleato de clorfeniramina y clorhidrato de fenilpropranolamina.), usando solución de hidróxido de sodio 1 N y cloroformo.

Una vez realizadas las extracciones tenemos que en la fase orgánica se encuentran la cafeína, el maleato de clorfeniramina y el clorhidrato de fenilpropanolamina y en la fase acuosa alcalina permanece el acetaminofén en forma de acetaminofenolato de sodio.



Posteriormente, la fase acuosa, se diluyó convenientemente con una solución de hidróxido de sodio 0.01 N y se determinaron, las absorbancias de la solución obtenida y de una solución de acetaminofenolato de sodio sustancia de referencia, en igual medio de disolución y concentración similar a la de la solución de la muestra problema, en un espectrofotómetro adecuado a una longitud de onda de 258 nm .



Acetaminofenolato de sodio

Se llevó a cabo la validación del método analítico propuesto para asegurar su confiabilidad.

La validación de métodos analíticos verifica en forma documentada que la metodología propuesta esté basada en principios científicos adecuados y que cumpla con los propósitos prácticos de medición para los cuales han sido optimizados. Como consecuencia, la Validación de métodos analíticos permite asegurar la aceptación y utilidad de los resultados obtenidos en el laboratorio.

En el país la Ley General de Salud, que regula las actividades de los establecimientos que se dedican al proceso de fabricación de medicamentos, asigna un carácter legal a esta actividad, al establecer que los métodos analíticos de materias primas y productos terminados, deben presentar evidencias documentadas de validación de procesos y métodos analíticos y el personal químico del establecimiento es responsable ante las autoridades sanitarias de esta actividad.

Los medicamentos siendo insumos para la salud, tienen que cumplir con las normas especificadas en la Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos. Tales normas establecen las especificaciones sobre características de calidad (identidad, pureza, concentración, potencia e inocuidad), así como los métodos de prueba y análisis que se tienen que aplicar para determinar si el medicamento cumple o no con los requerimientos legales. Las características de calidad se agrupan en físicas, biológicas y químicas; para estas últimas se aplican los denominados genéricamente como métodos analíticos, los que permiten determinar la concentración y/o potencia entre otras, del fármaco o de un contaminante (sustancias relacionadas, precursores, etc.). Es fundamental establecer la confiabilidad de estos métodos, ya que es un elemento importante para construir la calidad del medicamento, "La Validación" es la actividad que nos permite cumplir con esta finalidad.

El emplear métodos analíticos no confiables puede llevar cuando no procede, a liberar un medicamento que potencialmente va a ser dosificado a un paciente; si el

resultado de la valoración es menor que el valor real, se da lugar a una subdosificación por lo que en muchos casos no es posible alcanzar los niveles terapéuticos y por lo tanto se presenta una acción farmacológica deficiente; si por el contrario, se encuentra un resultado mayor que el valor real se presentan efectos colaterales no deseados, intoxicación entre otros. Por lo tanto un buen producto es el resultado de un buen proceso y ambos deben de ser probados y controlados para asegurar la calidad final.

Para realizar la Validación del Método Analítico desarrollado, se evaluaron los siguientes parámetros:

**En el Sistema:**

Linealidad y Repetibilidad.

**En el Método:**

Especificidad, Linealidad, Exactitud, Repetibilidad; Reproducibilidad y Estabilidad de la muestra analítica.

### 1.1 Objetivos:

- Desarrollar un método analítico para determinar acetaminofén en un jarabe que además contiene cafeína, maleato de clorfeniramina y clorhidrato de fenilpropanolamina.
- Efectuar la Validación del método analítico desarrollado, evaluando los parámetros correspondientes a: especificidad, linealidad, precisión (repetibilidad y reproducibilidad) exactitud, y estabilidad de la muestra analítica.
- Comprobar que el método de análisis propuesto es específico, preciso, exacto y lineal.

## CAPITULO II

### GENERALIDADES

#### **2.1 Depresores del Sistema Nervioso Central. <sup>(2)</sup>**

Se denominan Depresores del Sistema Nervioso Central o Depresores Centrales, los fármacos que disminuyen la actividad de diversos centros nerviosos. Esta depresión puede manifestarse de distintas maneras según los centros afectados:

Este tipo de sustancias corresponden a dos grupos fundamentales que son:

##### **2.1.1 Depresores Centrales de Acción no Específica o no Selectivos <sup>(2)</sup>**

Estos disminuyen la función de todos los centros nerviosos pero en sucesión ordenada, de acuerdo con la Ley de Parálisis Descendente de Jackson; de manera que primero se afectan los centros corticales, luego los subcorticales, espinales y finalmente los bulbares; estos fármacos siguen el principio de Ferguson. Pertenecen a esta clasificación los alcoholes alifáticos, anestésicos generales, hipnóticos y sedantes.

### 2.1.2 Depresores Centrales de Acción Específica ó Selectivos <sup>(2)</sup>

Disminuyen la función de ciertos centros nerviosos. A diferencia de los no específicos, éstos no siguen la ley de Jackson ni el principio de Ferguson; es decir actúan por combinación de receptores celulares; dentro de esta clasificación, se encuentran los fármacos anticonvulsivos, relajantes musculares centrales, antiparkinsianos hipoanalgésicos; también se incluye en este grupo, el acetaminofén, pues corresponde a los medicamentos que además de aliviar el dolor tienen la propiedad de provocar el descenso de la temperatura corporal, llamados antipiréticos analgésicos.

Como analgésico el acetaminofén suele ser efectivo sólo contra el dolor de intensidad baja a moderada; sin embargo, carece de las acciones indeseadas de los opiáceos (analgésicos adictivos) sobre el sistema nervioso central, incluyendo depresión respiratoria y el desarrollo de dependencia física.

Los fármacos de este tipo no cambian la percepción de las modalidades sensitivas, excepto el dolor posquirúrgico crónico o el que surge a causa de la inflamación, que se controla muy bien; por lo contrario no suelen aliviar el dolor que se origina en una viscera hueca.

Como antipirético, reduce la temperatura corporal en los estados febriles. También existen otros analgésicos-antipiréticos que además de poseer estas propiedades, tienen aplicación como agentes antiinflamatorios; el principal fármaco de este tipo es el ácido acetilsalicílico.

El acetaminofén es una alternativa efectiva de la aspirina como agente analgésico y antipirético, no obstante a diferencia de la aspirina, su actividad

antiinflamatoria es débil. Una ventaja que tiene el acetaminofén sobre el ácido acetilsalicílico como agente analgésico-antipirético es que es bien tolerado y carece de las muchas acciones colaterales de la aspirina.

## 2.2 Monografía del Acetaminofén.

### a) Nombre Genérico. <sup>(5)</sup>

Paracetamol.

### b) Nombres Químicos. <sup>(10,5)</sup>

N-acetil-p-aminofenol

N-(4-hidroxifenil)acetamida

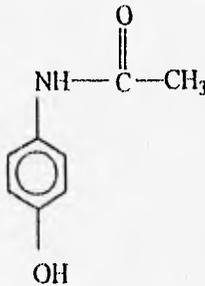
p-acetamidofenol

p-acetaminofenol

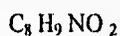
4' hidroxiacetilanilida

p-hidroxiacetanilida

### c) Fórmula Desarrollada. <sup>(10)</sup>



*Acetaminofén*

**d) Fórmula Condensada.** <sup>(10)</sup>**e) Masa Molecular.** <sup>(10)</sup>

151.16

**f) Composición Elemental.** <sup>(10)</sup>

C 63.56%, H 6.00%, N 9.27%, O 21.17%

**g) Descripción.** <sup>(5,6,7,10)</sup>

Polvo cristalino blanco e inodoro, que posee un ligero sabor amargo.

**h) Solubilidad.** <sup>(5,10)</sup>

Fácilmente soluble en metanol y etanol, soluble en acetona, agua caliente y solución IN de NaOH, poco soluble en cloroformo.

*i) Identificación.* <sup>(5,6,7)</sup>

A 10 mL de una solución (1:100) en agua de la muestra se le añade una gota de solución reactivo de cloruro férrico, se desarrolla una coloración violeta.

*j) Punto de Fusión.* <sup>(5,6,10)</sup>

Entre 168 °C y 172 °C

*k) Residuo de la Ignición.* <sup>(5)</sup>

No más del 0.1%

*l) pH.* <sup>(5)</sup>

A una concentración de 100 mg/mL en agua libre de dióxido de carbono entre 5.1 - 6.5

*m) Densidad.* <sup>(10)</sup>

$d_4^{21} = 1.293$

*n) Espectroscopía de absorción ultravioleta. <sup>(9)</sup>*

El espectro de absorción en la región ultravioleta, de una solución en agua , exhibe un máximo a 242 nm y un mínimo alrededor de 280 nm.

*o) Valoración. <sup>(5,6,7)</sup>*

Transferir 120 mg de la muestra; a un matraz volumétrico de 500 mL, disolverla en 10 mL de metanol, llevar al aforo con agua y mezclar. Transferir una alícuota de 5 mL a un matraz volumétrico de 100 mL y llevar al aforo con agua.

Determinar la absorbancia de esta solución y la de una solución de referencia con la misma concentración y medio de disolución, en un espectrofotómetro adecuado, a 244 nm, utilizando agua destilada como blanco de referencia.

*p) Parámetros Farmacocinéticos: <sup>(1,4)</sup>*

**\* Tiempo de vida media.**

El tiempo de vida media en plasma es de 2.0 horas.

**\* Depuración.**

La depuración en el plasma es de 5.0 mL/min/kg.

**\* Volumen de Distribución.**

El volumen de distribución es de 0.95 L/kg.

**\* Unión a proteínas .**

La unión a proteínas plasmáticas es de 0 - 15%

**\* Excreción urinaria.**

La excreción en orina es de 3% aproximadamente.

*p) Parámetros Farmacocinéticos: (3,4)*

**\* Tiempo de vida media.**

El tiempo de vida media en plasma es de 2.0 horas.

**\* Depuración.**

La depuración en el plasma es de 5.0 mL/min/kg.

**\* Volumen de Distribución.**

El volumen de distribución es de 0.95 L/kg.

**\* Unión a proteínas .**

La unión a proteínas plasmáticas es de 0 - 15%

**\* Excreción urinaria.**

La excreción en orina es de 3% aproximadamente.

### 2.2.1 Historia del Acetaminofén. <sup>(2,4)</sup>

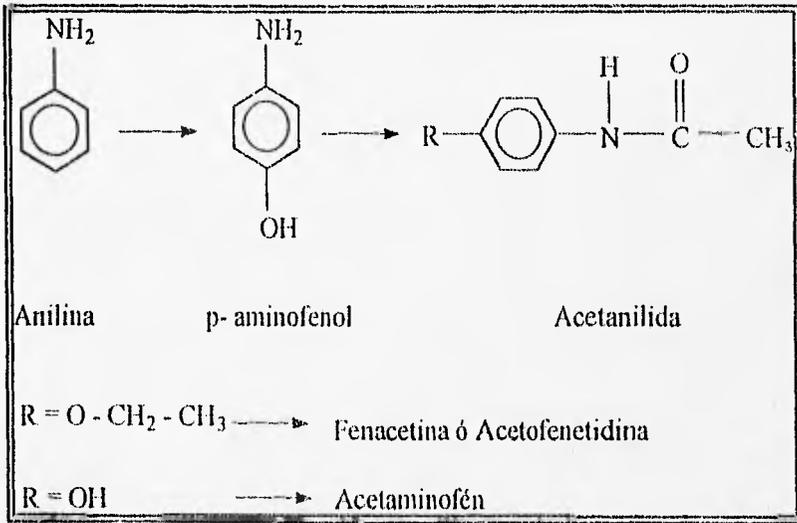
La acetanilida fué introducida en la medicina en 1886, con el nombre de antifebrina, por Cahn y Hepp quienes descubrieron en forma accidental su acción antipirética. Incluyeron acetanilida erróneamente a una mezcla vermífuga que tenía que contener naftaleno. El paciente además de la infestación intestinal tenía fiebre, y la acetanilida causó una intensa depresión de la temperatura, por lo que se le atribuyó usos como analgésico y antipirético. No obstante la acetanilida demostró una toxicidad excesiva, lo que llevó a la búsqueda de compuestos menos tóxicos siendo así que se probó el p-aminofenol, pero sin buenos resultados ya que la toxicidad no disminuyó, después se probaron múltiples derivados químicos del p-aminofenol siendo uno de los más satisfactorios la fenacetina también llamada acetofenetidina, la cual se introdujo en 1877 como antipirético pero más tarde se le involucró en problemas de nefropatía.

En 1893 Von Mering usó por primera vez en medicina el acetaminofén (paracetamol; N-acetil-p-aminofenol) y fue hasta 1949 cuando su uso se hizo popular.

### 2.2.2 Propiedades Químicas. <sup>(2)</sup>

El acetaminofén es un compuesto de origen sintético, que deriva del p-aminofenol, a su vez derivado de la anilina ó fenilamina. Cabe mencionar que la acetanilida y la fenacetina también son derivados de la anilina y que presentan acción como antipiréticos y analgésicos.

*La actividad antipirética de los compuestos radica en su estructura aminobenceno.*



La introducción de otros radicales en el grupo hidroxilo del p-aminofenol y en los grupos p-amino libres de la anilina reduce la toxicidad sin pérdida de la acción antipirética.

Los mejores resultados se obtienen con los éteres alquil-fenólicos (p. ej. fenacetina) y con las amidas (p. ej. acetaminofén, fenacetina).

La anilina, de la que derivan los fármacos que se están presentando ; posee propiedades analgésicas y antipiréticas pero resulta demasiado tóxica para su uso clínico. A diferencia de ésta el p-aminofenol derivado de la anilina es menos tóxico, sin embargo no lo suficiente como para poder darle uso clínico.

Al reemplazar un hidrógeno del grupo amino de la anilina por un radical acetilo se da origen a la acetanilida, disminuyendo su toxicidad, pero aún así el compuesto resulta bastante tóxico, por lo que su uso ha sido abandonado. Se buscó entonces efectuar sustituciones en la molécula del p-aminofenol para disminuir su toxicidad llegando así al paracetamol o acetaminofén; el cual es un derivado acetilado como la acetanilida y a la fenacetina; siendo estos derivados del p-aminofenol potentes analgésicos y antipiréticos pero con pocas propiedades antiinflamatorias.

### 2.2.3 Farmacocinética. <sup>(1,2,3,4)</sup>

El acetaminofén se absorbe con rapidez y casi por completo en el tracto gastrointestinal; la concentración plasmática se alcanza en un lapso máximo de 30-60 minutos, y su tiempo de vida media plasmática es de 2 a 3 horas después de dosis terapéuticas; ésta puede aumentar al doble o más y llegar a cantidades tóxicas, en presencia de trastornos hepáticos.

La distribución del acetaminofén es bastante uniforme en la mayoría de los líquidos orgánicos, es metabolizado por enzimas microsomales hepáticas; su unión a proteínas es variable; sólo un 20 a un 50 % puede unirse en concentraciones encontradas durante la intoxicación aguda.

Después de dosis terapéuticas, puede recuperarse un 90 a 100% del fármaco en orina, principalmente en el primer día después de la conjugación hepática con ácido glucurónico ( cerca del 60 %), ácido sulfúrico (aprox. 35 %), o cisteína (cerca del 3%); también se detectan pequeñas cantidades de metabolitos hidroxilados y desacetilados. Los niños tienen menor capacidad que los adultos para la glucuronidación del fármaco.

Una pequeña proporción de acetaminofén sufre N- hidroxilación mediada por el citocromo P 450, para formar N-acetil-benzoquinonimina, un intermediario de alta reactividad.

En forma normal, este metabolito reacciona con los grupos sulfhidrilo en el glutatión sin embargo, después de grandes dosis de acetaminofén, el metabolito se forma en cantidades suficientes como para agotar el glutatión hepático; en estas circunstancias, aumenta la reacción con los grupos sulfhidrilo en las proteínas hepáticas dando lugar a una necrosis hepática.

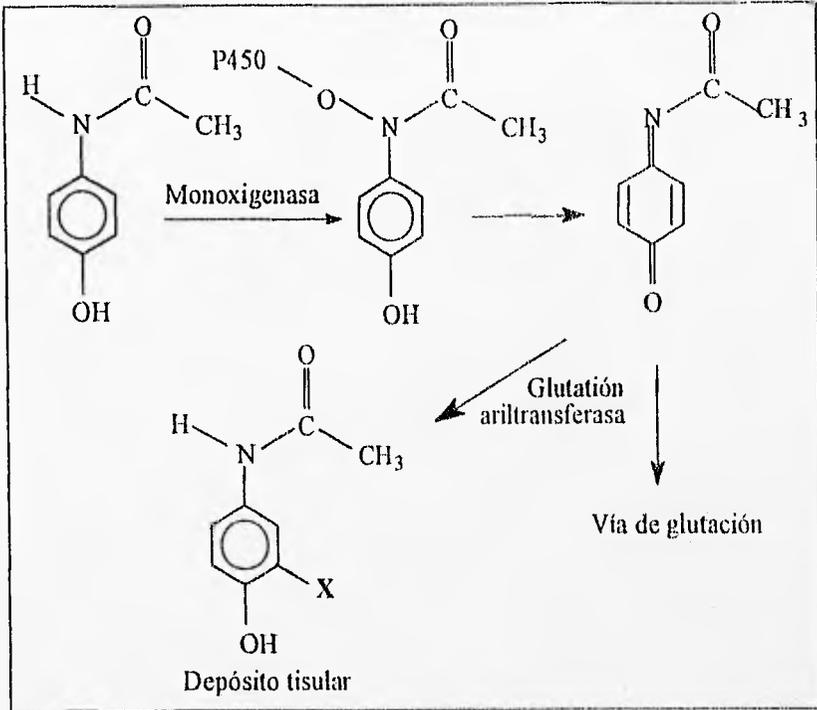


Figura No. 1

En la figura No. 1 se muestra como el acetaminofén, puede ser convertido en un intermediario reactivo del tipo quinona que se transforma rápidamente en mercapturato cuando la concentración del glutatión no es limitante. La vía principal del metabolito del acetaminofén lleva a un o-glucurónido, (donde X representa un sitio tisular de reacción covalente).

#### 2.2.4 Farmacodinamia. <sup>(1,3,3,4)</sup>

El acetaminofén, como ya se mencionó, posee propiedades analgésicas y antipirética; en el primer caso aliviando dolores especialmente somáticos, dolores traumáticos, procesos reumáticos; y en el segundo, provocando un descenso de la temperatura en animales y humanos con reacciones febriles.

Con respecto a las dosis; los estudios revelaron que el acetaminofén es algo menos potente que la aspirina como analgésico pero más potente como antipirético.

De origen central y especialmente periférico para la acción analgésica, y central para la antipirética .

##### *a) En Sistema Nervioso Central.*

El acetaminofén produce una ligera acción sedante. En animales de experimentación a dosis elevadas causa fenómenos de estimulación central en forma de convulsiones; en el hombre muy rara vez se observan estos fenómenos.

##### *b) En Sistema Cardiovascular.*

Solamente causa una disminución de la frecuencia cardiaca cuando disminuye la temperatura en los individuos con reacciones febriles.

*c) En Tracto Digestivo.*

En dosis elevadas el acetaminofén es capaz de producir vómito y náuseas; con dosis comunes no se observan trastornos digestivos, ni lesiones gástricas como tampoco sangre oculta en heces.

*d) En Hígado.*

Dosis elevadas producen una intoxicación aguda, la cual es capaz de provocar necrosis hepática, centrolobulillar que se manifiesta por ictericia, encefalopatía hepática que puede conducir a la muerte en un 20% de los casos.

El mecanismo de hepatotoxicidad ha sido dilucidado y se acepta que no se debe directamente al fármaco, sino a un metabolito llamado hidroxilamina que se forma debido a una oxidasa, el citocromo P 450, que se une en forma covalente con las proteínas del hígado provocando así la necrosis hepática.

Dicho metabolito puede ser detoxicado por el glutatión que actúa como protector hepático; cuando éste ha disminuido en el organismo en un 70 %, el metabolito del acetaminofén provoca la necrosis hepática.

*e) En Riñón.*

El daño a este órgano se puede producir por una intoxicación aguda provocando una necrosis tubular aguda, que parece obedecer el mismo mecanismo de la necrosis hepática.

### **2.2.5 Vía de administración <sup>(8)</sup>**

Oral.

### **2.2.6 Dosis. <sup>(8)</sup>**

500 mg; 3 veces por día

### **2.2.7 Formas Farmacéuticas Dosificadas. <sup>(8)</sup>**

- Cápsulas que contienen 300 mg y 500 mg.
- Gotas de 100 mg y de 120 mg por mililitro.
- Elixir que contiene 120 mg, 160 mg y 325 mg por cada 5mL.
- Jarabe que contiene 120 mg por cada 5 mL.
- Tabletas que contienen 300 mg, 325 mg, 500 mg y 600 mg

### **2.2.8 Contraindicaciones. <sup>(3,8)</sup>**

Hipersensibilidad a los componentes de la fórmula. Hipertensión arterial, cardiopatías; pacientes con glaucoma, asma, hipertrofia prostática, padecimientos renales e hipertiroides.

### 2.2.9 Indicaciones Terapéuticas. <sup>(1,2,8)</sup>

El acetaminofén se utiliza como analgésico y antipirético siendo eficaz en una amplia variedad de estados como cefalea, dismenorrea, mialgias y neuralgias entre otros.

El acetaminofén es un equivalente a la aspirina como analgésico y antipirético pero difiere de ésta por su carencia de propiedades antiinflamatorias, por lo que es una terapéutica inadecuada para padecimientos inflamatorios como la artritis reumatoide, aunque puede ser utilizado como auxiliar analgésico de la terapéutica antiinflamatoria.

Está indicado también en enfermos con alergia a la aspirina o cuando existe poca tolerancia a los salicilatos; tiene ventajas sobre la aspirina en el manejo de enfermos con hemofilia o con antecedentes de úlcera péptica y en quienes la aspirina puede precipitar broncoespasmos.

El acetaminofén se diferencia de la aspirina en que no metaboliza los efectos de los uricosúricos; aunque se ha indicado que las dosis elevadas potencian a los anticoagulantes; mientras que las dosis pequeñas no influyen sobre el tiempo de la protombina.

No produce metahemoglobinemia, ni anemia a los granulocitos, a diferencia de lo que sucede con el uso prolongado de la acetanilida y fenacetina.

El acetaminofén, antipirético y analgésico; se presenta en combinación con cafeína, de acción analgésica, maleata de clorfeniramina como antihistamínico y clorhidrato de fenilpropanolamina como descongestivo del tracto respiratorio.

### 2.2.10 Efectos Colaterales. <sup>(2,8,9)</sup>

El acetaminofén en dosis terapéuticas puede llegar a producir un pequeño aumento de las enzimas hepáticas, en ausencia de ictericia; este efecto puede ser revertido mediante la suspensión del medicamento. Con dosis mayores se observan mareo, excitación y desorientación.

En ocasiones produce erupción cutánea y otras reacciones alérgicas. La erupción suele ser eritematosa o urticaria, pero a veces es más grave y puede estar acompañada por fiebre medicantosa y lesiones mucolíticas.

Los pacientes que muestran hipersensibilidad a los salicilatos, sólo rara vez exhiben sensibilidad al acetaminofén y fármacos relacionados.

El efecto adverso más grave de la sobredosis aguda de acetaminofén es una necrosis hepática dosis dependiente; potencialmente fatal. También puede presentarse necrosis renal y coma hipoglucémico. Los síntomas tempranos de una lesión hepática incluyen náuseas, vómitos diarrea y dolor abdominal.

### 2.3 VALIDACION DE METODOS ANALITICOS <sup>(11,12,13,14,15,16)</sup>

El término "Validación" se refiere a la evidencia documentada que provee un alto grado de seguridad de que un proceso específico producirá de manera consistente un producto que cumple con determinadas especificaciones y atributos de calidad.

El término se ha aplicado en:

- Validación de procesos de manufactura.
- Validación de métodos de prueba.
- Validación de certificados de proveedores.
- Validación de sistemas de computación.
- Validación de sistemas críticos
- Validación de métodos analíticos.
- Todo aquello que de una manera u otra participa en la elaboración de un producto.

Es importante hacer notar que la Validación de métodos analíticos es sólo una parte de un programa de validación, como se menciono anteriormente, sin embargo, antes que se manejara la validación como un sistema total e integrado en cualquier empresa farmacéutica, ya se realizaba la validación de la metodología empleada en el análisis rutinario de las formas farmacéuticas elaboradas. La validación de la metodología es de suma importancia porque nos permite conocer sobre qué margen de error estamos trabajando y controlar dicho error; para asegurar la calidad final del producto.

Para cada una de las categorías, los requisitos de validación necesarios son diferentes. La siguiente Tabla muestra dichas variables.

	CATEGORIA			
	I	II		III
		Quantitativo	Prueba de Límite	
Precisión	SI	SI	NO	SI
Exactitud	SI	SI	*	*
Límite de Detección	NO	NO	SI	*
Límite de Cuantificación	NO	SI	NO	*
Especificidad	SI	SI	SI	*
Intervalo	SI	SI	*	*
Linealidad	SI	SI	NO	*
Tolerancia	SI	SI	SI	SI

\* Puede o no requerirse, dependiendo de la naturaleza del análisis particular.

Como ya se menciono todo proceso de validación debe documentarse; lo cual permite llevar a cabo posteriormente cada uno de los pasos de una validación. La documentación debe constar como mínimo de:

- \* Los parámetros de validación.
- \* La denominación de los lotes.
- \* La calidad de sustancias de comparación.
- \* Los instrumentos utilizados.
- \* Los espectrogramas, cromatogramas, curvas de registro, etc.
- \* Los resultados y cálculos.

Existe un avance importante como base regulatoria en la USP XXIII y en la Ley General de Salud; esta última menciona que el control aplicado a cualquier preparado farmacéutico debe de comprobarse y validar cualquier técnica empleada para este fin. Con esta regulación, las autoridades sanitarias y del sector salud exigen la validación de métodos analíticos.

Se tiene como definición de Validación de Métodos Analíticos:

**“ Proceso por el cual queda establecido por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas descadas.”**

El tipo de información que se requiere para la validación de un método analítico dado, dependerá de la naturaleza de dicho método, por lo que los procedimientos de ensayo más comunes se han clasificado en :

**Categoría I :** Métodos analíticos para la cuantificación de fármacos y de los principios activos (incluyendo preservativos) en productos farmacéuticos terminados.

**Categoría II :** Métodos analíticos para la determinación de impurezas en fármacos o productos de degradación en el producto farmacéutico terminado, incluyendo ensayos cuantitativos y pruebas límites.

**Categoría III :** Métodos analíticos para la determinación de las características de comportamiento del producto (p.ej. disolución o liberación de fármacos).

Los factores que influyen en la Validación de Métodos Analíticos, son varios, algunos de ellos son:

- \* Personal.
- \* Equipo.
- \* Reactivos.
- \* Material
- \* Instalaciones.
- \* Cálculos.
- \* Sustancias de referencia.
- \* Documentación.

La validación incluye dos etapas:

1. Sistema: se trabaja con sustancias de referencia.
2. Método: se trabaja con los excipientes y con sustancias de referencia.

**1.- Sistema:**

Linealidad.  
Precisión (Repetibilidad)

**2.- Método:**

Especificidad.  
Linealidad.  
Exactitud.  
Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad)  
Estabilidad de la muestra analítica.

## **Especificidad.**

### ***Definición.***

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

Este parámetro se puede evaluar de dos formas, una de ellas se realiza para métodos indicadores de control de calidad y la otra para métodos indicadores de estabilidad (en ésta se incluyen métodos para análisis de fármacos en fluidos biológicos); la aplicación de una o de otra forma va depender del objetivo el método. En nuestro caso por ser un método de control de calidad se procederá de la siguiente forma:

### ***Determinación.***

Para el método propuesto; se analizan placebos del producto que contengan todos los componentes de las formulaciones excepto el principio activo que se analiza.

### ***Criterio de Aceptación.***

Determinar que el método desarrollado es capaz de separar la sustancia de interés de cualquier interferencia presente.

## **Linealidad \*.**

### ***Definición.***

La linealidad de un sistema o método analítico es la capacidad 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 de la sustancia dentro de un intervalo.

#### *Determinación.*

Se realiza construyendo una curva de calibración (concentración vs respuesta medida), utilizando cuando menos cinco concentraciones diferentes, y haciendo el análisis cuando menos por duplicado, para cada concentración.

Cuando se realiza la linealidad de un sistema se utiliza solamente la sustancia de referencia, y cuando se trata del método se utiliza el material que se esté analizando.

El intervalo entre las concentraciones a analizar, va a depender del propósito del método, para control de calidad y de seguimiento de la estabilidad de un fármaco de una forma farmacéutica, deberá estar incluida la concentración de 100 %. Se recomienda una separación de concentraciones de un 20 % - 25 %.

La linealidad se expresa generalmente en términos de varianza alrededor de la pendiente de la recta ajustada, es decir de la línea de regresión, calculada a partir de una relación matemática con los resultados del análisis de muestras en concentraciones variables y conocidas de la sustancia.

La relación matemática de la ecuación de la recta es la siguiente:

$$y = mx + b$$

Donde:

$y$ = respuesta medida

$m$ = pendiente de la recta

$x$ = concentración

$b$ = ordenada al origen

Calcular:

- La pendiente de la recta ( $m$ ).
- La ordenada al origen ( $b$ ).

Para conocer si los valores de la pendiente ( $m$ ) y la ordenada al origen ( $b$ ) que se obtienen experimentalmente, son estadísticamente diferentes a los valores teóricos, se realizan pruebas de  $t$ , y se establecen los límites de confianza tanto para ( $m$ ) como para ( $b$ ).

- Coeficiente de correlación ( $r$ )
- Coeficiente de determinación ( $r^2$ )

El coeficiente de determinación de la relación lineal simple debe ser mayor o igual a 0.98 y/o la falta de ajuste a la relación lineal simple no debe ser estadísticamente significativa; ésto es, los datos de la curva de calibración se sujetan a un análisis de varianza en donde los parámetros de evaluación son las  $F$  resultantes de la distribución y tratamientos de datos.

**Criterio de Aceptación.**

\*La pendiente ( $m$ ) de la línea de regresión debe ser estadísticamente igual a 1.

Si  $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 1, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la pendiente que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente de 1.

\*La ordenada al origen ( $b$ ) de la línea de regresión debe ser estadísticamente igual a cero.

Si  $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 0, entonces, se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la pendiente que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente de 0.

\*El coeficiente de correlación ( $r$ ) debe ser mayor o igual a 0.99

\*El coeficiente de determinación ( $r^2$ ) debe ser mayor o igual a 0.98

Si  $F_{\text{regresión}} \geq F_{\text{regresión tab}}(g, l, r, g, l, e, r, 0.01)$ , entonces existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida.

Si  $F_{\text{falta de ajuste}} \geq F_{\text{falta de ajuste tab}}(g, l, r, g, l, e, r, 0.01)$ , entonces existe falta de ajuste a la relación lineal simple, cantidad adicionada, propiedad medida.

**Precision.****Definición.**

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea de un producto, de una materia o de un espécimen en general. 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 condiciones normales de operación.

La precisión se evalúa como:

#### **Repetibilidad \*.**

##### ***Definición.***

Se evalúa como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes de una misma preparación, realizada bajo las mismas condiciones experimentales.

##### ***Determinación.***

El análisis se realiza por sextuplicado de una misma preparación (sustancia de referencia en sistema y material que se está analizando en el método), correspondiente al 100%.

Se realiza el cálculo del coeficiente de variación (C.V).

##### ***Criterio de Aceptación. (Métodos espectrofotométricos)***

El coeficiente de variación debe ser menor o igual a 1.5% para el sistema y debe ser menor o igual de 3.0% para el método.

## Reproducibilidad \*.

### *Definición.*

Se evalúa como la concordancia entre determinaciones independientes de una muestra homogénea del material que se esté analizando bajo diferentes condiciones, pues se introducen factores de variación, respecto a días, analistas, equipos; por lo cual, se realizan estas determinaciones en diferentes días y con diferentes analistas y/o equipos.

### *Determinación.*

Se realiza para el método, determinando en forma independiente y por triplicado por cada analista y en cada día, empleando una muestra homogénea, del material que se analiza, utilizando sustancia de referencia de la misma naturaleza del ingrediente activo de la muestra.

Los análisis se realizan en diferentes días y por dos analistas; el placebo se carga al 100%.

Los resultados obtenidos se sujetan a un diseño factorial de dos factores o dos niveles y a un tratamiento estadístico de análisis de varianza, para obtener el coeficiente de variación; donde se generan las  $F$  correspondientes a las dos fuentes de variación analítica, días y analistas.

**Criterio de Aceptación.**

En la reproducibilidad, el parámetro que se emplea es el coeficiente de variación, que debe corresponder al fijado de acuerdo con el tipo de método que se aplica.

METODO	C.V.
Cromatográfico	$\leq 2\%$
Químicos y Espectrofotométricos	$\leq 3\%$
Microbiológicos	$\leq 5\%$

En este caso, el método es espectrofotométrico, por lo que el coeficiente de variación debe ser  $\leq 3.0\%$

Si  $F_{\text{analista}} < F_{\text{analista (g.l.a.,g.l.d.;0.05)}}$ . El método analítico es reproducible por los analistas.

Si  $F_{\text{analista} \cdot \text{día}} < F_{\text{analista} \cdot \text{día (g.l.a.,g.l.d.;0.05)}}$ . El método analítico no presenta interacción analista día.

Si  $F_{\text{día}} < F_{\text{día (g.l.a.,g.l.d.;0.05)}}$ . El método analítico es reproducible en distintos días por el mismo analista.

**Exactitud al 100% \*.**

**Definición .**

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

**Determinación.**

El análisis se realiza por sextuplicado, de una muestra correspondiente a una concentración conocida de la sustancia que se analiza o de la sustancia que se analiza adicionada al placebo, simulando las condiciones de la muestra. La concentración resultante de estas preparaciones debe ser al 100%. Las muestras deben prepararse de manera independiente y cuantificarse utilizando una preparación de la sustancia de referencia.

La exactitud se evalúa considerando el porcentaje de recobro por medio del modelo estadístico t de Student y el cálculo para el intervalo de confianza para la media y/o a través del cálculo del coeficiente de variación para el porcentaje de recobro.

**Criterio de Aceptación.**

Si  $|t_{\text{cal}}| < t_{\text{tab}}(n-2, 0.975)$  y los límites de confianza incluyen al 100%, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la media que se obtiene en forma experimental, no es significativamente diferente de 100%.

El valor del coeficiente de variación para el porcentaje de recobro, debe ser  $\leq 3.0\%$ , para técnicas espectrofotométricas.

**Estabilidad de la Muestra Analítica.**

En ocasiones se preparan muestras las cuales no son analizadas inmediatamente por diferentes razones:

- Falta de suministro eléctrico
- Descompostura del equipo
- Finalización de la jornada del trabajo; etc.

***Definición.***

Por medio de este análisis se pretende conocer las condiciones en las cuales la muestra en proceso de análisis, mantiene constante su propiedad medible en un lapso determinado. Este proporciona una mayor confiabilidad en los resultados, pues se comprueba que no presenta degradación, antes de medir su respuesta para ser cuantificada.

***Determinación.***

Se realiza de la siguiente forma : las soluciones analizadas previamente, se almacenan en diferentes condiciones, por ejemplo, en refrigeración, en la oscuridad, y en presencia de luz blanca.

Posteriormente se vuelven a analizar en determinados tiempos que se establezcan. Los resultados obtenidos se tabulan con base en el formato mostrado en el apéndice.

***Criterio de Aceptación.***

La media del factor I para cada condición/tiempo se debe encontrar entre los valores de 97.0% - 103.0%

\* *Los cálculos involucrados en cada uno de los parámetros se presentan en el apéndice I.*

## CAPITULO III

### PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Desarrollo del método analítico.

El método analítico para la cuantificación de Acetaminofén, se desarrolló en un jarabe que presenta la siguiente formulación.

Acetaminofén .....	2000 mg.
Maleato de clorfeniramina .....	80 mg.
Clorhidrato de fenilpropanolamina .....	100 mg.
Cafeína .....	250 mg.
Vehículo .....	cbp 100 mL.

*\* El fundamento del método se describió en el capítulo I.*

#### 3.1.1 Reactivos.

- Solución de Hidróxido de sodio 1 N aprox.
- Solución de Hidróxido de sodio 0.01 N aprox.
- Cloroformo R.A.
- Etanol R.A.

### 3.1.2 Preparación de la Solución de la Sustancia de Referencia.

Transferir alrededor de 30 mg de acetaminofén, sustancia de referencia, exactamente pesados, a un matraz volumétrico de 100 mL; adicionar aproximadamente 70 mL de solución de hidróxido de sodio 0.01 N, agitar hasta disolución, llevar al aforo con el mismo disolvente y agitar.

Transferir una alícuota de 2 mL de la solución anterior, a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al volumen con solución de hidróxido de sodio 0.01 N y agitar.

### 3.1.3 Preparación de la solución de la muestra problema.

Transferir una alícuota de 3 mL del jarabe a un embudo de separación de 250 mL, adicionar 27 mL. de agua destilada y 2 mL de solución de NaOH 1N, mezclar el contenido del embudo y extraer con tres porciones sucesivas de 15 mL de cloroformo.

Desechar los extractos clorofórmicos y transferir la fase acuosa a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con agua destilada y mezclar.

Transferir una alícuota de 1 mL de la solución obtenida, a un matraz volumétrico de 100 mL; llevar al aforo con solución de NaOH 0.01 N y agitar.

### 3.1.4 Procedimiento.

Determinar las absorbancias de la Solución de la Sustancia de Referencia y de la Solución de la Muestra Problema en un espectrofotómetro adecuado, a 258 nm, utilizando solución de hidróxido de sodio 0.01 N como blanco de referencia.

### 3.1.5 Cálculos.

La cantidad de acetaminofén expresada en miligramos, contenida en 100 mL de jarabe, se calcula aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{mg de acetaminofén/100 mL.} = \frac{A_p/A_{ref} \times C \times FD \times 100}{M}$$

Donde:

$A_p$  = Absorbancia de la solución de la muestra problema.

$A_{ref}$  = Absorbancia de la solución de la sustancia de referencia.

$C$  = Concentración de la solución final de la sustancia de referencia, expresada en mg/mL.

$FD$  = Factor de dilución de la muestra.

$M$  = Volumen (mL), de muestra utilizada en el análisis.

**Nota:** Para facilitar el manejo de los resultados se expresan en  $\mu\text{g/mL}$ .

### **3.2 Validación del Método Analítico.**

Para llevar a cabo la validación del método analítico se evaluaron los siguientes parámetros:

#### **3.2.1 Especificidad.**

Se efectuó un barrido espectrofotométrico a un intervalo de longitudes de onda entre 300 y 220 nm de las siguientes soluciones:

- Solución de la Sustancia de Referencia.
- Solución de la Muestra Problema.
- Solución del Placebo.

#### **3.2.2 Linealidad del Sistema.**

Se prepararon cinco soluciones de acetaminofén, Sustancia Referencia, con diferentes concentraciones ( 80, 90, 100, 110, 120 %) de la cantidad de acetaminofén expresada en el marbete del jarabe a analizar. Cada una de las concentraciones anteriores se analizarán por duplicado.

#### **3.2.3 Repetibilidad del Sistema.**

Este parámetro se evaluó analizando seis muestras diferentes de soluciones con acetaminofén, Sustancia de Referencia preparadas con una concentración correspondiente al 100% de la cantidad expresada en el marbete del jarabe a analizar.

#### **3.2.4 Linealidad del Método.**

Se determinó con muestras de placebos adicionados con acetaminofén, Sustancia de Referencia, con diferentes concentraciones correspondientes al 80, 100, 120 % de la cantidad expresada en el marbete del jarabe; cada placebo se analizó por triplicado.

#### **3.2.5 Exactitud del Método.**

Se analizaron seis muestras diferentes de placebos adicionados con acetaminofén, sustancia de referencia; en una concentración del 100 % de la cantidad expresada en el marbete del producto. Se compararon los porcentajes de la cantidad encontrada con los porcentajes adicionados de dicha sustancia de referencia.

#### **3.2.6 Repetibilidad del Método.**

Se lleva a cabo analizando seis muestras diferentes de un placebo al que se le adicionó acetaminofén sustancia de referencia, en una concentración del 100 % de la cantidad expresada en el marbete

#### **3.2.7 Reproducibilidad del Método.**

La realizaron dos analistas, valorando por triplicado, en días diferentes, muestras de un placebo al que se le adicionó acetaminofén sustancia de referencia, en una concentración del 100 % de la cantidad expresada en el marbete.

### **3.2.8 Estabilidad de la Muestra Analítica.**

Para evaluar este parámetro, se analizaron tres muestras de placebos a los que se les adicionó acetaminofén, sustancia de referencia, en una concentración del 100 % de la cantidad expresada en el marbete.

En cada caso, se llevó a cabo el procedimiento para obtener la "solución de la muestra problema"; las soluciones preparadas, se mantuvieron durante 3, 6 y 24 horas, en las condiciones que a continuación se indica:

**Luz Blanca.**

**Oscuridad.**

**Refrigeración.**

Se determinaron las absorbancias, siguiendo los lineamientos del "procedimiento" con el objeto de cuantificar el acetaminofén, en la solución recién preparada y después de 3, 6 y 24 horas de mantener las muestras en las condiciones señaladas.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS

#### 4.1 Especificidad.

En la Tabla No. 1 se presentan los resultados de las muestras analizadas, para evaluar este parámetro.

Tabla No. 1

MUESTRA ANALIZADA	A 1 $\lambda=258 \text{ nm}$	C. A. ( $\mu\text{g/mL}$ )	C. E. ( $\mu\text{g/mL}$ )
Acetaminofén Sust. Referencia.	0.430	6.05	6.05
Muestra Problema (jarabe)	0.422	6.03	5.94
Placebo	0.000	---	---
Blanco	0.000	---	---

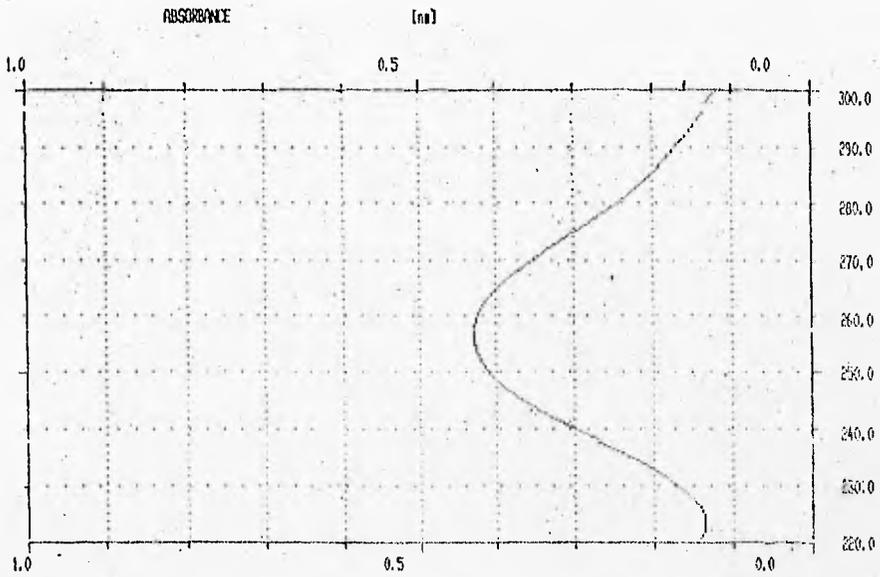
Donde:

C. A. = Concentración Adicionada de Acetaminofén.

C. E. = Concentración Encontrada de Acetaminofén.

A continuación se presentan los espectros de absorción correspondientes a:

- Acetaminofén (sustancia de referencia). Figura No. 1
- Muestra problema. Figura No. 2
- Placebo. Figura No.3

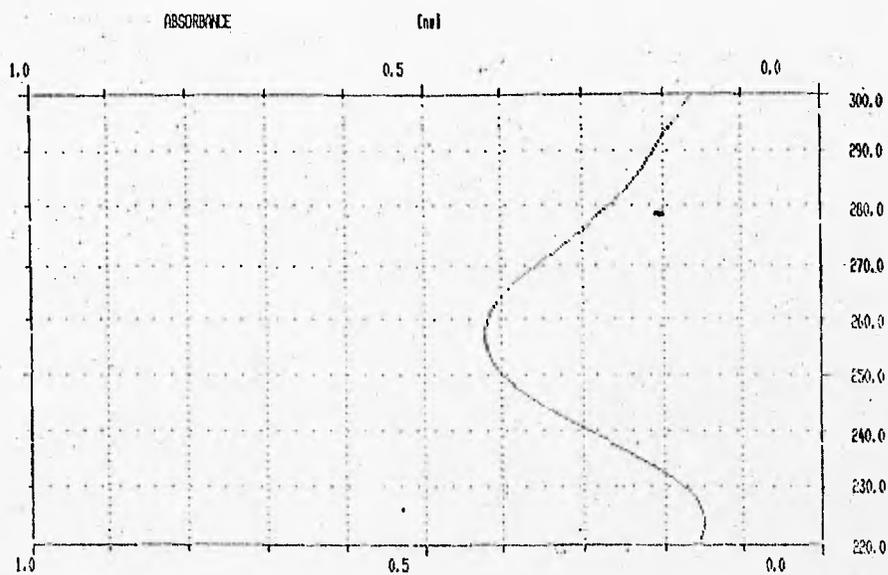


THRESHOLD : 0.100

BATCH: 004

SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
001	04:01	256.6 nm (MAX)	0.430 ABS

*Figura No.1 Acetaminofén (sustancia de referencia)*

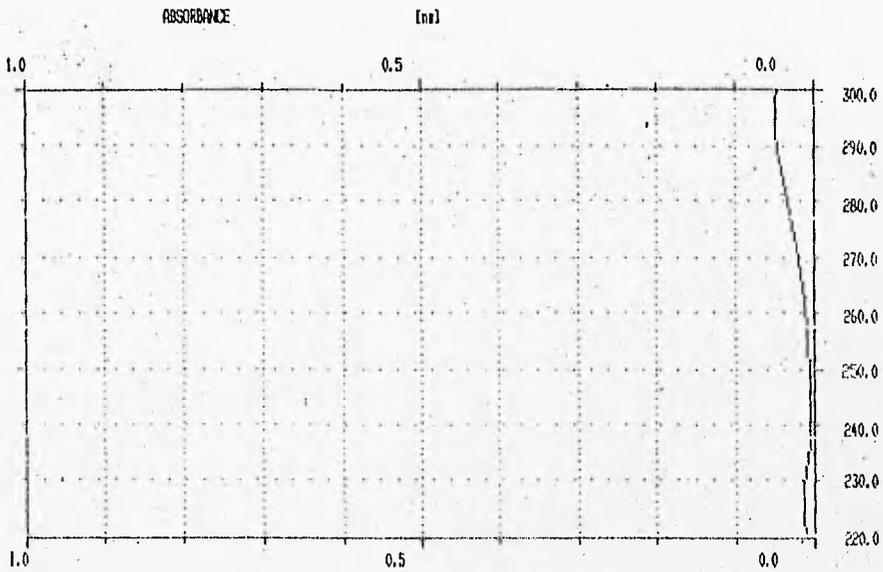


THRESHOLD : 0.100

BATCH: 006

SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
001	04:07	257.4 nm (MAX)	0.422 ABS

Figura No. 2 Muestra problema.



THRESHOLD : 0.100

BATCH: 005

SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
001	04:05	No Peaks detected !	

*Figura No. 3 Solución placebo.*

Analizando los resultados de la Tabla No 1 y cada uno de los espectros de absorción, se plantea lo siguiente:

1. Al efectuar el procedimiento del método analítico propuesto para la valoración de acetaminofén en la solución referencia y la muestra problema (jarabe), se encuentra que sus espectros de absorción, son muy semejantes, ambos presentan un máximo de absorbancia a 258 nm, aproximadamente que es la  $\lambda$  reportada en la literatura para esta sustancia.
2. Las absorbancias que presentan ambas soluciones son muy cercanas a la longitud de onda de 258 nm, lo que indica que la respuesta obtenida en la muestra problema se debe únicamente al acetaminofén.
3. En cuanto al placebo sin acetaminofén se encontró que no presenta absorbancia, lo que nos indica que ni el vehículo del jarabe ni los otros componentes de la formulación interfieren.

Se concluye que el método analítico propuesto es específico para la Determinación de Acetaminofén en el jarabe.

## 4.2 Linealidad del Sistema.

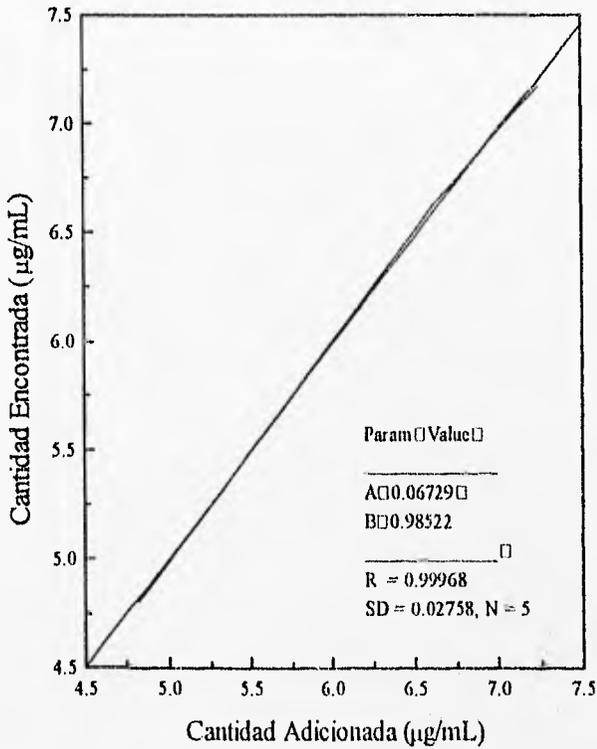
En la Tabla No. 2 se presentan los resultados obtenidos en la prueba de Linealidad del Sistema y en la gráfica No 1 se observa la tendencia lineal de los datos.

Tabla No. 2

Concentración %	Cantidad Adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Cantidad Encontrada ( $\mu\text{g/mL}$ )
80	4.82	4.80
80	4.82	4.81
90	5.42	5.42
90	5.42	5.41
100	6.10	6.12
100	6.10	6.07
110	6.62	6.62
110	6.62	6.63
120	7.24	7.18
120	7.24	7.16

Concentración %	Promedio Cantidad Adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Promedio Cantidad Encontrada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Resultados de Regresión Lineal.
80	4.82	4.80	$m = 0.9852$
90	5.42	5.41	$b = 0.0672$
100	6.10	6.09	$r = 0.9999$
110	6.62	6.62	$r^2 = 0.9998$
120	7.24	7.17	

LINEALIDAD DEL SISTEMA  
Acetaminofén, Sust. Referencia



*Gráfica No. 1 se observa la tendencia lineal entre los datos, de la cantidad adicionada y la cantidad encontrada.*

A continuación se muestran los resultados, de las pruebas estadísticas realizadas:

#### 4.2.1 Ordenada al Origen.

$$t_{cal} = -0.2045$$

$$t_{tab}(3, 0.975) = 3.1825$$

$$\text{Intervalo de confianza} = 0.0672 \pm 0.8649$$

$$\text{Limite superior} = 0.9321$$

$$\text{Limite inferior} = -0.7977$$

#### 4.2.2 Pendiente.

$$t_{cal} = -0.3322$$

$$t_{tab}(3, 0.975) = 3.1825$$

$$\text{Intervalo de confianza} = 0.9852 \pm 0.1417$$

$$\text{Limite superior} = 1.1269$$

$$\text{Limite Inferior} = 0.8434$$

Analizando los resultados anteriores, se puede observar que el sistema de medición es lineal, ya que  $b$ ,  $m$  y  $r$ , cumplen con los criterios de aceptación, como se señala a continuación.

#### Ordenada al origen ( $b$ ):

Como  $|t_{cal}| < t_{tab}$  y los límites de confianza incluyen al cero; entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la ordenada al origen, obtenido experimentalmente no es significativamente diferente de cero

**Pendiente (m):**

Como  $|t_{cal}| < t_{tab}$  y los límites de confianza incluyen al 1; entonces se acepta  $H_0$  concluyendo que el valor de la pendiente obtenida experimentalmente, no es significativamente diferente de 1.

**Coefficiente de Correlación (r):**

El coeficiente de correlación obtenido experimentalmente fue 0.9999, por lo tanto cumple con el criterio de aceptación que indica:  $r \geq 0.99$ .

**Coefficiente de Determinación ( $r^2$ ):**

El coeficiente de determinación ( $r^2$ ), cumple con el criterio de aceptación ( $r^2 \geq 0.98$ ) y el valor obtenido experimentalmente fue: 0.9998

### 4.3 Repetibilidad del Sistema.

Los resultados obtenidos al evaluar la Repetibilidad del Sistema se muestran en la Tabla No. 3.

Tabla No. 3

Cantidad Adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Cantidad Encontrada ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Encontrado
6.10	6.12	100.3
6.10	6.07	99.5
6.10	6.02	98.7
6.10	6.02	98.7
6.10	6.03	98.9
6.10	6.06	99.3

$$n = 6$$

$$\bar{x} = 99.2 \%$$

$$S_x = 0.6153$$

$$C.V. = 0.6 \%$$

El sistema de medición es repetible, ya que el coeficiente de variación obtenido experimentalmente cumple con el criterio de aceptación (C.V. es menor del 1.5 %) además de que el porcentaje recuperado se encuentra dentro del intervalo para los métodos espectrofotométricos (97.0%-103.0%).

#### 4.4 Linealidad del Método.

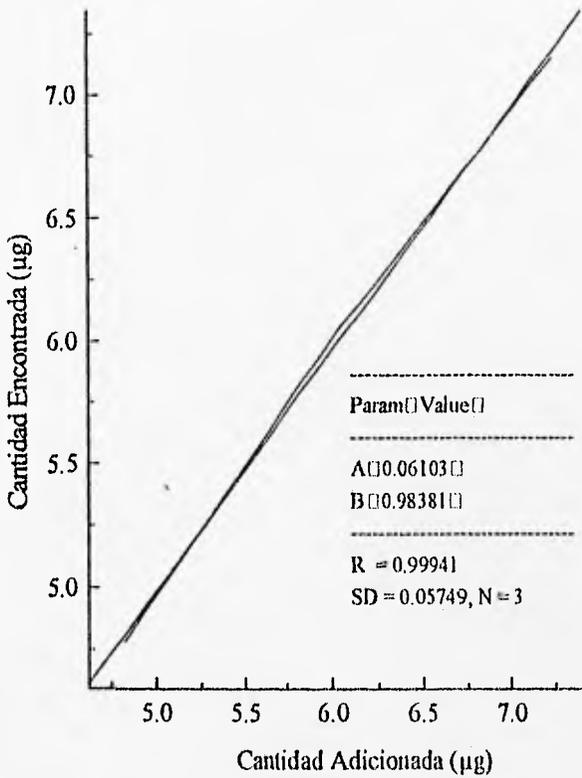
En la Tabla No. 4 se muestra la cantidad de acetaminofén adicionado a placebos, la cantidad encontrada y el porcentaje correspondiente. En la Gráfica No. 2 se observa la tenendencia lineal de estos datos.

Tabla No. 4

Concentración %	Cantidad Adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Cantidad Encontrada ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Encontrado
80	4.82	4.79	99.4
	4.82	4.77	99.0
	4.82	4.46	98.8
100	6.05	6.07	100.3
	6.05	6.06	100.1
	6.05	6.05	99.0
120	7.23	7.19	99.4
	7.23	7.16	99.0
	7.32	7.11	98.3

Promedio Cantidad Adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Promedio Cantidad Encontrada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Resultados Regresión Lineal.
4.82	4.78	$m = 0.9838$
6.05	6.06	$b = 0.0610$
7.23	7.15	$r = 0.9994$ $r^2 = 0.9998$

LINEALIDAD DEL METODO  
Placebo cargado con Acetaminofén, Sust. Ref.



*Gráfica No. 2 se observa la tendencia lineal entre los datos, de la cantidad adicionada y la cantidad encontrada.*

A continuación se muestran los resultados, de las pruebas estadísticas realizadas:

#### 4.4.1 Ordenada al Origen.

$$t_{cal} = 2.18$$

$$t_{tab} (3,0.975) = 3.1825$$

$$\text{Intervalo de confianza} = 0.0610 \pm 5.1201$$

$$\text{Límite superior} = 5.1811$$

$$\text{Límite inferior} = -5.0590$$

#### 5.4.2 Pendiente.

$$t_{cal} = -0.2202$$

$$t_{tab} (3,0.975) = 3.1825$$

$$\text{Intervalo de confianza} = 0.9838 \pm 0.2339$$

$$\text{Límite superior} = 1.2177$$

$$\text{Límite Inferior} = 0.7498$$

Analizando los resultados anteriores, se puede observar que el método propuesto es lineal, ya que,  $b$ ,  $m$  y  $r$  cumplen con los criterios de aceptación, como se señalan a continuación.

**Ordenada al origen (b):**

Como  $|t_{cal}| < t_{tab}$  y los límites de confianza incluyen al cero, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la ordenada al origen obtenida experimentalmente no es significativamente diferente de cero

**Pendiente (m):**

Como  $|t_{cal}| < t_{tab}$  y los límites de confianza incluyen al 1, entonces se acepta  $H_0$  y se concluye que el valor de la pendiente obtenida experimentalmente no es significativamente diferente de 1.

**Coefficiente de Correlación (r):**

El coeficiente de correlación obtenido experimentalmente fue de 0.9994 por lo tanto cumple con el criterio de aceptación que indica que  $r \geq 0.99$

**Coefficiente de Determinación ( $r^2$ ):**

Cumple con el criterio de aceptación ( $r^2 \geq 0.98$ ) y el valor obtenido experimentalmente fue 0.9988

#### 4.5 Repetibilidad y Exactitud al 100 %.

En la Tabla No. 5 se presentan los datos obtenidos, para evaluar estos parámetros.

Tabla No. 5

Cantidad Adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ )	Cantidad Encontrada ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Recuperado
6.02	5.94	98.7
6.02	5.91	98.2
6.02	5.91	98.2
6.02	5.91	98.2
6.02	5.90	98.0
6.02	5.88	97.7

$$n = 6$$

$$\bar{X} = 99.3 \%$$

$$S_x = 0.944$$

$$C.V. = 0.9 \%$$

$$t_{\text{cal}} = -1.81$$

$$t_{\text{tab}}(5, 0.975) = 2.5706$$

Como el coeficiente de variación obtenido ( 0.9 % ) es menor que 3.0 %, (valor límite para métodos espectrofotométricos), se concluye que el método de medición es repetible.

**Intervalo de confianza para el porcentaje recuperado:**

Intervalo de confianza =  $99.3 \pm 1.79 \%$

Límite superior = 101.09 %

Límite inferior = 97.50 %

En cuanto a la exactitud del método podemos decir:

Como  $|t_{cal}| < t_{tab}$ , y los límites de confianza incluyen al 100%, entonces se acepta  $H_0$  y concluimos que el valor de la media obtenida en forma experimental no es significativamente diferente de 100%, por lo que el método propuesto es exacto.

#### 4.6 Reproducibilidad del Método.

En la Tabla No. 6 se muestran los resultados obtenidos al llevar a cabo el procedimiento del método propuesto para determinar Acetaminofén, en la muestra problema, realizado por dos analistas en dos días diferentes.

Tabla No.6

Día	Analista No.1	Analista No. 2
1	98.1 %	97.9 %
	97.8 %	98.1 %
	98.3 %	98.0 %
2	99.0 %	99.2 %
	98.1 %	99.0 %
	100.1 %	98.8 %

Nota: % es de Recobro.

$$n = 12$$

$$\bar{X} = 98.5 \%$$

$$Sx = 0.69$$

$$C.V. = 0.7 \%$$

Como el coeficiente de variación obtenido experimentalmente es menor que el 3.0 %, el método de medición es reproducible.

## Tabla de Análisis de Varianza

Tabla No. 7

Factor de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F Calculada	F Tablas
A (y)	1	0.0133	0.0133	0.00443	161.40
D j (i)	1	3.0000	3.0000	0	161.40
A - D	1	0	0	0	5.32
E (i j) k	8	2.2333	---	---	

Con lo anterior tenemos:

1. Efecto por analista  $0.00443 < 161.40$ .
2. Efecto por día,  $0 < 161.40$ .
3. Efecto por interacción analista - día,  $0 < 5.32$

Analizando los resultados anteriores, después de efectuar el análisis de varianza, se concluye que el método de medición propuesto es reproducible, ya que no presentó efectos por analista, por día ni por interacción analista - día.

#### 4.7 Estabilidad de la Muestra Analítica.

En la Tabla No. 8 se presentan los resultados obtenidos en la determinación de Acetaminofén, después de someter las soluciones para análisis a las condiciones propuestas.

Tabla No. 8

Tiempo en horas	Luz Blanca % Encontrado	Oscuridad % Encontrado	Refrigeración % Encontrado
0	98.1	99.1	98.1
3	98.1	99.3	98.8
6	99.3	100.0	99.1
24	100.3	100.2	98.5

En la Tabla No. 9 se presentan los valores de la media del factor I, calculado para cada caso.

Tabla No. 9

MEDIA DEL FACTOR I			
Tiempo en horas	Luz Blanca % Encontrado	Oscuridad % Encontrado	Refrigeración % Encontrado
3	100.0	100.2	100.7
6	101.2	100.9	101.0
24	102.2	101.1	100.4

Analizando los resultados en la Tabla No. 9 se observa que ningún valor de media del Factor I, se encuentra fuera del intervalo de 97.0% - 103.0% ,por eso se concluye que la muestra resultó ser estable durante un período de 24 horas después de haber realizado el procedimiento, manteniendo las soluciones en las diferentes condiciones ( luz blanca, oscuridad y refrigeración ).

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

Basándose en los resultados obtenidos al efectuar el procedimiento del método analítico propuesto para valorar Acetaminofén en el jarabe estudiado, se plantean las siguientes conclusiones:

#### 5.1 Especificidad.

El método propuesto para la valoración de Acetaminofén en el jarabe, es específico, ya que el espectro de absorción obtenido al desarrollar el procedimiento en el placebo, no presenta absorbancia, lo que indica ausencia de interferencias debidas a los demás componentes de la fórmula.

Por otra parte, los espectros de absorción correspondientes a la solución de la sustancia de referencia y el jarabe, son semejantes, lo cual corrobora que la absorbancia en la muestra problema, es debida únicamente al acetaminofén.

#### 5.2 Linealidad del Sistema.

Respecto al linealidad del sistema, en la Gráfica No. 1 (pág. 49 ) se muestra la tendencia lineal del sistema al valorar acetaminofén , sustancia de referencia , en un intervalo de concentraciones del 80%, 90%, 100%, 110% y 120%.

Lo anterior se comprobó al realizar las pruebas de t de student, donde los valores obtenidos para la ordenada al origen y para la pendiente, no son significativamente diferente de 0 y de 1, respectivamente.

En cuanto al coeficiente de correlación obtenido experimentalmente es mayor de 0.99 por lo que se afirma que existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida.

### 5.3 Linealidad del Método.

En la Gráfica No. 2 se observa la linealidad del método al valorar el acetaminofén en el jarabe estudiado, en un intervalo de concentraciones del 80%, 100% y 120%.

Esto se comprobó al realizar las pruebas de t de student, en donde los valores obtenidos para la ordenada al origen y para la pendiente; no son significativamente diferentes de 0 y de 1 , respectivamente.

En lo que se refiere al coeficiente de correlación obtenido experimentalmente, es mayor a 0.99, por lo que se afirma que existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida.

### 5.4 Exactitud del Método.

El método de valoración propuesto es exacto, ya que el resultado de la prueba de t de student demuestra que el valor de la media experimental no es significativamente diferente del 100%; de la cantidad de acetaminofén expresada en el marbete del jarabe estudiado y el coeficiente de variación obtenido es menor del 3.0%.

### **5.5 Repetibilidad del Sistema y del Método.**

El método propuesto es repetible, ya que, en las pruebas realizadas con la sustancia de referencia, se obtuvo un coeficiente de variación menor al 1.5% y en las determinaciones realizadas en el jarabe, el coeficiente de variación fue menor del 3.0%.

### **5.6 Reproducibilidad del Método.**

Al realizar las pruebas de valoración de acetaminofén en el jarabe, se obtuvieron resultados que cumplen con los criterios de aceptación especificados para un método espectrofotométrico, (coeficiente de variación  $\leq$  al 3.0%).

En cuanto al análisis de varianza efectuado, se observa que no existe efecto alguno por analista, por día ni por interacción día - analista. Por lo anterior, concluimos que el método propuesto para la valoración de acetaminofén en el jarabe es reproducible.

### **5.7 Estabilidad de la Muestra Analítica.**

Por los resultados obtenidos al evaluar este parámetro, se concluye que la solución acuosa que contiene el acetaminofén, es estable por 24 horas en cualquiera de las tres condiciones propuestas (luz blanca, oscuridad y refrigeración) por lo que la muestra para el análisis puede ser guardada en la condición que se prefiera, para ser cuantificada si se desea en un lapso de tiempo cercano a las 24 horas.

***Conclusión Final.***

Los resultados obtenidos en cada uno de los parámetros evaluados en el método analítico propuesto cumplen satisfactoriamente con los criterios de aceptación establecidos en la Validación de Métodos Analíticos; para Control de Calidad por lo tanto se concluye que el método analítico propuesto para la valoración de acetaminofén en el jarabe estudiado, está validado, lo que asegura que es confiable y satisface los requerimientos para los que fue desarrollado.

## APENDICE I

### Linealidad del Sistema y del Método.

1.-Transformaciones matemáticas utilizadas en el análisis de regresión para el sistema y el método son:

1.1 Cálculo para la ordenada al origen (b) de la línea de regresión.

$$b = \frac{\sum y - m(\sum x)}{Nt}$$

1.2 Cálculo para la pendiente (m) de la línea de regresión.

$$m = \frac{Nt(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{Nt(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

1.3 Cálculo para el coeficiente de determinación ( $r^2$ ).

$$r^2 = \frac{[Nt(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)]^2}{[Nt(\sum x^2) - (\sum x)^2][Nt(\sum y^2) - (\sum y)^2]}$$

1.4 Cálculo para el coeficiente de regresión (r).

$$r = (r^2)^{1/2}$$

Donde

$N$  = Número de datos.

$x$  = Cantidad adicionada del fármaco.

$y$  = Cantidad encontrada del fármaco.

2.- Las hipótesis y las expresiones para la "t de Student" son :

2.1 Ordenada al origen.

$H_0 : b = \beta$

$H_1 : b \neq \beta$

Donde  $\beta$  es = cero.

$$t_{cal} = \frac{b - \beta}{S_{y/x} \left[ \frac{\sum Xi^2}{n \sum (Xi - \bar{X})^2} \right]^{1/2}}$$

\* Desviación estándar en la dirección y ( $S_{y/x}$ ).

$$S_{y/x} = \left[ \frac{\sum (Yi - \bar{Y})^2}{n - 2} \right]^{1/2}$$

2.1.2 Desviación estándar para la ordenada al origen (Sb) :

$$Sb = S_{y/x} \left[ \frac{\sum Xi^2}{n \left[ \sum (Xi - \bar{X})^2 \right]} \right]^{1/2}$$

2.1.3 Límites de confianza para la ordenada al origen.

$$LCb = b \pm [t_{tab}(n-2, 0.975)] [Sb]$$

2.2 Pendiente.

Ho : m = a

H1 : m ≠ a

Donde a es = 1

$$t_{cal} = \frac{[(m - a)] [Sx] \left[ (n - 1)^{1/2} \right]}{S_{y/x}}$$

2.2.1 Desviación estándar para la pendiente (Sm).

$$Sm = \frac{S_{y/x}}{\left[ \sum (Xi - \bar{X})^2 \right]^{1/2}}$$

### 2.2.2 Límites de confianza para la pendiente.

$$LCm = m \pm [t_{\alpha/2}(n-2, 0.975)] [Sm]$$

Donde:

$b$  = Valor de la ordenada al origen experimental

$b$  = Valor de la ordenada al origen teórica = 0

$m$  = valor de la pendiente experimental

$a$  = Valor de la pendiente teórica = 1

$X_i$  = Cantidad adicionada

$Y_i$  = Cantidad encontrada del fármaco

$\bar{X}$  = Media de las cantidades adicionadas

$S_x$  = Desviación estándar de las cantidades adicionadas

$n$  = Número de determinaciones

$N$  = Número de replicaciones ( propiedad medida ) de cada dilución

$t$  = Número de diluciones

$Y_i$  = Los valores de  $Y_i$  son los puntos sobre la línea de regresión calculada y corresponden a los valores individuales de  $X_i$ .

Los valores de  $Y_i$  para un valor dado de  $X_i$ , son fácilmente calculados de la ecuación de regresión lineal.

**Repetibilidad.**

Ecuaciones utilizadas para la evaluación de la repetibilidad.

1.- Determinación de la media ( $\bar{Y}$ ) de los resultados.

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y_i}{N}$$

2.- Determinación de la desviación estándar de los resultados.

$$S = \left[ \frac{N(\sum y^2) - (\sum y)^2}{N(N-1)} \right]^{1/2}$$

3.- Determinar el coeficiente de variación.

$$CV = \frac{S}{\bar{Y}} * 100$$

**Exactitud.**

1.- Calcular el porcentaje de recobro ( R ) en cada una de las muestras.

2.- Cálculo de la media aritmética del porcentaje de recobro ( R ).

$$\bar{R} = \frac{\sum R_i}{N}$$

3.- Cálculo de la desviación estándar del porcentaje de recobro.

$$S = \left[ \frac{N(\sum R^2) - (\sum R)^2}{N(N-1)} \right]^{1/2}$$

4.- Cálculo del coeficiente de variación.

$$CV = \frac{S}{R} * 100$$

5.- Cálculo para la determinación de " t " de Student para la media.

$$H_0 : R = \mu$$

$$H_1 : R \neq \mu$$

Donde  $\mu$  es = 100%

$$t_{cal} = \frac{R - \mu}{\sigma_y}$$

Donde:

$$\sigma_y = \frac{S}{(N)^{1/2}}$$

Intervalo de confianza del porcentaje encontrado (I.C.)

$$I.C = R \pm t(n-1, 0.975)[\sigma_y]$$

**Reproducibilidad del Método.**

Los resultados obtenidos en esta determinación se tabulan de acuerdo a la tabla I, para evaluar la reproducibilidad; posteriormente se realiza un análisis de varianza para conocer las interacciones entre analistas, días y analista-día.

**Tabla I**

% DE RECOBRO		
Día (j)	Analista No.1 (i)	Analista No. 2 (i)
1	$Y_{111}$	$Y_{211}$
	$Y_{112}$	$Y_{212}$
	$Y_{113}$	$Y_{213}$
2	$Y_{121}$	$Y_{221}$
	$Y_{122}$	$Y_{222}$
	$Y_{123}$	$Y_{223}$

Donde:

*"Y" primer subíndice es el resultado de cada analista.*

*"Y" segundo subíndice es en cada día.*

*"Y" tercer subíndice para cada replicación.*

Se calculan las siguientes sumatorias para realizar la Tabla de análisis de varianza.

$$1.- \sum Y_{ijk} = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + \dots + Y_{223})$$

$$2.- \sum Y_i^2 = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{121} + Y_{122} + Y_{123})^2 + (Y_{211} + Y_{212} + Y_{213} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})^2$$

$$3.- \sum Y_j^2 = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113} + Y_{211} + Y_{212} + Y_{213})^2 + (Y_{121} + Y_{122} + Y_{123} + Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})^2$$

$$4.- \sum Y_k^2 = (Y_{111} + Y_{112} + Y_{113})^2 + (Y_{121} + Y_{122} + Y_{123})^2 + (Y_{211} + Y_{212} + Y_{213})^2 + (Y_{221} + Y_{222} + Y_{223})^2$$

$$5.- \sum Y_{ijk}^2 = [(Y_{111})^2 + (Y_{112})^2 + (Y_{113})^2 + (Y_{121})^2 + \dots + (Y_{223})^2]$$

Proceder conforme la siguiente tabla, (Tabla II), de análisis de varianza.

Tabla II para el Análisis de Varianza

Fuente de Variación (FV)	Grados de Libertad (GL)	Suma de Cuadrados (SC)	Media de Cuadrados (MC)	F calculada	F <sub>tab</sub> $\left(0.05, \frac{GL_{num}}{GL_{den}}\right)$
Analista (A) A <sub>i</sub>	(i-1)	$\frac{\sum Y_i^2}{jk} - \frac{(\sum Y_{ijk})^2}{ijk}$	$\frac{SC_A}{(i-1)}$	$\frac{MC_A}{MC_{AD}}$	$\left(0.05, \frac{(j-1)}{(j-1)}\right)$
Día (D) D <sub>j</sub>	(j-1)	$\frac{\sum Y_{ijk}^2}{k} - \frac{\sum Y_i^2}{jk}$	$\frac{SC_D}{(j-1)}$	$\frac{MC_D}{MC_{AD}}$	$\left(0.05, \frac{(j-1)}{(i-1)(j-1)}\right)$
Interacción Analista - Día (A-D) A <sub>i</sub> -D <sub>j</sub>	(i-1)(j-1)	$\frac{\sum Y_{ijk}^2}{k} - \frac{\sum Y_i^2}{jk} - \frac{\sum Y_j^2}{ik} + \frac{(\sum Y_{ijk})^2}{ijk}$	$\frac{SC_{AD}}{(i-1)(j-1)}$	$\frac{MC_{AD}}{MC_E}$	$\left(0.05, \frac{(i-1)(j-1)}{ij(k-1)}\right)$
Error Experimental (E) E <sub>ijk</sub>	ij(k-1)	$\frac{\sum Y_{ijk}^2 - \sum Y_j^2}{k}$	$\frac{SC_E}{ij(k-1)}$		

Donde: i= número de analista

j= número de días

k= número de repeticiones

**Estabilidad de la Muestra Analítica**

Para la determinación de este parámetro los resultados obtenidos se tabulan conforme a la tabla III para calcular el coeficiente de variación.

**Tabla III**

Tiempo en horas	Luz Blanca % Encontrado	Oscuridad % Encontrado	Refrigeración % Encontrado
0	Y <sub>A</sub>	Y <sub>D</sub>	Y <sub>G</sub>
	Y <sub>B</sub>	Y <sub>E</sub>	Y <sub>H</sub>
	Y <sub>C</sub>	Y <sub>F</sub>	Y <sub>I</sub>
3	Y <sub>1</sub>	Y <sub>10</sub>	Y <sub>19</sub>
	Y <sub>2</sub>	Y <sub>11</sub>	Y <sub>20</sub>
	Y <sub>3</sub>	Y <sub>12</sub>	Y <sub>21</sub>
6	Y <sub>4</sub>	Y <sub>13</sub>	Y <sub>22</sub>
	Y <sub>5</sub>	Y <sub>14</sub>	Y <sub>23</sub>
	Y <sub>6</sub>	Y <sub>15</sub>	Y <sub>24</sub>
24	Y <sub>7</sub>	Y <sub>16</sub>	Y <sub>25</sub>
	Y <sub>8</sub>	Y <sub>17</sub>	Y <sub>26</sub>
	Y <sub>9</sub>	Y <sub>18</sub>	Y <sub>27</sub>

1.-El factor ( I ), para cada condición/tiempo/ muestra se calcula con la siguiente fórmula:

$$I = \frac{(\text{análisis muestra / condición / tiempo})_i}{(\text{análisis inicial})} \times 100$$

2.- Cálculo para el coeficiente de variación:

$$\begin{array}{lll}
 I_1 = \frac{Y_1}{Y_A} * 100 & I_{10} = \frac{Y_{10}}{Y_D} * 100 & I_{19} = \frac{Y_{19}}{Y_G} * 100 \\
 I_2 = \frac{Y_2}{Y_B} * 100 & I_{11} = \frac{Y_{11}}{Y_E} * 100 & I_{20} = \frac{Y_{20}}{Y_H} * 100 \\
 I_3 = \frac{Y_3}{Y_C} * 100 & I_{12} = \frac{Y_{12}}{Y_F} * 100 & I_{21} = \frac{Y_{21}}{Y_I} * 100 \\
 \cdot & \cdot & \cdot \\
 \cdot & \cdot & \cdot \\
 \cdot & \cdot & \cdot \\
 I_9 = \frac{Y_9}{Y_C} * 100 & I_{18} = \frac{Y_{18}}{Y_F} * 100 & I_{27} = \frac{Y_{27}}{Y_I} * 100
 \end{array}$$

Para cada condición / tiempo se calcula la media del factor ( $\bar{I}$ ) con la siguiente fórmula :

$$\bar{I} = \frac{\sum I(\text{condicion / tiempo})}{N}$$

Donde:

$N$  = Número de muestras para cada condición / tiempo.

## CAPITULO VI

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Katzung, G. B. "Pharmacology Examination & Board Review" 3th edition. Appleton & Lange. USA (1993). pp 630-631, 46C.
2. Litter, M. "Compendio de Farmacología". 4a. Edición. Edit. El ateneo. Argentina (1988). pp 1310, 1349-1353.
3. Bawman, W.C. Rand M.J. , "Farmacología, Bases Bioquímicas y Patológicas ". 2a. edición. Nueva editorial Interamericana. México (1984).pp 40.16, 40.8, 40.41.
4. Goodman & Gilman A. y cols. "Las bases Farmacológicas de la Terapéutica." 8a. edición, Edit. Médica Panamericana. México (1991) pp. 73, 641.
5. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 6a edición México ( 1994 ). pp 1324-1325.
6. The Pharmacopoeia of the United States of America XXIII. United States Pharmacopocial Convention. Inc. U:S:A: ( 1994 ) pp. 16,18, 1982.
7. British Pharmacopoeia 1993. Vol I,II, United Kingdom. (1993) p.p 340.

8. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 42 Edición. México ( 1996 ) p.p 1650.
9. Remington's Pharmaceutical Sciences. 18th edition Edit. Mack Publishing Company . U.S.A. (1990 ). pp 1109.0
- 10.The Merck Index : An Encyclopedia of Chemical, Drugs, and Biologicals. Susan Budavari. 11 Edition. Merck & Co. , Inc., U.S.A. (1989 ) pp 6.
- 11.Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación . Requisitos mínimos para la validación de un método analítico. Colegio Nacional de Q.F.B. México ( 1989)
- 12.Pharma News. Actualización en Tecnología Farmacéutica. " Componentes para un programa de validación de métodos analíticos". Mayo 1993 Vol. 4 No. 5; Julio 1993 Vol 4 No. 7; Sep 1993 Vol. 4 No. 9; Oct 1993 Vol. 4 No. 10.
- 13.Who Expert Committee on Specifications fur Pharmaceutical Preparations, Thirty-second Report, World Health Organization, Geneva, 1992 .
- 14.Pharmaceutical technology " The Validation Story: Perspectives on the Systematic GMP, Inspection Approach and Validation Development Ronald F. Tetzlaff, Richard E. Shepherd and Armand J. Le Blanc.
- 15.March 1991 USP Perspectives on Analytical Methods Validation W. Larry Paul.
- 16.Martindale "The extra Pharnacopoeia",Edition Thirtieth (1992), p.p. 1431,1748-1751.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

17. Vademecum Farmacéutico , Tercera Edición (1994), Reza Editores S.A. de C.V.; p.p.1648,2135.
18. Dictionary of Drugs Indexes , J. Elks and C.R. Ganellin. (1990), p.p.4
19. Cassaringne, R.H., Munguía B. y cols. "Material del curso control y aseguramiento de la calidad analítica en el laboratorio", (1994).
20. Moffat, A.C. Jackson, J.V. y cols. "Clarke's Isolation and Identification of Drugs", Segunda Edición, (1986).
21. Walpole, Rohald E. "Probabilidad y Estadística para Ingenieros". Edit. Graw-Hill , Segunda Edición, Méx. (1986).
22. García. "Validación de un método analítico para determinar metilbromuro de mepenzolato en una suspensión oral que también contiene furazolidona". U.N.A.M. Méx. (1992).