

92



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

"EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA DE ESTÁNDAR
ADICIONADO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO
ANALÍTICO PARA PERFILES DE DISOLUCIÓN DE
ALOPURINOL, KETOROLACO Y NAPROXENO."

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

FERJANITH MÁRQUEZ LORA



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

MÉXICO, D. F.,

2002





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

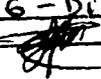
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Márquez Lora

Ferjanith

FECHA: 6 - Dic - 02

FIRMA: 

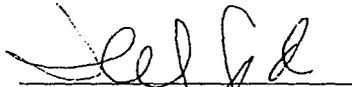
Jurado asignado:

Presidente	Prof. Inés Fuentes Noriega
Vocal	Prof. Helgi Helen Jung Cook
Secretario	Prof. José Manuel Morales Hernández
1er suplente	Prof. Liz Jannet Medina Reyes
2do suplente	Prof. María de Lourdes Cervantes Ayala

Laboratorio 112, edificio E, Facultad de Química, UNAM.

Asesor:

Dra. Helgi Helen Jung Cook



Sustentante:

Ferjanith Márquez Lora



DEDICATORIAS

- * A Dios por estar viva, por todo lo que me ha brindado y por la increíble suerte que tengo al tener a mi familia y a mis amigos.
 - * A mis padres Ester Lora y Adán Márquez por que su fuerza y entereza son en ejemplo, un estímulo y guía para superarme día con día, por su infinito amor, comprensión y apoyo. Por sus consejos y por que todo lo que soy y puedo llegar a ser es por ustedes y para ustedes, en realidad soy muy feliz.
 - * A mi mamá Margarita Lora por tu infinito amor y paciencia. Por haber dedicado gran parte de tu vida a mi hermana y a mí, este paso importante es posible gracias a ti, por que todo lo bueno que hay en mi vida tu lo haces mejor. Te amo. Gracias.
 - * A mi hermana favorita Farady por se lo más valioso de mi vida y mi mejor amiga. Por tu increíble forma de ser y todo lo que aprendo de ti. Nunca te rindas por que eres y serás grandiosa. Te amo.
-

-
- * A mi tío Gregorio Lora por que es parte de mi familia y por que escuchar sus historias es muy divertido. Por preocuparse por mi y quererme.
 - * A mis abuelitos Guadalupe Munive † y Sergio Lora †. Los extraño mucho. Abue me haces falta mi vida, te extraño mucho, mi vida sin tí ya no es la misma, gracias por el amor y los consejos que me diste , luego los pongo en práctica. Llegaré a ser lo que tu esperas. Se que siempre estarán conmigo. Trato de cumplir mis promesas. Los quiero.
 - * A mis abuelitos Elictañia Fernández y Raúl Márquez † por su amor y comprensión . los quiero.
 - * A Víctor Cervantes por que no tengo palabras para agradecerte y para decirte lo importante que eres en mi vida. Gracias por tu amistad , tu tiempo, tu cariño, tu ayuda y tu apoyo. Eres una de las personas más increíbles que conozco. Te quiero mucho.

★

* A todos mis amigos desde los que conozco desde hace muchos años hasta los que no tiene tanto tiempo pero todos son muy importantes en mi vida. Gracias por su apoyo y por hacer mi vida más alegre, por sus consejos, ayuda, comprensión y paciencia. Por escucharme y por estar conmigo. Los quiero mucho a todos.

No los voy a defraudar.

Agradecimientos

- * A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser forjadora de mi carrera profesional y un segundo hogar los últimos años. Por ampliar mis horizontes y darme la oportunidad de un futuro mejor.
 - * A la Dra. Helgi Helen Jung Cook por su asesoría, ayuda y paciencia para la realización de esta tesis.
 - * A la maestra Inés Fuentes por su ayuda para la realización de esta tesis.
 - * Al maestro José Manuel Morales por su ayuda para la realización de esta tesis.
 - * A la maestra Acosta y a la Dra. María Josefa Bernad por su apoyo para que esto sea posible.
 - * A todos mis maestros por que han forjado mi educación con sus enseñanzas y apoyo.
-

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
3. ANTECEDENTES	3
3.1 Monografía de Alopurinol	3
3.2 Monografía de Naproxeno Sódico	6
3.3 Monografía de Ketorolaco Trometamina	9
3.4 Glosario	12
3.5 Método de Estándar Adicionado (MOSA)	15
4. PARTE EXPERIMENTAL	21
4.1 Material y equipo	21
4.2 Reactivos	21
4.3 Soluciones	21
4.4 Estándares	21
4.5 Fármacos a evaluar	21
4.6 Preparación de soluciones	22
5. METODOLOGÍA	23
5.1 Validación del Método Analítico para Alopurinol	23
5.2 Validación del Método Analítico para Naproxeno Sódico	26
5.3 Validación del Método Analítico para Ketorolaco Trometamina	29
5.4 Análisis matemático	32
6. RESULTADOS	35
6.1 Resultados de la validación para Alopurinol	35
6.2 Resultados de la validación para Naproxeno Sódico	40
6.3 Resultados de la validación para Ketorolaco Trometamina	45
6.4 Tablas de los diferentes métodos de calculo	51
7. ANÁLISIS DE RESULTADOS	59
8. CONCLUSIONES	70
9. BIBLIOGRAFÍA	71
10. ANEXO I	75

INTRODUCCIÓN

La aparición en el mercado de nuevos productos genéricos hace necesario demostrar que éstos son intercambiables. Una herramienta útil *in vitro* para ello son los perfiles de disolución.

Un perfil de disolución considera diversos tiempos de muestreo que permiten establecer la velocidad de disolución de un fármaco.

La norma oficial mexicana, NOM-177-SSA1-1998 "Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable y los requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen pruebas", marca como requisito la validación del método analítico para el perfil de disolución que debe realizarse con el medicamento de referencia y de prueba, ya sea por la técnica de adición de placebo o por la técnica de estándar adicionado; cuando no se cuenta con el placebo. La validación considera varios parámetros como linealidad, precisión del sistema y linealidad, exactitud, precisión, reproducibilidad, estabilidad de la muestra y selectividad; pero no hace mención de cómo llevar a cabo la técnica ni de los cálculos a realizar es por ello que cada laboratorio emplea esta técnica de diferentes maneras.

En la presente tesis se evaluaron las diferentes variaciones de la técnica, así como sus cálculos para sugerir la más adecuada. Los fármacos seleccionados fueron: Alopurinol, Ketorolaco trometamina y Naproxeno sódico.

La técnica se evaluó adicionando concentración constante de estándar, adición de concentración creciente de estándar y sin adición de estándar.

OBJETIVOS

- Comparar diferentes metodologías para evaluar la selectividad del método analítico para la cuantificación de Alopurinol, Ketorolaco trometamina y Naproxeno sódico en el medio de disolución.
- Determinar la funcionalidad de la técnica de adición de estándar.
- Uniformar la metodología y los cálculos a efectuar para su uso en los perfiles de disolución.

ANTECEDENTES

Alopurinol

Propiedades químicas:

Nombre químico ^(24,22)

1H- pirazol(3,4-d) pirimidin 4-ol

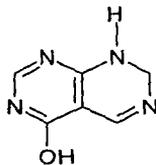
Fórmula condensada ^(24,22)

(C₅H₄N₄O)

Peso molecular ^(24,22)

136g/mol

Fórmula desarrollada del alopurinol ^(30,35)



Propiedades físicas:

Descripción ^(30,35,25)

Es un polvo blanco microcristalino con poco olor y sabor.

Solubilidad ^(24,23,30,35)

Es poco soluble en agua y en alcohol, prácticamente insoluble en éter y cloroformo ; soluble en soluciones de alcali.

Punto de fusión ⁽²⁴⁾

Superior a 350°C

pKa ^(35,24)

10,2

La longitud de absorción máxima de UV en HCl 0.1N es 250nm.y E1% 1cm=550.⁽²⁴⁾

Propiedades farmacológicas:

Uso terapéutico

Se utiliza para disminuir las concentraciones de ácido úrico en los líquidos corporales, esta indicado para el tratamiento de la artritis gotosa y la insuficiencia renal causada por acumulación de cristales o la formación de cálculos.

El alopurinol también se administra con fines profilácticos para disminuir la hiperuricemia y evitar el depósito de uratos o cálculos renales en sujetos con leucemia, linfomas u otros tipos de cáncer, después de la terapia antineoplásica o con radiación. ^(4,14,22,23)

Mecanismo de acción

A diferencia de los uricosúricos que intensifican la excreción renal de ácido úrico, el alopurinol inhibe las etapas terminales de la biosíntesis de dicho metabolito.

Disminuye la formación de uratos al inhibir a la enzima xantina oxidasa que reduce la cantidad de hipoxantina y de xantina convertida a urato, esto permite que más hipoxantina y xantina este disponible para reutilización en el ciclo metabólico de las purinas lo cual disminuye la formación global de purinas de novo. ^(4,14)

Al disminuir la formación de urato, reduce la concentración de ácido úrico en los líquidos del cuerpo y la orina en consecuencia permite la movilización y disolución de los depósitos de urato en cualquier parte del cuerpo siendo más comunes las articulaciones. ^(4,14,22,23)

A concentraciones pequeñas es un sustrato de la enzima xantina oxidasa y al mismo tiempo su inhibidor competitivo, a concentraciones altas es inhibidor no competitivo. Su metabolito primario es la aloxantina, que también es un inhibidor no competitivo de la enzima.

Farmacocinética

El alopurinol se absorbe con relativa rapidez después de su ingestión y en término de 30 a 60 minutos se alcanzan concentraciones plasmáticas máximas. Tiene una vida media de 2 horas. Menos de 10% se excreta inalterado en orina. La autoinhibición del metabolismo del alopurinol explica el por que la eliminación depende de la dosis.

La aloxantina se excreta lentamente en orina mediante un proceso de filtración glomerular y reabsorción tubular sensible a probenecid. Tiene un tiempo de vida media de 18 a 30 h. El alopurinol y su metabolito se distribuyen en el agua tisular total pero no atraviesa barrera hematoencefálica. No se une a proteínas plasmáticas y las concentraciones plasmáticas de ambos no guardan correlación neta con los efectos terapéuticos o tóxicos. ^(4,14,22,23)

Contraindicaciones y efectos adversos

Intolerancia reconocida al alopurinol, insuficiencia renal o hepática y hepatitis viral.

Los efectos adversos más frecuentes son reacciones de hipersensibilidad, erupción pruriginosa, en ocasiones se observa fiebre malestar y mialgias pero en general se tolera adecuadamente en casi todos los enfermos. ^(4,14)

Presentaciones comerciales

Forma farmacéutica y dosificación:

- ♣ Tableta de 100mg 3 veces al día.
- ♣ Tableta de 300mg 1 vez al día.

En la gota aguda se permite una dosis máxima de 800mg al día. ^(4,14)

ALOPURINOL, Valdecasas tabletas
ATISURIL, tabletas BYK Gulden
UNIZURIC, tabletas Química y farmacia
ZYLOPRIM, tabletas Wellcome ^(4,5)

Naproxeno sódico

Propiedades químicas:

Nombre químico ^(22,24)

(S)-6-metoxi- α -metil-2-ácido naftalénico sal de sodio

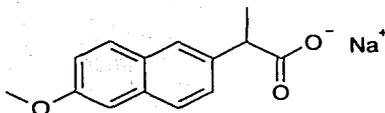
Fórmula condensada ^(22,24)

C₁₄H₁₃NaO₃

Peso molecular ^(22,24)

252.24 g/mol

Formula desarrollada ^(31,36,37)



Propiedades físicas

Descripción ^(31,36,37)

Es un polvo sólido cristalino de color blanco a color crema, con poco olor.

Solubilidad ^(22,25,31,36,37)

Completamente soluble en agua y metanol a pH neutro

Punto de fusión ⁽²⁴⁾

244-246°C

pKa ^(31,36,37)

4.2

Propiedades farmacológicas:

Uso terapéutico

El naproxeno es un derivado del ácido propiónico y forma parte del grupo de antiinflamatorios no esteroideos, posee propiedades analgésicas y anti-inflamatorias.

Se usa como analgésico y antiinflamatorio en el tratamiento de infecciones en vías respiratorias superiores como amigdalitis, faringitis y otitis, en infecciones de vías respiratorias inferiores como bronquitis, infecciones en vías genitourinarias y también en la cirugía y traumatología como antiinflamatorio y antirreumático, en odontología para la gingivitis y las extracciones dentales.^(4,14)

Mecanismo de acción

Es un inhibidor de la ciclooxigenasa 20 veces más potente que la aspirina. Disminuye la síntesis de prostaglandinas.^(4,14)

Farmacocinética

Después de su ingestión, el naproxeno sódico se absorbe en su totalidad, la rapidez pero no la magnitud se ve afectada por los alimentos.

Las concentraciones máximas en plasma se obtienen en un término de 1 a 2 horas, la vida media es de 13 horas aproximadamente. Se une un 99% a proteínas plasmáticas. Este medicamento atraviesa placenta y aparece en leche materna a razón de 1% de la concentración plasmática de la madre.

Los metabolitos del naproxeno se excretan casi por completo en la orina. En promedio el 30% del fármaco se metaboliza mediante 6-desmetilación y gran parte de este metabolito así como el naproxeno se excretan en forma de glucurónido y otros conjugados.^(4,14)

Contraindicaciones y efectos adversos

Puede causar efectos adversos en el tracto gastrointestinal y en SNC como somnolencia, marcos, depresión y ototoxicidad. No induce las enzimas metabólicas, modifica la función plaquetaria y prolonga el tiempo de sangrado.

No deberá administrarse a pacientes en quienes el ácido acetil salicílico (AAS) u otros fármacos antiinflamatorios y analgésicos no esteroideos hayan provocado manifestaciones alérgicas serias. Se debe tener precaución en su uso en menores de 2 años, y en padecimientos inflamatorios comunes no se deberá administrar por más de 10 días, no deberá administrarse en pacientes con úlcera péptica o con historia de enfermedad gastrointestinal. Como el producto contiene 25mg de sodio deberá tomarse en cuenta para aquellos pacientes en los que la ingesta de sodio este restringida.

Entre las reacciones adversas más frecuentes se encuentran malestar abdominal, dolor epigástrico, cefalea, náuseas, vértigo, somnolencia, fatiga, ototoxicidad, entre las menos frecuentes se encuentra prurito y diversos problemas dermatológicos, ictericia, trombocitopenia, agranulocitosis, hepatitis fetal y convulsiones.

Reduce el efecto antihipertensivo del propanolol y otros β - bloqueadores. Si se administra con probenecid aumentan los niveles plasmáticos de naproxeno así como su vida media.
(4,14)

Presentaciones comerciales

Las presentaciones farmacéuticas son las siguientes: (4,14)

- ✦ Tabletas para adulto de 550mg, una cada 12 horas.
- ✦ Tabletas para adulto de 275mg, una cada 6 horas.
- ✦ Cápsulas infantiles de 100mg, no debe exceder 16.5mg/kg/día.
- ✦ Suspensión infantil caja con polvo para preparar 100ml con 2.5g , y cada cucharadita equivale a 125mg.
- ✦ Supositorios infantiles de 50mg .

ANAFLIN, tabletas Ehlinger

BENAPROX, tabletas Welfer

DOLOATRIXEN, tabletas Zerboni

FLANAX, cápsulas, suspensión, suspensión pediátrica, tabletas Syntex

FUXEN, tabletas Fustery

NAPRODIL, cápsulas DIBA^(4,5)

Ketorolaco trometamina

Propiedades químicas:

Nombre químico ^(22,24)

(+/-)-5-benzoil-2,3-dihidro-1H-pirrolizina-1-ácido carboxílico

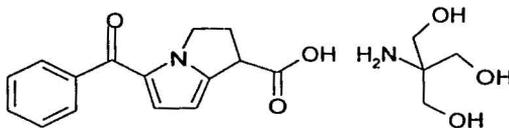
Fórmula condensada ^(22,24)

C₁₅H₁₃NO₃

Peso molecular ^(22,24)

376.41 g/mol

Fórmula desarrollada ^(33,34)



Propiedades físicas:

Descripción ^(33,34)

Polvo cristalino que puede existir en tres formas cristalinas

Solubilidad ^(33,34)

Las tres formas cristalinas son solubles en agua

Punto de fusión ⁽²⁴⁾

160-161 °C

pKa ^(33,34)

3.5

Propiedades farmacológicas:

Uso terapéutico

El ketorolaco es un derivado estructuralmente similar de ácido heteroarílico. Es un potente analgésico con propiedades antipiréticas pero posee sólo moderada eficacia antiinflamatoria. Es uno de los pocos fármacos que está aprobado para su administración parenteral.

Se utiliza para el tratamiento del dolor a corto plazo como el postoperatorio en lugar de los opioides; es útil en cuadros inflamatorios del ojo y se utiliza para el tratamiento de la conjuntivitis alérgica estacional.^(4,14)

Mecanismo de acción

Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la enzima ciclooxigenasa con lo que disminuye la biosíntesis de prostaglandinas.^(4,14)

Farmacocinética

Después de ingestión o aplicación intramuscular, el ketorolaco se absorbe con rapidez y alcanza concentraciones plasmáticas máximas en un periodo de 30 a 50 minutos. La biodisponibilidad después de ingerido es de aproximadamente 80%. Más del 99% se une a proteínas plasmáticas, con un volumen de distribución de 0.15 L/Kg y tiene una vida media de eliminación de 4 a 6 horas.

Cerca de un 60% se excreta inalterado por orina y el resto en forma de conjugado con el ácido glucurónico. Su metabolito p-hidroxiketorolaco es inactivo. Atraviesa la placenta en un 10%. En ancianos su vida media aumenta.

Como el ketorolaco es un fármaco muy potente, alcanza concentraciones plasmáticas bajas, por lo que no desplaza de forma importante a otros fármacos unidos a proteínas plasmáticas.^(4,14)

Contraindicaciones y efectos adversos

El ketorolaco está contraindicado en los siguientes casos: en pacientes con úlcera gastroduodenal activa, hemorragia digestiva reciente, también en pacientes con insuficiencia renal moderada o grave, durante el parto, en pacientes con hipersensibilidad demostrada al ketorolaco u otros analgésicos antiinflamatorios no esteroideos y puede iniciar la formación de úlceras gástricas, en algunos casos puede generar mareos, cefalea, dispepsia y náuseas.

Entre los principales efectos adversos que se presentan por el uso de este fármaco están:
En el tracto gastrointestinal: dolor abdominal, anorexia, estreñimiento, diarrea, dispepsia, eructos, gastritis, hemorragia digestiva, hematemesis, náuseas, esofagitis, pancreatitis, úlcera gastroduodenal, perforación gástrica o intestinal, vómitos; en el sistema nervioso central: sueños anormales, alteración del pensamiento, ansiedad, convulsiones, depresión, mareos, somnolencia, cefalea, insomnio, mialgia, nerviosismo; en vías urinarias: insuficiencia renal aguda, síndrome hemolítico urémico, hiperpotasemia, hiponatremia, polaquiuria, retención urinaria, síndrome nefrótico, oliguria, elevación de los niveles plasmáticos de urea y creatinina; inhibe la agregación plaquetaria.

En el aparato cardiovascular: bradicardia, sofocos, hipertensión arterial, palpitaciones, hipotensión arterial, dolor torácico; en el aparato respiratorio: asma bronquial, edema pulmonar; en el aparato hepatobiliar: alteración de la pruebas de función hepática, hepatitis, ictericia, insuficiencia hepática; en la piel produce dermatitis exfoliativa, prurito, urticaria, síndrome de Steven- Johnson, también reacciones de hipersensibilidad como anafilaxia, eritema facial, broncospasmo, edema laríngeo, reacciones dermatológicas como púrpura, trombocitopenia, epistaxis, prolongación del tiempo de sangrado.
Algunas otras son alteraciones de la vista, astenia, aumento de peso y fiebre.

En los adultos el tratamiento ya sea intramuscular o intravenoso no debe superar los 4 días pues los efectos secundarios aumentan con el uso prolongado. La dosis debe ajustarse en cada caso según la intensidad del dolor y la respuesta individual del paciente.

Por vía oral puede administrarse en dosis única y en dosis múltiple en adulto como tratamiento a corto plazo hasta 7 días. No se recomienda su uso en niños. ^(4,14)

Presentaciones comerciales

Las presentaciones farmacéuticas son: ^(4,14)

- ♣ Tabletas de 10mg
- ♣ Solución inyectable de 10mg
- ♣ Solución inyectable de 30mg

DOLAC, tabletas, solución inyectable, Syntex.
ACULAREN, solución oftálmica, Allergan.
ALIDOL, tabletas sublinguales, Syntex.
DOLOTOR, solución inyectable, tabletas, Roche.
FINDOL, comprimidos, solución inyectable, Senosiain.
GLICIMA, tabletas, Atlantis.
ONEMER, solución inyectable, PISA.
SUPRADOL, solución inyectable, tabletas, Liomont. ^(4,5)

GLOSARIO:

Prueba de disolución

Las pruebas de disolución farmacopeicas son pruebas límite puntuales, ya que evalúan la cantidad de principio activo disuelto en un tiempo determinado, pero no proporciona información de la velocidad a la cual este se disuelve.

Un producto farmacéutico esta compuesto de uno o varios principios activos y de excipientes, la proporción entre ellos, el tipo de excipientes y el método de manufactura le confieren al producto final ciertas características de disolución que determinarán la forma de liberación del fármaco así como su absorción por el organismo.

Durante el desarrollo de un producto farmacéutico la prueba de disolución se usa como una herramienta para identificar factores de la formulación que influyen o tienen un efecto crucial en la biodisponibilidad del fármaco.

Cuando el proceso de fabricación ya esta definido la prueba se utiliza para el escalamiento de los lotes al asegurarse que tiene las mismas propiedades de disolución y como una prueba de control de calidad.

La metodología de esta prueba debe ser acorde con lo establecido por la farmacopea en vigor que desglosa los requisitos que debe cumplir el producto para ser aprobado. ⁽¹⁾

Perfil de disolución

Es una prueba que considera diversos tiempos de muestreo, lo que permite establecer la velocidad de disolución.

Para comparar los perfiles de disolución se utiliza el factor f_2 que es un valor puntual que es válido bajo ciertas consideraciones como los tiempos de muestreo que deben ser idénticos, al menos se deben considerar 3 o 4 tiempos sin incluir el punto cero, el coeficiente de variación del por ciento disuelto no debe ser mayor que el 20% para el primer punto y no mayor al 10% para los tiempos subsiguientes. ⁽¹⁾

Equivalente farmacéutico

Cuando dos productos contienen la misma cantidad del mismo principio activo en la misma forma farmacéutica y la misma forma de la sal, que cumple con parámetros comparables. ⁽²⁰⁾

Alternativa farmacéutica

Son productos que contienen el mismo principio activo pero no necesariamente la misma forma química de la sal, ni la misma forma farmacéutica. ⁽²⁰⁾

Validación

La validación de métodos analíticos y procesos de manufactura ha adquirido mucha importancia en el control de calidad de la industria farmacéutica, instancias como la FDA ha enfatizado en la documentación para la implementación de los procesos de validación y la definió como un programa documentado que provee con alto grado de seguridad que un proceso específico dará consistentemente los resultados esperados, de acuerdo a especificaciones de calidad establecidas.^(2,29)

La USP 24 define a la validación de un método analítico como el proceso por el cual se establece por estudios de laboratorio que las características del método cumple los requerimientos analíticos necesarios para su aplicación.⁽³⁾

Los parámetros a evaluar son:

Sistema: linealidad y precisión

Método: linealidad, precisión, exactitud, estabilidad de la muestra.

Se debe validar el método analítico para los medicamentos de prueba y de referencia. Si se tienen disponibles los placebos de los medicamentos, se realiza la validación mediante el porcentaje de recuperación; cuando no es posible obtenerlos, la validación se realiza por el método del estándar adicionado.^(1,2)

Linealidad

Es la capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra.

Para el sistema se debe demostrar una linealidad con al menos 5 puntos (excepto el cero) por duplicado, con un coeficiente de regresión mayor o igual que 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor que el 2%

Para el método se emplea el criterio anterior modificando el valor del error relativo al 3%.^(2,3)

Exactitud

La exactitud de un método analítico, es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia que se expresa como % de R obtenido del análisis de muestras a las que se adicionan cantidades conocidas del analito.^(2,3)

Se calcula:

$$\%RD = ((\text{valor real} - \text{valor obtenido}) / \text{valor real}) * 100$$

Intervalo

El intervalo de un método analítico está definido por las concentraciones comprendidas entre los niveles superior e inferior del analito en el cual se ha demostrado que el método es lineal, exacto y preciso.^(2,3)

Precisión

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestras de una muestra homogénea del producto.

Se expresa en términos de DE o CV, es una medida del grado de reproducibilidad y repetibilidad del método analítico. ^(2,3)

Se calcula:

$$\%RSD = (\text{desviación estándar} / \text{media}) * 100$$

- ♣ La repetibilidad es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones.
- ♣ La reproducibilidad es la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes.

Limite de detección

Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones de operación establecidas. ^(2,3)

Limite de cuantificación

Es la menor concentración de una sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptable bajo las condiciones de trabajo establecidos. ^(2,3)

Especificidad

Es la cualidad del método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra. ^(2,3)

Tolerancia o robustez

La tolerancia de un método analítico es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación. ⁽³⁾

Estabilidad de la muestra

Es la propiedad de la muestra preparada para su cuantificación de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito de interés, después de almacenarse un tiempo determinado bajo condiciones específicas. ^(2,3)

METODO DE ADICION DE ESTÁNDAR. (MOSA)

El objetivo de esta técnica es detectar y eliminar algunas fuentes de error que producen sesgos en la determinación en un método analítico.⁽¹⁸⁾

Cuando una muestra obedece la ley de Beer es decir que la absorbancia varia linealmente con la concentración se puede usar el método de adición de estándar.

Con este método se minimizan las diferencias físicas y químicas entre estándares y muestras, ya que los estándares se preparan en la misma matriz que la muestra. Se utiliza para evaluar el sesgo de cuantificación (error) en un método analítico. Esta técnica es muy utilizada en calibración cuando la matriz de la muestra interfiere con la señal del analito.

Así mismo, cuando no se conoce la composición exacta de la matriz de la muestra o bien esta es muy complicada de imitar con soluciones estándares, es ventajoso usar esta técnica.

Se asume que tanto el estándar como la muestra se afectaran de igual forma. Este método consiste en tomar varias alícuotas de la muestra y adicionar cantidades de concentración conocida de estándar, es decir se adicionan cantidades conocidas de la especie a ser determinada a un volumen definido de la solución de concentración desconocida. Los valores óptimos para la adición son el doble o cuatro veces el nivel del analito en la muestra sin adicionar.⁽¹⁸⁾

Se usa en el análisis de trazas, en la validación de métodos analítico. Cuando se desconocen los compuestos de las matriz. Tiene la ventaja de demostrar la linealidad del sistema – muestra y puede ser usada como una técnica libre de una curva de referencia por su normalización in situ del error proporcional. Esta normalización ocurre por que el mismo procedimiento operacional se realiza en las muestras sin adicionar y adicionadas, lo que permite que sea reproducible el sesgo proporcional introducido en las muestras en el rango de trabajo.^(16,19)

La técnica muestra algunas limitaciones, ya que no puede detectar interferencias causadas por componentes desconocidos de la muestra, debido a que este y el analito contribuyen aditivamente a la señal y no pueden ser diferenciadas. Además esta técnica no permite corregir una falla en el grado de especificidad en el método.⁽¹⁶⁾ Cualquier sustancia que actúe directamente como interferencia en la técnica puede causar un resultado tendencioso.⁽¹⁸⁾

Entre otras desventajas la adición cambia el rango de concentración del analito y esto puede ocasionar interferencia, también se necesita una corrección de blanco para evitar resultados de mayor magnitud a lo esperado. Aún cuando se cumplan los requisitos esta técnica solo es efectiva para eliminar el sesgo de la concentración en el que fue adicionado.⁽¹⁸⁾

La absorbancia de cada solución a la que se le ha adicionado estándar y de la muestra sin adicionar se grafica como función de la concentración; y se obtiene una línea recta, donde la extrapolación al eje horizontal es equivalente a la concentración del analito en la muestra, se realizan correcciones con un "blanco" extrapolado a concentración cero.

El blanco del método (BM) se define como una muestra de tamaño nominal libre del analito a determinar, por ejemplo un placebo en farmacia. Este valor de BM puede aplicar a unos cuantos cálculos convencionales, se usa BM en cálculos de MOSA para igualar la respuesta de la curva de muestra. El error constante (EC) es el blanco del sistema, intercepto de la curva de estándar y refleja el error constante del sistema.

El error proporcional (EP) es la razón entre las pendientes de la técnica de adición de estándar (MOSA) y la curva estándar.^(15,16)

Muchas veces no es posible disponer de un placebo, en esto casos se debe determinar un blanco verdadero en la muestra actual, por lo que la matriz y el analito deben estar presentes. La respuesta obtenida se deberá a 3 posibles fuentes, el analito, la muestra y el blanco por lo que al menos se deben separar dos de las tres posibles señales, así el blanco verdadero se determinará por un cálculo algebraico.⁽¹⁶⁾

Youden⁽¹⁶⁾ publica que aplicando un análisis de regresión lineal a los datos de la muestra se puede determinar correctamente el blanco verdadero. El gráfico de la muestra de Youden es definido como la curva de respuesta de la muestra que es función de la concentración (figura 1). Se determina el intercepto y la pendiente, el intercepto define el blanco total de Youden (TYB) que representa el error constante del método extrapolado a la muestra de nivel cero y es el blanco verdadero de la muestra.⁽¹⁶⁾

La respuesta del blanco total de Youden es la señal debida a los componentes de la matriz y al disolvente, pero más importante a la interacción del analito y la matriz. El blanco del sistema solo contiene las señales de la matriz sin el analito en los disolventes; las diferencias entre TYB y el blanco del sistema es un termino denominado blanco de Youden (YB) que es un importante parámetro de diagnóstico ya que es un indicador significativo de las desviaciones relacionadas con la muestra.⁽¹⁶⁾

$$YB = TYB - BM$$

La curva de la técnica de adición de estándar incluye la señal del analito y la del TYB.⁽¹⁶⁾

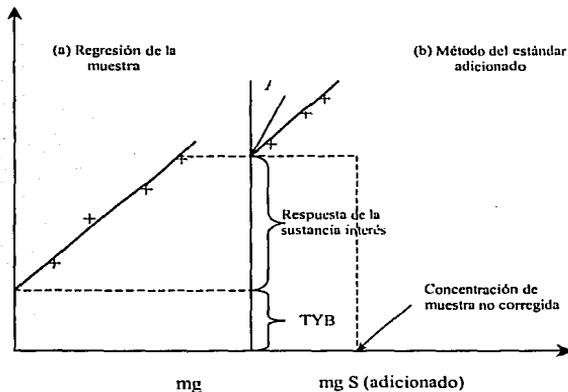


Figura 1 Método de adición de estándar y curva de Youden

La normalización del error proporcional resulta en un cambio de la pendiente en la curva de adición de la técnica del estándar adicionado en comparación con la curva de calibración (sistema) ya que ambas son respuesta del estándar de referencia.⁽¹⁹⁾

Cuando se comparan las pendientes de ambas curvas y son paralelas se puede decir que los excipientes no interfieren en el análisis.⁽¹⁹⁾

Para que se obtengan resultados precisos:

Si la concentración del analito en la muestra es cero, se debe obtener una lectura de cero.

La forma química del estándar debe ser la misma que la del analito o debe producir una señal analítica equivalente, en ocasiones a mayor concentración esta relación no se conserva por lo que no se debe adicionar una concentración muy grande; por lo que el pH se debe conservar igual.⁽¹⁷⁾

La curva de calibración debe ser lineal en el rango de concentración empleada y debe pasar por el origen.

Si la recuperación es satisfactoria se puede confiar en la exactitud del método.

El método de extrapolación es menos preciso que un método de interpolación gráfico.

La técnica de estándar adicionado puede detectar sesgos en el método analítico como el error constante y el error proporcional. ⁽¹⁹⁾

El error constante se debe a un sesgo en la respuesta ya sea positivo o negativo no atribuible al analito, que se puede medir directamente o relacionado matemáticamente.

Esta respuesta puede provenir de interferencias con la matriz o puede ser causada por una propiedad fisicoquímica del sistema de medición y que es independiente del tamaño de la muestra. ⁽¹⁹⁾

El error proporcional es resultado de un cambio en la respuesta del analito por unidad de concentración ya sea positivo o negativo, este se puede atribuir a parámetros del sistema de medición, al método y la magnitud es constante en todos los niveles de concentración evaluados. ⁽¹⁹⁾

Para detectar estos sesgos es necesario graficar la cantidad adicionada con respecto a la cantidad recuperada. Cuando no hay interferencias en el método analítico se obtiene una línea con pendiente de uno e intercepto de cero como se muestra en la figura 2. ⁽¹⁹⁾

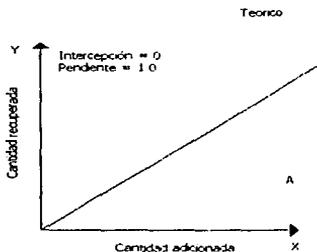


Figura 2. Respuesta lineal

Cuando en el método hay errores aleatorios pero no hay sesgo se obtiene una gráfica similar a la de la figura 3. La pendiente de la gráfica es uno y el intercepto es cero. ⁽¹⁹⁾

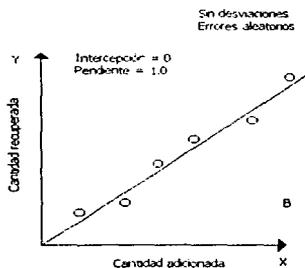


Figura 3. errores aleatorios

Cuando el intercepto es igual a cero y la pendiente es diferente de uno el sesgo que se detecta es debido a un error proporcional y la grafica que se obtiene es similar a la figura 4. ⁽¹⁹⁾

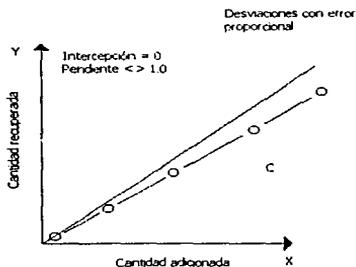


Figura 4. error proporcional

Un error constante se presenta cuando la pendiente es igual a uno y el intercepto es diferente de cero. La grafica que se obtiene se presenta en la figura 5.⁽¹⁹⁾

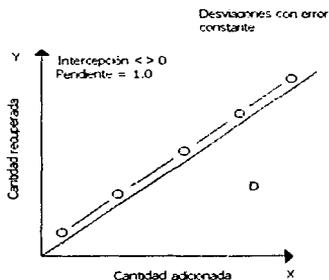


Figura 5. error constante

Para evaluar la técnica de adición de estándar se seleccionaron 3 fármacos:

Alopurinol se seleccionó debido a su alto contenido de principio activo y pocos excipientes. Su relación es 2:1

Naproxeno sódico se seleccionó porque el producto comercial tiene un color azul en la tableta, se deseaba comprobar si la presencia de color interfería con la técnica. Su relación de principio activo excipientes es de 1.5:1

Ketorolaco trometamina se eligió por que el contenido de principio activo es bajo comparado con la cantidad de excipiente presente en la tableta. Su relación es 20:1

PARTE EXPERIMENTAL

Material y equipo:

- Balanza analítica Sartorius
- Potenciómetro Orion Research modelo 301
- Papel filtro Whatman del numero 42
- Espectrofotómetro UV – visible Shimadzu UV- 1601 con impresora Epson FX850

Reactivos:

- Agua destilada con equipo Autostill 4000X
- Ácido clorhídrico HCl Mallinckrodt reactivo analítico
- Fosfato monobásico de sodio $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ Mallinckrodt reactivo analítico
- Fosfato dibásico de sodio heptahidratado $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ Mallinckrodt reactivo analítico
- Hidróxido de sodio NaOH J. T. Baker

Soluciones:

- Solución de HCl 0.1N
- Solución de NaOH 0.1N
- Solución reguladora de fosfatos pH 7.4

Estándares:

- Estándar de referencia de Alopurinol BP/ USP 150 UM lote QF01285462
- Estándar de referencia de Ketorolaco trometamina lote CC0050001, ensayo 100.2%, donado por el laboratorio Roche Syntex S.A. DE C. V.
- Estándar de referencia de Naproxeno sódico lote CV0109011C, ENSAYO 99.8%, donado por el laboratorio Roche Syntex S.A. DE C. V.

Fármacos a evaluar:

- Asturil de 300mg (alopurinol) lote DJ7468 de BYK Gulden S.A. de C.V. Adquirido directamente en la farmacia.
- Flanax de 550mg (naproxeno sódico) lote T16493 de Syntex, donado por Roche Syntex S.A. DE C. V.
- Dolac 10mg (ketorolaco trometamina) lote X25122 Syntex, donado por Roche Syntex S.A. DE C. V.

Preparación de soluciones:

En la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) se especifican los medios en los que se debe realizar la prueba de disolución para cada uno de los fármacos seleccionados, por lo que la validación se realizó en dichos medios.

Los medios fueron los siguientes:

Alopurinol:

Solución de HCl 0.1N

Medir con pipeta graduada 8.5ml de HCl concentrado y aforar a 1000ml con agua destilada.

Naproxeno sódico:

Solución reguladora de fosfatos pH 7.4

Disolver 2.62g de fosfato monobásico de sodio $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y 21.704g de fosfato dibásico de sodio heptahidratado $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en un matraz volumétrico de 1000ml llevar al aforo con agua destilada. Ajustar el pH a 7.4 con NaOH 0.1N.

Solución de NaOH 0.1 N

Disolver 4.2g de hidróxido de sodio NaOH en un matraz volumétrico de 1000ml y llevar al aforo con agua destilada.

Ketorolaco trometamina:

Agua destilada.

Metodología

Alopurinol

Validación del sistema

Solución de referencia:

Se pesó 0.010g de sustancia de referencia de alopurinol y se disolvió en un matraz volumétrico de 100ml, se llevó al aforo con ácido clorhídrico 0.1N. Esta solución contiene 100µg/ml de alopurinol.

Linealidad:

Se prepararon tres curvas de la misma solución de referencia variando el volumen para llegar a las concentraciones que se indican en la tabla I.

TABLA I

Solución de referencia (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración final (µg/ml)
2	50	4
4	50	8
5	50	10
10	50	20
15	50	30
20	50	40

La medición se realizó por espectrofotometría a una longitud de onda de 250nm, utilizando la solución de HCL 0.1N como blanco.

Para cada una de ellas se calculó el promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación así como la ordenada al origen, la pendiente y el coeficiente de correlación.

El coeficiente de regresión lineal deberá ser mayor o igual a 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 2%.

Precisión:

Para determinar este parámetro se calculó el factor de respuesta de la linealidad del sistema según la FEUM 7ª edición, donde se indica que el coeficiente de variación de este valor no debe ser mayor al 2%.

$$f = \frac{\text{respuesta}(Y)}{\text{concentración}(x)}$$

Validación del método

Muestra:

Se pesaron 10 tabletas de producto Asturil y se determinó el peso promedio que fue de 0.5537g, posteriormente se molieron en un mortero. Se pesó la cantidad equivalente a 0.010g de alopurinol, sabiendo que cada tableta contiene 0.300g de alopurinol, el peso equivalente fue de 0.0185g, se disolvió en un vaso de precipitado con HCl 0.1N. Se filtró con papel Whatman número 42 a un matraz volumétrico de 100ml y se aforó. Está solución contiene 100µg/ml de alopurinol.

Linealidad:

Para la validación del método se utilizaron 3 técnicas:

- I. Sin adición de estándar a la muestra
- II. Adición constante de estándar
- III. Adición creciente de estándar

A continuación se presenta la metodología a seguir en cada caso.

Sin adición de estándar:

TABLA II

Solución estándar (ml)	Solución de muestra (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración (µg/ml)
0	2	50	4
0	4	50	8
0	5	50	10
0	10	50	20
0	15	50	30
0	20	50	40

Adición de concentración constante de estándar:

TABLA III

Solución estándar (ml)	Solución de muestra (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración (µg/ml)
5	2	50	14
5	4	50	18
5	5	50	20
5	10	50	30
5	15	50	40
5	20	50	50

Adición de concentración creciente de estándar:

TABLA IV

Solución estándar (ml)	Solución de muestra (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
2	5	50	14
4	5	50	18
5	5	50	20
10	5	50	30
15	5	50	40
20	5	50	50

En cada una de las técnicas se calculo el promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación así como la ordenada al origen, la pendiente y el coeficiente de correlación.

El coeficiente de regresión lineal debe ser mayor o igual a 0.99 y un error relativo a la regresión no mayor al 3%.

Exactitud:

El promedio del porcentaje de recuperación de los datos de la linealidad no debe ser variar con respecto a la cantidad nominal más de 3% en cada punto.

Precisión:

Para determinar la precisión de cada uno de los métodos utilizados se calculó el por ciento de recobro a partir de los datos de linealidad. El porcentaje de recuperación no debe ser mayor al 3%.

NAPROXENO SÓDICO

Validación del sistema

Solución de referencia:

Se pesó 0.010g de sustancia de referencia de naproxeno sódico y se disolvió en un matraz volumétrico de 100ml, se llevo al aforo con solución reguladora de fosfatos pH 7.4 . Esta solución final contiene 100 $\mu\text{g/ml}$ de naproxeno sódico.

Linealidad:

Se prepararon 3 curvas en el rango de concentración de 6 a 60 $\mu\text{g/ml}$ (tabla V) y se determinó la absorbancia a 332nm utilizando solución reguladora de fosfatos como blanco de lectura.

TABLA V

Solución de referencia (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
3	50	6
10	50	20
20	50	40
25	50	50
30	50	60

Se calculó el promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación así como la ordenada al origen, la pendiente y el coeficiente de correlación para cada una de ellas.

El coeficiente de regresión lineal deberá ser mayor o igual a 0.99 y un error relativo debido a la regresión no mayor al 2%.

Precisión:

A partir de la linealidad del sistema se calculó el factor de respuesta de acuerdo a lo indicado en la FEUM 7^a edición.

Validación del método

Muestra:

Se pesaron 10 tabletas de producto Flanax, se determinó el peso promedio, se molieron en un mortero. Se pesó la cantidad equivalente a 0.010g de naproxeno sódico, sabiendo que cada tableta contiene 0.500g de naproxeno sódico y el peso promedio es de 0.7768g. El peso equivalente fue de 0.0143g, se disolvió en un vaso de precipitado con solución reguladora de fosfatos pH 7.4, se filtró con papel Whatman número 42 a un matraz volumétrico de 100ml y se aforó con la misma solución. La solución resultante contiene 100 $\mu\text{g/ml}$ de naproxeno sódico.

Linealidad:

Para la validación del método analítico se utilizaron las siguientes técnicas:

- I. Sin adición de estándar
- II. Adición constante de estándar
- III. Adición creciente de estándar

En las tablas VI, VII y VIII se muestra la metodología a seguir en cada caso.

Sin adición de estándar:

TABLA VI

Solución estándar (ml)	Solución de muestra (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
0	3	50	6
0	10	50	20
0	20	50	40
0	25	50	50
0	30	50	60

Adición constante de estándar.

TABLA VII

Solución estándar (ml)	Solución de muestra (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
5	3	50	16
5	10	50	30
5	20	50	50
5	25	50	60
5	30	50	70

Adición creciente de estándar:

TABLA VIII

Solución estándar (ml)	Solución de muestra (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
3	5	50	16
10	5	50	30
20	5	50	50
25	5	50	60
30	5	50	70

Para cada una de ellas se calculó el promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación así como la ordenada al origen, la pendiente y el coeficiente de correlación. El coeficiente de regresión lineal debe ser mayor o igual a 0.99 y un error relativo a la regresión no mayor al 3%.

Exactitud:

El promedio del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no debe variar con respecto a la cantidad nominal más de 3% en cada punto.

Precisión:

Para determinar la precisión de cada uno de los métodos utilizados se calculó el por ciento de recobro a partir de los datos de linealidad. El porcentaje de recuperación no debe ser mayor al 3%.

Ketorolaco trometamina

Validación del sistema

Solución de referencia:

Se pesó 0.010g de sustancia de referencia de ketorolaco trometamina, se disolvió en un matraz volumétrico de 100ml, se llevó al aforo con agua. Esta solución contiene 100 µg/ml de ketorolaco trometamina.

Linealidad:

Se prepararon 3 curvas de la misma solución de referencia como lo indica la tabla IX ; se determinó la absorbancia a 322nm utilizando agua como blanco.

TABLA IX

Solución de referencia (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración (µg/ml)
2	50	4
3	50	6
5	50	10
10	50	20
20	50	40

Para cada una de ellas se calculó el promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación así como la ordenada al origen, la pendiente y el coeficiente de correlación.

El coeficiente de regresión lineal deberá ser mayor o igual a 0.99 y el error relativo debido a la regresión no mayor al 2%.

Precisión:

A partir de la linealidad del sistema se calculó el factor de respuesta de acuerdo a lo indicado en la FEUM 7ª edición.

Validación del método

Muestra:

Se pesaron 10 tabletas de producto Dolac y se determinó el peso promedio, posteriormente se molieron en un mortero. Se pesó la cantidad equivalente a 0.010g de ketorolaco trometamina, sabiendo que cada tableta contiene 0.010 g de ketorolaco trometamina y el peso promedio es de 0.2053g. Se disolvió en un vaso de precipitado con agua, se filtró con papel Whatman número 42 a un matraz volumétrico de 100ml y se aforó , procurando protegerlo de la luz. Esta solución contiene 100µg/ml de ketorolaco trometamina.

Linealidad:

Para la validación del método se utilizaron 3 técnicas:

- I. Sin adición de estándar a la muestra
- II. Adición de concentración constante de estándar
- III. Adición de concentración creciente de estándar.

Se prepararon un total de 9 curvas como lo indican las tablas X, XI, XII .

Sin adición de estándar:

TABLA X

Solución estándar (ml)	Solución de muestra (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
0	2	50	4
0	3	50	6
0	5	50	10
0	10	50	20
0	20	50	40

Adición constante de estándar:

TABLA XI

Solución estándar (ml)	Solución de muestra (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
5	2	50	14
5	3	50	16
5	5	50	20
5	10	50	30
5	20	50	50

Adición creciente de estándar:

TABLA XII

Solución estándar (ml)	Solución de muestra (ml)	Volumen de aforo (ml)	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)
2	5	50	14
3	5	50	16
5	5	50	20
10	5	50	30
20	5	50	40

Se calculo el promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación así como la ordenada al origen, la pendiente y el coeficiente de correlación para cada una de ellas. Donde el coeficiente de regresión lineal debe ser mayor o igual a 0.99 y un error relativo a la regresión no mayor al 3%.

Exactitud:

El promedio del porcentaje de recuperación de los datos de linealidad no debe variar con respecto a la cantidad nominal más de 3% en cada punto.

Precisión:

Para determinar la precisión de cada uno de los métodos utilizados se calculó el por ciento de recobro a partir de los datos de linealidad. El porcentaje de recuperación no debe ser mayor al 3%.

Análisis matemático:

Se evaluaron las siguientes técnicas :

- I. Técnica sin adición de estándar a la muestra.
- II. Técnica de adición constante de estándar.
- III. Técnica de adición creciente de estándar.

Para determinar el por ciento de recobro a partir de los resultados obtenidos se realizaron diferentes tratamientos matemáticos.^(18,19)

Método de cálculo 1:

Este método se aplicó a las técnicas I, II y III.

- a) Calcular la ordenada al origen de las curvas individuales del sistema.
- b) Calcular la ordenada al origen de las curvas individuales del método.
- c) Restar el valor de ordenada del sistema de la ordenada del método y determinar el valor corregido.
- d) A cada uno de los valores de absorbancia del método, restar el valor corregido.
- e) Interpolar los valores de absorbancia corregidos en la curva del sistema.
- f) Calcular al por ciento de recobro como lo indica la fórmula:

$$\%recobro = \left(\frac{c.recuperada}{c.real} \right) * 100$$

c.recuperada = concentración recuperada

c.real = concentración real

Método de cálculo 2:

Este método se aplicó a las técnicas I y III.

- a) Calcular la ordenada al origen de las curvas individuales del sistema.
- b) Calcular la ordenada al origen de las curvas del método.
- c) Restar el valor de la ordenada al origen del sistema a la ordenada del método.
- d) A cada uno de los valores de absorbancia del método restar el valor corregido de la ordenada.
- e) El por ciento de recobro se calcula con la siguiente ecuación:

$$\%recobro = \left(\frac{a.método}{a.sistema} \right) * 100$$

a.método = absorbancia obtenida a cierto valor de concentración en la curva del método

a.sistema = absorbancia obtenida del mismo nivel de concentración en la curva del sistema.

Método de cálculo 3:

Este método se aplicó a las técnicas I y III.

- a) Calcular la ordenada al origen de la curva promedio del sistema.
- b) Calcular la ordenada al origen de la curva promedio del método.
- c) Restar el valor de la ordenada al origen del sistema a la ordenada del método.
- d) A cada uno de los valores de absorbancia del método restar el valor corregido de la ordenada.
- e) Calcular el por ciento de recobro como lo indica el método 2.

Método de cálculo 4:

Este método se aplicó a la técnica III.

- a) Calcular la ordenada al origen de la curva promedio del sistema.
- b) Calcular la ordenada al origen de la curva promedio del método.
- c) Restar el valor de la ordenada al origen del sistema a la ordenada del método.
- d) A cada uno de los valores de absorbancia del método restar el valor corregido de la ordenada.
- e) Interpoliar los valores de absorbancia corregidos en la curva del sistema.
- f) Calcular el por ciento de recobro como lo indica el método 1.

Método de cálculo 5:

Este método se aplicó a la técnica III.

- a) Calcular la ordenada al origen de las curvas individuales del sistema.
- b) Calcular la ordenada al origen de las curvas individuales del método.
- c) Restar a cada uno de los valores de absorbancia del método la ordenada al origen del método.
- d) Interpoliar los valores de absorbancia en la curva del sistema.
- e) Calcular el por ciento de recobro como lo indica el método 1

Método de cálculo 6:

En el caso de la técnica II, se calcula el valor de por ciento de recobro interpolando a que es la ordenada al origen de la curva adicionada, en la curva del sistema y se obtiene x que es el valor de lo adicionado en cada punto de la curva. El por ciento de recuperación se calcula con la ecuación usada en el método 1, en donde la cantidad real es la que teóricamente se adicionó a la muestra. (figura 6).

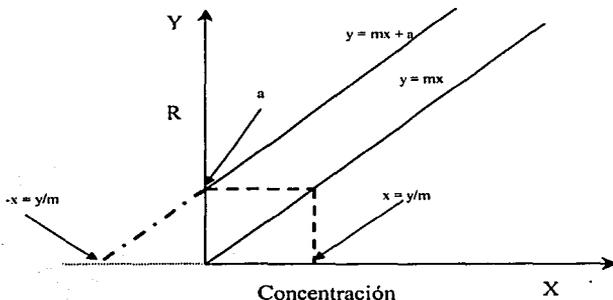


Figura 6 Gráfica para obtener la concentración de la muestra por el método de estándar adicionado.

RESULTADOS

Alopurinol

Linealidad del Sistema:

En la tabla XIII se presentan los resultados de la linealidad del sistema, donde también se incluye los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XIII linealidad del sistema para la cuantificación de Alopurinol

concentración	curva 1	curva2	curva 3	Promedio	DE	CV
4	0.233	0.230	0.224	0.229	0.005	2.000
8	0.454	0.455	0.452	0.454	0.002	0.337
10	0.566	0.570	0.571	0.569	0.003	0.465
20	1.126	1.139	1.129	1.131	0.007	0.602
30	1.688	1.699	1.663	1.683	0.018	1.096
40	2.214	2.232	2.205	2.217	0.014	0.620

Ordenada	0.01478302	0.01221698	0.01543396	0.01414465
Pendiente	0.05528841	0.05581873	0.05492318	0.05534344
Coeficiente	0.99993147	0.99992372	0.99992392	0.9999408

En la figura 7 se muestra la curva correspondiente a la linealidad del sistema.

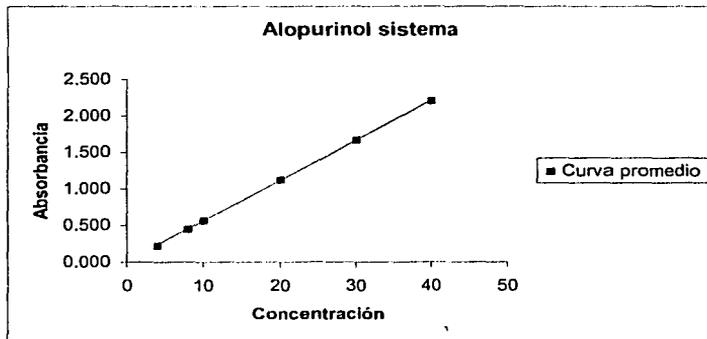


Figura 7. Linealidad del sistema para la cuantificación de Alopurinol

Precisión del sistema

Se demostró la precisión del sistema, tal como se muestra en la tabla XIV donde se observan los resultados del cálculo del factor para la precisión del sistema, se incluye el promedio, y la variación no es mayor al 2%.

TABLA XIV .Factor de respuesta de la precisión del sistema para la cuantificación de Alopurinol

Conc	curva1	curva 2	curva 3	promedio
4	0.058	0.058	0.056	0.057
8	0.057	0.057	0.057	0.057
10	0.057	0.057	0.057	0.057
20	0.056	0.057	0.056	0.057
30	0.056	0.057	0.055	0.056
40	0.055	0.056	0.055	0.055

Linealidad del método:

En la tabla XV se presentan los resultados de la linealidad del método sin adición de estándar, donde también se incluye los datos de la regresión lineal, promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XV. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Alopurinol empleando la técnica sin adición de estándar en HCl 0.1N

concentración	Curva1	Curva2	curva3	Promedio	DE	CV
4	0.222	0.226	0.222	0.223	0.002	1.034
8	0.446	0.450	0.443	0.446	0.004	0.787
10	0.557	0.561	0.553	0.557	0.004	0.718
20	1.131	1.132	1.107	1.123	0.014	1.260
30	1.688	1.688	1.651	1.676	0.021	1.275
40	2.232	2.232	2.173	2.212	0.034	1.540

ordenada	0.00445283	0.00516038	0.00629245	0.00530189
pendiente	0.05601146	0.05587534	0.0543504	0.0554124
coeficiente	0.9999576	0.9999648	0.99993784	0.99995502

En la figura 8 se muestra la curva de la linealidad del método sin adición de estándar y la curva de linealidad del sistema.

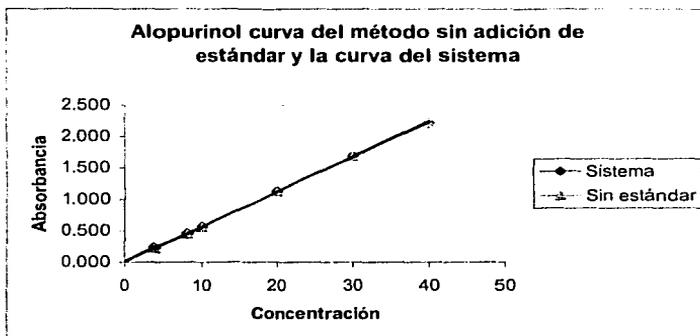


Figura 8. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Alopurinol empleando la técnica sin adición de estándar

La exactitud del método sin adición de estándar se muestra en la tabla XVI.

TABLA XVI. Exactitud del método analítico para la cuantificación de Alopurinol empleando la técnica sin adición de estándar

Conc	curva 1	curva 2	curva 3	promedio
4	3.057	1.310	3.057	2.475
8	1.690	0.808	2.351	1.616
10	2.109	1.406	2.812	2.109
20	0.029	-0.059	2.151	0.707
30	-0.277	-0.277	1.921	0.455
40	-0.677	-0.677	1.985	0.210

En la tabla XVII se muestran los datos de linealidad del método usando la técnica de adición constante de estándar. Que incluye los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que fue mayor a 0.99.

TABLA XVII. Linealidad del método analítico para la cuantificación de alopurinol empleando la técnica de adición constante en HCl 0.1N

concentración	curva1	Curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	0.798	0.793	0.801	0.797	0.004	0.507
8	1.025	1.011	1.024	1.020	0.008	0.766
10	1.129	1.125	1.139	1.131	0.007	0.638
20	1.681	1.681	1.704	1.689	0.013	0.786
30	2.205	2.189	2.227	2.207	0.019	0.864
40	2.659	2.650	2.655	2.655	0.005	0.170

Ordenada	0.61048113	0.60466981	0.61790566	0.61101887
Pendiente	0.0520903	0.05197305	0.05216577	0.05207637
Coefficiente	0.99934636	0.9993286	0.9987005	0.99915593

En la figura 9 se muestra la curva de la linealidad del método adicionando concentración constante de estándar y la curva de linealidad del sistema.

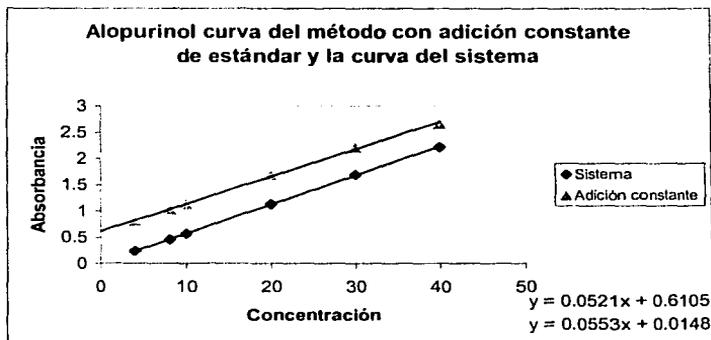


Figura 9. Linealidad del método para la cuantificación de alopurinol empleando la técnica de adición constante

En la tabla XVIII se muestran los datos de linealidad del método usando la técnica de adición creciente de estándar. Se incluye los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XVIII. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Alopurinol empleando la técnica de adición creciente en HCl 0.1N

Conc	curva1	Curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	0.786	0.793	0.800	0.793	0.007	0.883
8	1.014	1.014	1.02	1.016	0.003	0.341
10	1.113	1.116	1.115	1.115	0.002	0.137
20	1.704	1.700	1.702	1.702	0.002	0.118
30	2.270	2.279	2.272	2.274	0.005	0.208
40	2.737	2.734	2.737	2.736	0.002	0.063

ordenada	0.57762264	0.58143396	0.58632075	0.58179245
pendiente	0.0549845	0.05488747	0.05471496	0.05486231
coeficiente.	0.99924809	0.99913168	0.99928572	0.99922775

En la figura 10 se muestra la curva de la linealidad del método adicionando concentración creciente de estándar y la curva de linealidad del sistema.

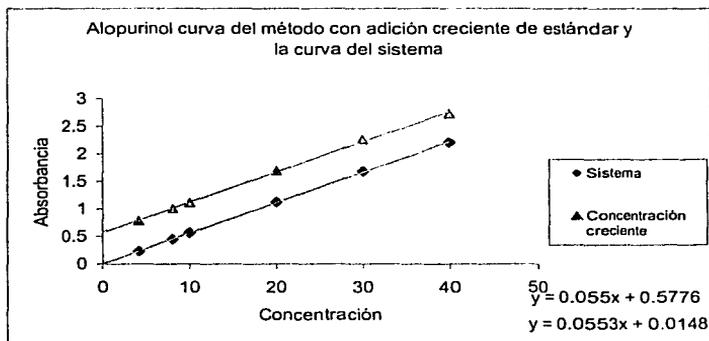


Figura 10. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Alopurinol empleando la técnica de adición creciente

En la tabla XIX se muestran los resultados para la exactitud del método con la técnica de adición creciente de estándar.

TABLA XIX. Exactitud del método analítico para la cuantificación de Alopurinol empleando la técnica de adición creciente en HCl 0.1N

Conc.	curva 1	curva 2	curva 3	promedio
4	2.550	2.278	-0.049	1.593
8	0.552	1.958	1.004	1.171
10	3.311	3.905	4.374	3.863
20	-0.869	0.049	0.019	-0.267
30	-1.415	-1.571	-1.056	-1.348
40	1.932	2.355	2.295	2.194

Naproxeno sódico

Linealidad sistema:

En la tabla XX se presentan los resultados de la linealidad del sistema para la cuantificación de Naproxeno Sódico, donde también se incluye los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XX linealidad del sistema para la cuantificación de Naproxeno sódico

concentración	Curva 1	curva2	curva 3	promedio	DE	CV
6	0.036	0.036	0.036	0.036	0.000	0.000
20	0.122	0.121	0.122	0.122	0.001	0.475
40	0.245	0.244	0.244	0.244	0.001	0.236
50	0.307	0.305	0.307	0.306	0.001	0.377
60	0.366	0.365	0.366	0.366	0.001	0.158

ordenada	-0.00046167	-0.00066364	-0.00057461	-0.00056664
pendiente	0.00612675	0.00610408	0.00612428	0.00611837
coeficiente	0.99998065	0.99999325	0.9999806	0.99998772

En la figura 11 se muestra la curva de la linealidad del sistema para naproxeno sódico.

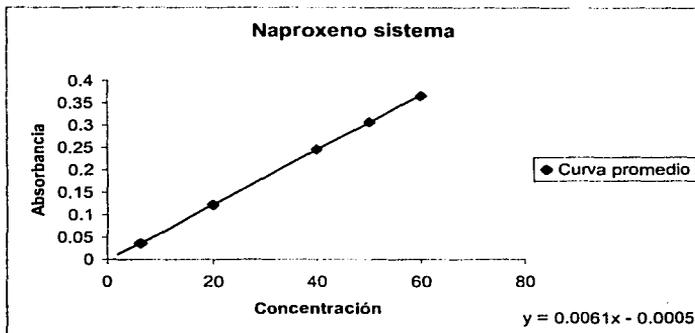


Figura 11. Linealidad del sistema para la cuantificación de Naproxeno Sódico

Precisión del sistema:

Se demostró la precisión del sistema, en la tabla XXI se muestran los resultados del cálculo del factor para la precisión del sistema se incluye el promedio; y la variación no es mayor al 2%.

TABLA XXI. Factor de respuesta de la precisión del sistema para la cuantificación de Naproxeno sódico en solución reguladora de fosfatos pH 7.4

Conc	curva1	curva 2	curva 3	Promedio
6	0.006000	0.006000	0.006000	0.006000
20	0.006100	0.006050	0.006100	0.006083
40	0.006125	0.006100	0.006100	0.006108
50	0.006140	0.006100	0.006140	0.006127
60	0.006100	0.006083	0.006100	0.006094

Linealidad del método:

En la tabla XXII se presentan los resultados de la linealidad del método sin adición de estándar, donde también se incluye los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XXII Linealidad del método analítico para la cuantificación de Naproxeno sódico empleando la técnica sin adición de estándar en solución reguladora de fosfatos pH 7.4

Conc	curva1	curva2	Curva3	promedio	DE	CV
6	0.036	0.034	0.034	0.035	0.001	3.331
20	0.119	0.117	0.116	0.117	0.002	1.302
40	0.237	0.233	0.232	0.234	0.003	1.131
50	0.297	0.291	0.290	0.293	0.004	1.294
60	0.356	0.351	0.350	0.352	0.003	0.912

Ordenada	0.00038994	-0.00081286	-0.00108326	-0.00050206
Pendiente	0.00592642	0.00585264	0.00583759	0.00587222
coeficiente	0.99999785	0.99998605	0.99998783	0.99999436

En la figura 12 se muestra la curva de la linealidad del método sin adición de estándar y la curva de linealidad del sistema.

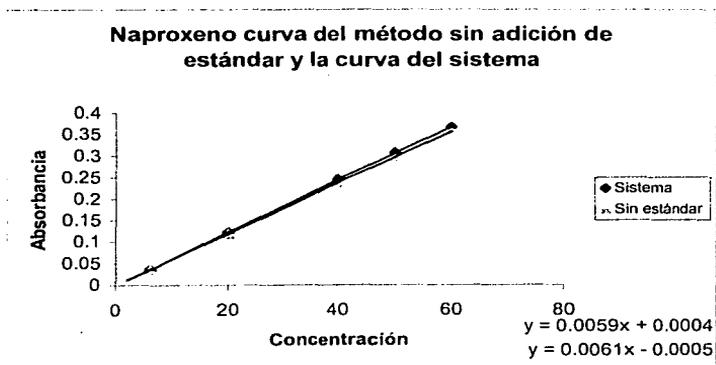


Figura 12. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Naproxeno sódico empleando la técnica sin adición de estándar en solución reguladora de fosfatos pH 7.4

La tabla XXIII muestra los resultados de exactitud para esta técnica.

TABLA XXIII. Exactitud del método analítico para la cuantificación de Naproxeno sódico empleando la técnica sin adición de estándar en solución reguladora de fosfatos pH 7.4

Conc.	curva 1	curva 2	curva 3	promedio
6	0.000	5.556	5.556	3.704
20	2.192	3.836	4.658	3.562
40	3.001	4.638	5.048	4.229
50	3.047	5.005	5.332	4.461
60	2.644	4.011	4.284	3.646

En la tabla XXIV se muestran los datos de linealidad del método usando la técnica de adición constante de estándar. Se incluye los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XXIV. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Naproxeno sódico empleando la técnica de adición constante en solución reguladora de fosfatos pH 7.4

Conc	curva1	curva2	Curva3	Promedio	DE	CV
6	0.098	0.099	0.096	0.098	0.002	1.564
20	0.183	0.185	0.180	0.183	0.003	1.378
40	0.304	0.307	0.300	0.304	0.004	1.156
50	0.362	0.365	0.363	0.363	0.002	0.420
60	0.421	0.425	0.422	0.423	0.002	0.493

Ordenada	0.06295136	0.06376669	0.05929514	0.0620044
Pendiente	0.00598434	0.00603504	0.00604843	0.0060226
coeficiente	0.99996602	0.99996027	0.99997573	0.99999031

En la figura 13 se muestra la curva de la linealidad del método adicionando concentración constante de estándar y la curva de linealidad del sistema.

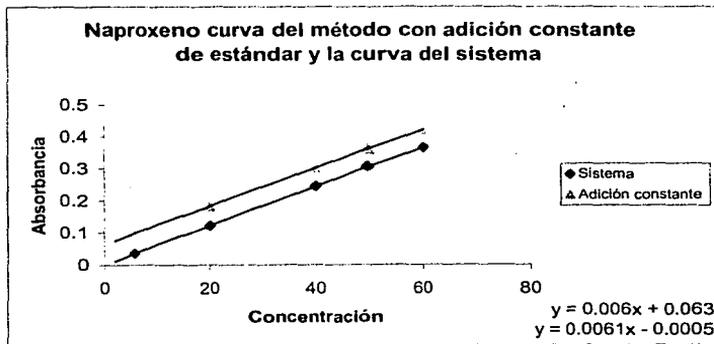


Figura 13. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Naproxeno sódico empleando la técnica de adición constante en solución reguladora de fosfatos pH 7.4

En la tabla XXV se muestran los datos de linealidad del método usando la técnica de adición creciente de estándar. Se incluye los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XXV. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Naproxeno sódico empleando la técnica de adición creciente en solución reguladora de fosfatos pH 7.4

conc	curva1	curva2	Curva3	promedio	DE	CV
6	0.102	0.104	0.105	0.104	0.002	1.473
20	0.196	0.194	0.191	0.194	0.003	1.299
40	0.329	0.332	0.331	0.331	0.002	0.462
50	0.392	0.393	0.392	0.392	0.001	0.147
60	0.456	0.457	0.455	0.456	0.001	0.219

ordenada	0.06408162	0.06461006	0.06436768	0.06435312
pendiente	0.00656018	0.00657358	0.00654637	0.00656004
coeficiente.	0.99992954	0.99983136	0.99971261	0.99986418

En la figura 14 se muestra la curva de la linealidad del método adicionando concentración creciente de estándar y la curva de linealidad del sistema.

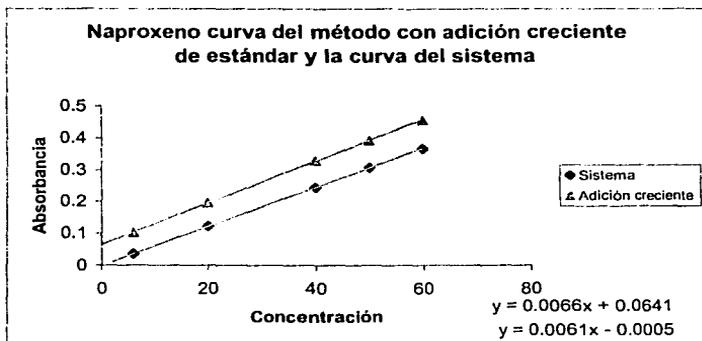


Figura 14. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Naproxeno sódico empleando la técnica de adición creciente en solución reguladora de fosfatos pH 7.4

La tabla XXVI muestra la exactitud del método con la técnica de adición creciente de estándar.

TABLA XXVI. Exactitud del método analítico para la cuantificación de Naproxeno sódico empleando la técnica de adición creciente en solución reguladora de fosfatos pH 7.4

Conc.	curva 1	curva 2	curva 3	promedio
6	-4.046	-7.573	-11.271	-7.630
20	-8.047	-5.802	-3.609	-5.819
40	-8.236	-9.165	-8.891	-8.764
50	-6.896	-6.984	-6.765	-6.881
60	-7.053	-7.127	-6.670	-6.950

Ketorolaco trometamina

Linealidad del sistema:

En la tabla XXVII se presentan los resultados de la linealidad del sistema, donde también se incluye los datos de la regresión lineal, promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XXVII. Linealidad del sistema para la cuantificación de Ketorolaco trometamina

concentración	curva 1	curva2	curva 3	promedio	DE	CV
4	0.216	0.216	0.218	0.217	0.0012	0.5329
6	0.322	0.319	0.322	0.321	0.0017	0.5396
10	0.544	0.54	0.543	0.542	0.0021	0.3838
20	1.065	1.066	1.067	1.066	0.0010	0.0938
40	1.889	1.891	1.892	1.891	0.0015	0.0808

ordenada	0.06371376	0.06096881	0.06377615	0.06281957
pendiente	0.04646789	0.04658945	0.04653899	0.04653211
coeficiente	0.9978602	0.99786546	0.99788566	0.99787109

En la figura 15 se muestra la curva de la linealidad del sistema.

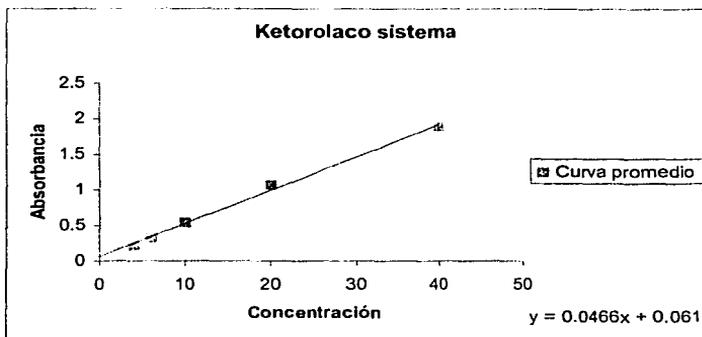


Figura 15. Linealidad del sistema para la cuantificación de Ketorolaco trometamina

Precisión del sistema:

Se demostró la precisión del sistema, en la tabla XXVIII se muestran los resultados del calculo del factor para la precisión se incluye el promedio y la variación no es mayor al 2%.

TABLA XXVIII Factor de respuesta de la precisión del sistema para la cuantificación de Ketorolaco trometamina

Conc.	curva1	curva 2	curva 3	promedio
4	0.054	0.054	0.055	0.054
6	0.054	0.053	0.054	0.054
10	0.054	0.054	0.054	0.054
20	0.053	0.053	0.053	0.053
40	0.047	0.047	0.047	0.047

Linealidad del método

En la tabla XXIX se presentan los resultados de la linealidad del método sin adición de estándar, donde también se incluye los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XXIX. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Ketorolaco trometamina empleando la técnica sin adición de estándar en agua.

Conc.	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	0.193	0.192	0.193	0.193	0.0006	0.2997
6	0.289	0.29	0.287	0.289	0.0015	0.5292
10	0.478	0.481	0.479	0.479	0.0015	0.3187
20	0.952	0.951	0.952	0.952	0.0006	0.0607
40	1.856	1.851	1.854	1.854	0.0025	0.1358

ordenada	0.01455413	0.01652294	0.01457798	0.01521835
pendiente	0.04619037	0.04602982	0.04615138	0.04612385
coeficiente	0.99992648	0.99990875	0.9999144	0.99991745

En la figura 16 se muestra la curva correspondiente a la linealidad del método sin adición de estándar y la curva de linealidad del sistema.

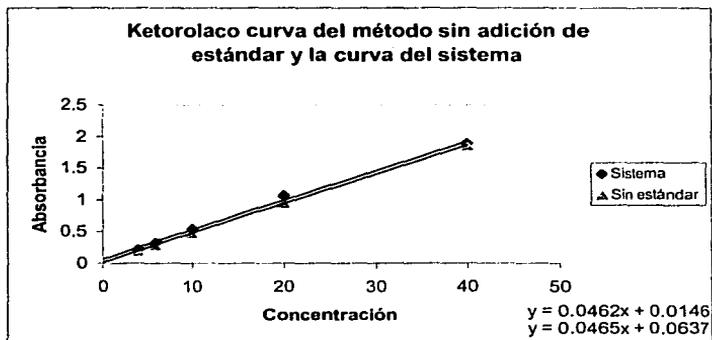


Figura 16. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Ketorolaco trometamina empleando la técnica sin adición de estándar en agua.

La tabla XXX muestra los resultados de la exactitud del método para la técnica.

TABLA XXX. Exactitud del método analítico para la cuantificación de Ketorolaco trometamina empleando la técnica sin adición de estándar en agua.

Conc.	curva 1	curva 2	curva 3	promedio
4	10.923	11.385	10.923	11.077
6	9.969	9.657	10.592	10.073
10	11.862	11.309	11.678	11.616
20	10.694	10.788	10.694	10.725
40	1.834	2.098	1.939	1.957

En la tabla XXXI están los datos de linealidad del método usando la técnica de adición constante de estándar. Se incluye los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XXXI Linealidad del método analítico para la cuantificación de Ketorolaco trometamina empleando la técnica de adición constante de estándar en agua.

Conc.	curva1	curva2	Curva3	promedio	DE	CV
4	0.744	0.746	0.743	0.744	0.0015	0.2053
6	0.843	0.847	0.845	0.845	0.0020	0.2367
10	1.045	1.046	1.045	1.045	0.0006	0.0552
20	1.528	1.53	1.531	1.530	0.0015	0.0998
40	2.422	2.428	2.425	2.425	0.0030	0.1237

ordenada	0.57122569	0.5727211	0.57123119	0.57152477
pendiente	0.04657339	0.04666743	0.04666055	0.0466422
coeficiente	0.99971079	0.99974767	0.99969034	0.99971147

En la figura 17 se muestra la curva correspondiente a la linealidad del método adicionando concentración constante de estándar y la curva de linealidad del sistema.

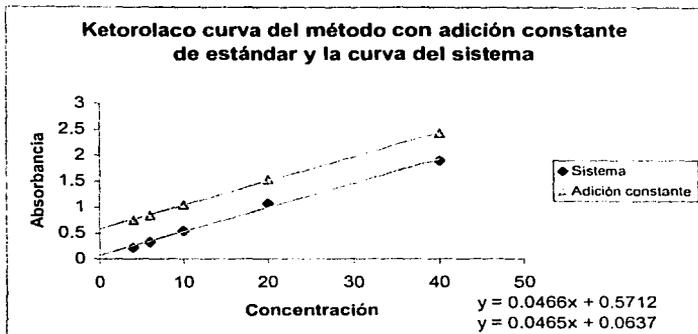


Figura 17. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Ketorolaco trometamina empleando la técnica de adición constante de estándar en agua.

En la tabla XXXII se muestran los datos de linealidad del método usando la técnica de adición creciente de estándar. Incluyen los datos de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y el coeficiente de correlación que es mayor a 0.99.

TABLA XXXII. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Ketorolaco trometamina empleando la técnica de adición creciente en agua.

Conc.	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	0.719	0.717	0.717	0.718	0.0012	0.1608
6	0.827	0.827	0.829	0.828	0.0012	0.1395
10	1.044	1.041	1.040	1.042	0.0021	0.1998
20	1.571	1.571	1.574	1.572	0.0017	0.1102
40	2.436	2.44	2.438	2.438	0.0020	0.0820

ordenada	0.55635413	0.55362202	0.55493945	0.55534312
pendiente	0.04769037	0.04784862	0.04779128	0.04776606
coeficiente.	0.99858373	0.99863516	0.9985283	0.99858874

En la figura 18 se muestra la curva de la linealidad del método adicionando concentración creciente de estándar y la curva de linealidad del sistema.

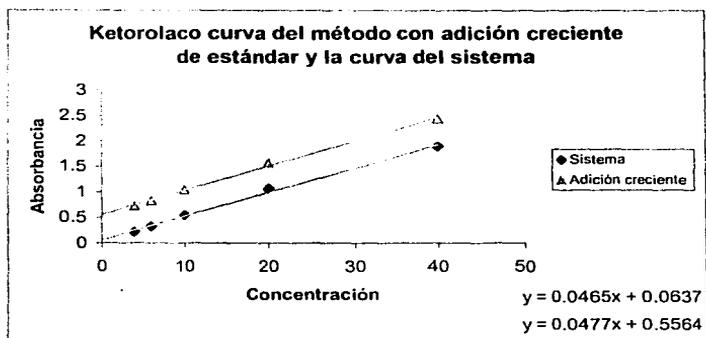


Figura 18. Linealidad del método analítico para la cuantificación de Ketorolaco trometamina empleando la técnica de adición creciente en agua.

La tabla XXXIII muestra los resultados de la exactitud del método con esta técnica.

TABLA XXXIII. Exactitud del método analítico para la cuantificación de Ketorolaco trometamina empleando la técnica de adición creciente en agua.

Cqnc.	curva 1	curva 2	curva 3	promedio
4	-4.474	-3.545	-4.232	-4.084
6	-4.162	-4.158	-5.245	-4.522
10	-1.664	-1.109	-1.199	-1.324
20	-1.159	-1.158	-1.579	-1.299
40	-2.787	-2.998	-2.971	-2.919

Las tablas que a continuación se muestran son los resultados del por ciento de recobro calculado con los diferentes métodos para cada una de las técnicas.

ALOPURINOL

En las tablas XXXIV, XXXV y XXXVI se presentan los valores del por ciento de recobro de Alopurinol al emplear la técnica sin adición de estándar.

Método 1

TABLA XXXIV

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	93.698	95.749	94.025	94.491	1.102	1.166
8	97.493	98.037	97.310	97.613	0.378	0.387
10	98.071	98.315	97.876	98.087	0.220	0.224
20	100.945	100.305	99.372	100.207	0.791	0.789
30	100.878	100.073	99.264	100.072	0.807	0.807
40	100.257	99.419	98.208	99.295	1.030	1.037

Método 2

TABLA XXXV

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	95.279	98.261	99.107	97.549	2.011	2.061
8	98.238	98.901	98.009	98.383	0.463	0.471
10	98.410	98.421	96.848	97.893	0.905	0.925
20	100.444	99.385	98.051	99.294	1.199	1.208
30	100.000	99.353	99.278	99.544	0.397	0.399
40	100.813	100.000	98.549	99.787	1.147	1.149

Método 3

TABLA XXXVI

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	96.943	98.690	96.943	97.525	1.008	1.034
8	98.310	99.192	97.649	98.384	0.774	0.787
10	97.891	98.594	97.188	97.891	0.703	0.718
20	99.971	100.059	97.849	99.293	1.251	1.260
30	100.277	100.277	98.079	99.545	1.269	1.275
40	100.677	100.677	98.015	99.790	1.536	1.540

En las tablas XXXVII, XXXVIII, XXXIX, XL y XLI se presentan los valores del porcentaje de recobro de Alopurinol al emplear la técnica de adición creciente de estándar

Método 1

TABLA XXXVII

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	94.223	94.756	97.263	95.414	1.623	1.701
8	98.659	96.868	98.701	98.076	1.046	1.067
10	96.834	95.768	96.258	96.287	0.533	0.554
20	101.864	100.196	101.567	101.209	0.890	0.879
30	102.033	101.374	102.305	101.904	0.479	0.470
40	97.642	96.409	97.895	97.315	0.795	0.817

Método 2

TABLA XXXVIII

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	95.777	97.297	102.283	98.452	3.403	3.457
8	99.375	97.755	99.361	98.830	0.932	0.943
10	97.201	95.927	95.291	96.140	0.973	1.012
20	101.346	99.279	100.187	100.271	1.036	1.034
30	101.135	100.635	102.292	101.354	0.850	0.839
40	98.201	96.988	98.236	97.808	0.710	0.726

Método 3

TABLA XXXIX

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	97.450	97.722	100.049	98.407	1.429	1.452
8	99.448	98.042	98.996	98.829	0.718	0.726
10	96.689	96.095	95.626	96.137	0.533	0.554
20	100.869	99.951	99.981	100.267	0.521	0.520
30	101.415	101.571	101.056	101.348	0.264	0.261
40	98.068	97.645	97.705	97.806	0.229	0.234

Método 4

TABLA XL

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	92.049	95.459	98.737	95.415	3.344	3.505
8	97.572	97.220	99.438	98.077	1.192	1.216
10	95.964	96.049	96.848	96.287	0.487	0.506
20	101.429	100.337	101.862	101.209	0.786	0.777
30	101.743	101.467	102.502	101.904	0.536	0.526
40	97.424	96.479	98.042	97.315	0.787	0.809

Método 5

TABLA XLI

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	87.538	101.994	101.068	96.867	8.092	8.354
8	95.317	98.757	101.122	98.399	2.919	2.966
10	94.160	99.384	99.859	97.801	3.162	3.233
20	100.527	98.583	101.070	100.060	1.308	1.307
30	101.142	99.508	100.720	100.457	0.848	0.844
40	96.973	98.854	101.388	99.072	2.216	2.236

En la tabla XLII se observa el porcentaje de recuperación para la técnica de adición de concentración constante de estándar.

TABLA XLII Valores evaluados del por ciento de recobro correspondiente a Alopurinol

Por ciento de recuperación para Alopurinol						
curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV	
107.74376	106.138709	109.693519	107.858663	1.78018836	1.65048251	

NAPROXENO SÓDICO

En las tablas XLIII, XLIV y XLV se presentan los valores del por ciento de recobro de Naproxeno sódico al emplear la técnica sin adición de estándar

Método 1

TABLA XLIII

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	99.187	94.646	94.092	95.975	2.796	2.913
20	97.492	96.381	95.174	96.349	1.159	1.203
40	96.895	95.700	94.940	95.845	0.986	1.029
50	97.103	95.563	94.893	95.853	1.133	1.182
60	96.969	96.019	95.406	96.131	0.788	0.819

Método 2

TABLA XLIV

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	100.000	94.444	94.444	96.296	3.208	3.331
20	97.541	96.694	95.082	96.439	1.249	1.295
40	96.735	95.492	95.082	95.769	0.861	0.899
50	96.743	95.410	94.463	95.538	1.145	1.199
60	97.268	96.164	95.628	96.354	0.836	0.868

Método 3

TABLA XLV

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	100.000	94.444	94.444	96.296	3.208	3.331
20	97.808	96.164	95.342	96.438	1.256	1.302
40	96.999	95.362	94.952	95.771	1.083	1.131
50	96.953	94.995	94.668	95.539	1.236	1.294
60	97.356	95.989	95.716	96.354	0.879	0.912

En las tablas XLVI, XLVII, XLVIII, XLIX y L se presentan los valores del por ciento de recobro de Naproxeno sódico al emplear la técnica de adición creciente de estándar.

Método 1

TABLA XLVI

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	103.150	107.551	110.577	107.093	3.735	3.487
20	107.658	105.986	103.385	105.677	2.153	2.037
40	108.099	109.513	108.842	108.818	0.707	0.650
50	107.045	107.597	106.995	107.212	0.334	0.312
60	106.614	107.139	106.307	106.687	0.421	0.394

Método 2

TABLA XLVII

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	104.046	107.573	111.271	107.630	3.613	3.357
20	107.751	106.385	103.326	105.821	2.266	2.141
40	107.942	109.314	109.040	108.765	0.726	0.668
50	106.663	107.451	106.533	106.883	0.497	0.465
60	106.955	107.322	106.573	106.950	0.375	0.350

Método 3

TABLA XLVIII

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	104.046	107.573	111.271	107.630	3.613	3.357
20	108.047	105.802	103.609	105.819	2.219	2.097
40	108.236	109.165	108.891	108.764	0.477	0.439
50	106.896	106.984	106.765	106.881	0.110	0.103
60	107.053	107.127	106.670	106.950	0.245	0.229

Método 4

TABLA XLIX

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	108.515	114.930	117.030	113.492	4.436	3.909
20	109.267	108.200	105.321	107.596	2.041	1.897
40	108.904	110.620	109.810	109.778	0.858	0.782
50	107.689	108.482	107.769	107.980	0.437	0.405
60	107.150	107.877	106.952	107.326	0.487	0.453

Método 5

TABLA L

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	104.406	109.363	112.141	108.636	3.918	3.607
20	108.034	106.530	103.855	106.140	2.117	1.995
40	108.287	109.785	109.077	109.050	0.749	0.687
50	107.195	107.814	107.182	107.397	0.361	0.336
60	106.740	107.320	106.463	106.841	0.437	0.409

En la tabla LI se muestran los valores de por ciento de recobro al emplear la técnica de adición constante de estándar

TABLA LI. Valores evaluados del por ciento de recobro correspondiente a Naproxeno sódico

Por ciento de recobro para Naproxeno sódico						
curva1	curva2	curva3	Promedio	DE	CV	
103.501867	105.552892	97.7580347	102.270931	4.04058809	3.95086663	

KETOROLACO TROMETAMINA

En las tablas LII, LIII y LIV se presentan los valores del por ciento de recobro de Ketorolaco trometamina al emplear la técnica sin adición de estándar

Método 1

TABLA LII

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	69.557	70.312	69.417	69.762	0.481	0.690
6	80.804	81.932	79.942	80.892	0.998	1.234
10	89.155	90.156	89.221	89.511	0.560	0.625
20	95.581	95.519	95.428	95.509	0.077	0.080
40	96.426	96.053	96.168	96.216	0.191	0.198

Método 2

TABLA LIII

Conc	Curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	89.352	88.889	88.532	88.924	0.411	0.462
6	89.752	90.909	89.130	89.930	0.903	1.004
10	87.868	89.074	88.214	88.385	0.621	0.703
20	89.390	89.212	89.222	89.275	0.100	0.112
40	98.253	97.885	97.992	98.043	0.189	0.193

Método 3

TABLA LIV

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	89.077	88.615	89.077	88.923	0.266	0.300
6	90.031	90.343	89.408	89.927	0.476	0.529
10	88.138	88.691	88.322	88.384	0.282	0.319
20	89.306	89.212	89.306	89.275	0.054	0.061
40	98.166	97.902	98.061	98.043	0.133	0.136

En las tablas LV, LVI, LVII, LVIII y LIX se presentan los valores del por ciento de recobro de Ketorolaco trometamina al emplear la técnica de adición creciente de estándar

Método 1

TABLA LV

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	87.504	87.669	87.056	87.410	0.317	0.363
6	97.073	97.797	98.147	97.672	0.548	0.561
10	104.943	104.611	104.227	104.593	0.358	0.343
20	109.177	109.185	109.485	109.282	0.175	0.160
40	101.126	101.223	101.155	101.168	0.050	0.049

Método 2

TABLA LVI

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	104.796	103.864	103.595	104.085	0.630	0.606
6	103.838	104.811	104.918	104.523	0.595	0.569
10	101.353	101.546	101.075	101.324	0.237	0.234
20	101.254	101.158	101.484	101.299	0.167	0.165
40	102.878	102.980	102.898	102.919	0.054	0.052

Método 3

TABLA LVII

Conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	104.474	103.545	104.232	104.084	0.482	0.463
6	104.162	104.158	105.245	104.522	0.627	0.599
10	101.664	101.109	101.199	101.324	0.298	0.294
20	101.159	101.158	101.579	101.299	0.243	0.240
40	102.787	102.998	102.971	102.919	0.115	0.112

Método 4

TABLA LVIII

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	87.567	87.739	86.326	87.210	0.771	0.884
6	97.115	97.843	97.660	97.539	0.379	0.389
10	104.968	104.639	103.934	104.514	0.528	0.505
20	109.190	109.199	109.338	109.242	0.083	0.076
40	101.132	101.230	101.082	101.148	0.076	0.075

Método 5

TABLA LIX

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	53.226	54.953	52.797	53.659	1.141	2.127
6	74.220	75.986	75.308	75.171	0.891	1.185
10	91.231	91.525	90.523	91.093	0.515	0.565
20	102.321	102.642	102.633	102.532	0.183	0.178
40	97.698	97.952	97.729	97.793	0.138	0.142

En la tabla LX se muestran los valores de por ciento de recobro al emplear la técnica de adición constante de estándar

TABLA LX .Valores evaluados del por ciento de recobro correspondiente a Ketorolaco trometamina

Por ciento de recuperación para Ketorolaco trometamina					
curva1	Curva2	curva3	promedio	DE	CV
109.217769	109.842958	109.038687	109.366471	0.42225239	0.38608943

ANÁLISIS DE RESULTADOS

ALOPURINOL

A partir de los resultados de la linealidad del sistema de Alopurinol se obtuvo la ecuación

$$Y = 0.0553X + 0.014$$

en la cual el valor de la ordenada al origen es muy cercano a cero.

En la validación del método usando la técnica sin adicionar estándar se obtuvo la siguiente ecuación :

$$Y = 0.0554X + 0.005$$

Comparando esta pendiente con la del sistema se aprecia que son muy similares y el valor de la ordenada al origen es cercano a cero, las dos curvas son superponibles y no se detecta ninguna interferencia de los excipientes. (figura 8)

Usando la técnica de adición constante de estándar se obtiene:

$$Y = 0.052X + 0.611$$

y con adición creciente de estándar:

$$Y = 0.054X + 0.582$$

Se puede observar que las pendientes son similares a las obtenidas al evaluar el sistema.

Con los resultados anteriores no se aprecia la diferencia entre las técnicas de adición creciente y constante de estándar; tampoco su utilidad con respecto a la técnica sin adición de estándar.

NAPROXENO SODICO

Para el caso de naproxeno sódico la ecuación obtenida del sistema fue:

$$Y = 0.0061X - 0.0005$$

Mientras que la ecuación de la técnica sin adición de estándar fue la siguiente:

$$Y = 0.0058X - 0.0005$$

A pesar de que las ordenadas al origen son muy similares, en la figura 12 se puede apreciar que las curvas no son superponibles posiblemente debido a la interferencia de algún excipiente en la determinación.

La ecuación obtenida al emplear la técnica de adición constante de estándar fue la siguiente:

$$Y = 0.0060X + 0.062$$

Mientras que al emplear la técnica de adición creciente de estándar se obtuvo la siguiente ecuación:

$$Y = 0.0065X + 0.064$$

Los resultados muestran que las pendientes de ambas ecuaciones fueron muy similares y las curvas son paralelas. las diferencias entre estas dos ecuaciones fueron mínimas y con estos resultados no es posible determinar cuál de las dos técnicas es más conveniente. Sin embargo, se puede apreciar la utilidad de la técnica de estándar adicionado la cual elimina el sesgo que se presenta cuando no se adiciona estándar. (figuras 13 y 14)

KETOROLACO TROMETAMINA

La ecuación obtenida al evaluar la linealidad del sistema para ketorolaco trometamina fue:

$$Y = 0.0465X + 0.0628$$

Al emplear la técnica de sin adición de estándar se obtuvo la siguiente ecuación:

$$Y = 0.0461X + 0.0152$$

En este caso se encontró que las pendientes son muy similares sin embargo en la figura 16 se observa que las curvas no son superponibles y aunque su coeficiente de correlación es mayor a 0.99 se puede apreciar un sesgo en la curva.

En el caso de adición constante de estándar:

$$Y = 0.0466X + 0.5715$$

Mientras que al emplear la técnica de adición creciente de estándar se obtuvo:

$$Y = 0.0477X + 0.555$$

En las figuras 13 y 14 se observan curvas paralelas con respecto al sistema y el coeficiente de correlación aumenta de 0.997 a 0.999 usando la técnica de adición de estándar; sin embargo no se aprecia diferencia entre las curvas de adición de estándar para poder decidir cual ofrece más ventajas.

Con los resultados obtenidos no es posible establecer cual de las metodologías ofrece más ventajas.

Para comprobar si la técnica de adición de estándar es capaz de detectar sesgos en el método analítico se realizaron graficas de cantidad adicionada contra cantidad recuperada.

ALOPURINOL

En la tabla LXI se presentan los resultados de la cantidad recuperada para alopurinol con la técnica sin adición de estándar.

TABLA LXI Sin estándar

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	3.748	3.830	3.761	3.780	0.044	1.166
8	7.799	7.843	7.785	7.809	0.030	0.387
10	9.807	9.832	9.788	9.809	0.022	0.224
20	20.189	20.061	19.874	20.041	0.158	0.789
30	30.263	30.022	29.779	30.021	0.242	0.807
40	40.103	39.768	39.283	39.718	0.412	1.037

Ordenada	-0.25919	-0.12642	-0.09361	-0.15974
Pendiente	1.01308	1.00101	0.98957	1.00122
coeficiente	0.99996	0.99996	0.99994	0.99995

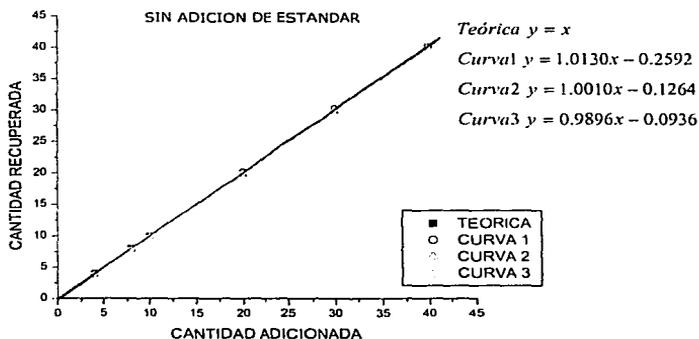


Figura 19. cantidad recuperada.

La figura 19 representa la cantidad recuperada en las tres curvas y se incluye la curva del sistema. En esta gráfica se observa que las 4 curvas son superponibles y no se detecta sesgo en el método. Las pendientes son cercanas a uno y el intercepto a cero.

La tabla LXII muestra los resultados de la cantidad recuperada usando la técnica de adición creciente de estándar.

TABLA LXII Adición creciente

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	3.502	3.571	3.610	3.561	0.055	1.538
8	7.625	7.531	7.615	7.590	0.052	0.685
10	9.416	9.358	9.345	9.373	0.038	0.404
20	20.105	19.820	20.032	19.986	0.148	0.741
30	30.343	30.193	30.411	30.315	0.111	0.367
40	38.789	38.345	38.877	38.670	0.285	0.738

ordenada	-0.2674	-0.2189	-0.2810	-0.2558
pendiente	0.9945	0.9833	0.9962	0.9913
coeficiente	0.9992	0.9991	0.9993	0.9992

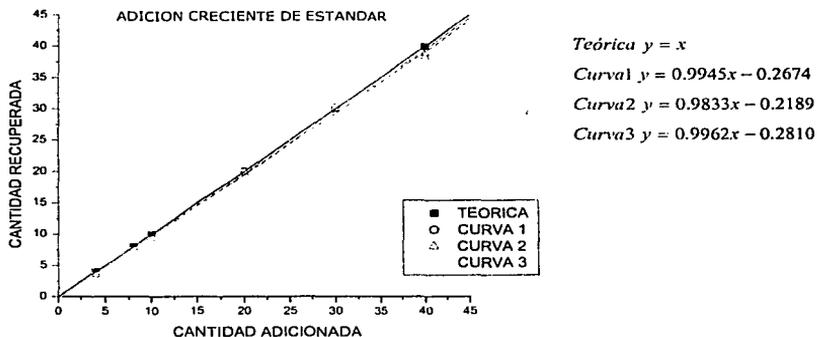


Figura 20. cantidad recuperada

La figura 20 muestra la gráfica de cantidad recuperada para la técnica de adición creciente de estándar y se comparan con la curva del sistema. En este caso las 4 curvas son superponibles y no se detecta sesgo en el método analítico.

En el caso de alopurinol las técnicas de sin adición de estándar y adición creciente de estándar no detectan ninguna desviación en el método analítico.

NAPROXENO SODICO

En la tabla LXIII se presentan los resultados de la cantidad recuperada para naproxeno sódico con la técnica sin adición de estándar.

TABLA LXIII Sin estándar

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	5.951	5.679	5.645	5.758	0.168	2.913
20	19.498	19.276	19.035	19.27	0.232	1.203
40	38.758	38.28	37.976	38.338	0.394	1.029
50	48.551	47.782	47.446	47.926	0.567	1.182
60	58.181	57.611	57.243	57.679	0.473	0.819

ordenada	0.13871	-0.02433	-0.08319	0.01017
pendiente	0.96730	0.95880	0.95319	0.95977
coeficiente	1.00000	0.99999	0.99999	0.99999

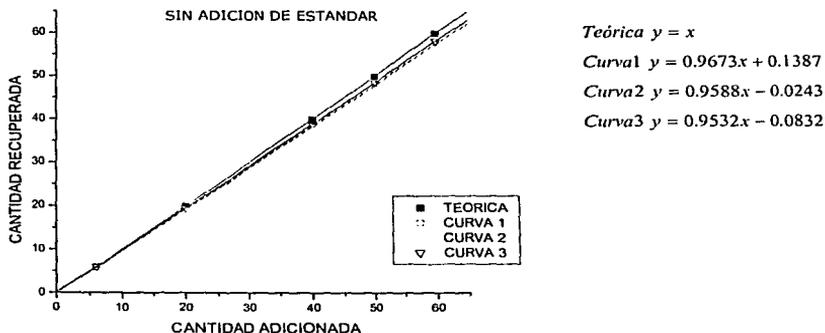


Figura 21. cantidad recuperada.

En la figura 21 se aprecia sesgo a mayores concentraciones; las pendientes son menores de uno y las ordenadas cercanas a cero, por lo tanto es un error proporcional.

En la tabla LXIV se presentan los resultados de la cantidad recuperada para naproxeno sódico con la técnica de adición creciente de estándar.

TABLA LXIV Adición creciente

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
6	6.264	6.562	6.728	6.518	0.235	3.607
20	21.607	21.306	20.771	21.228	0.423	1.995
40	43.315	43.914	43.631	43.620	0.300	0.687
50	53.598	53.907	53.591	53.699	0.181	0.336
60	64.044	64.392	63.878	64.105	0.262	0.409

ordenada	0.0754	0.1087	0.0938	0.0926
pendiente	1.0707	1.0769	1.0689	1.0722
correlación	0.9999	0.9998	0.9997	0.9999

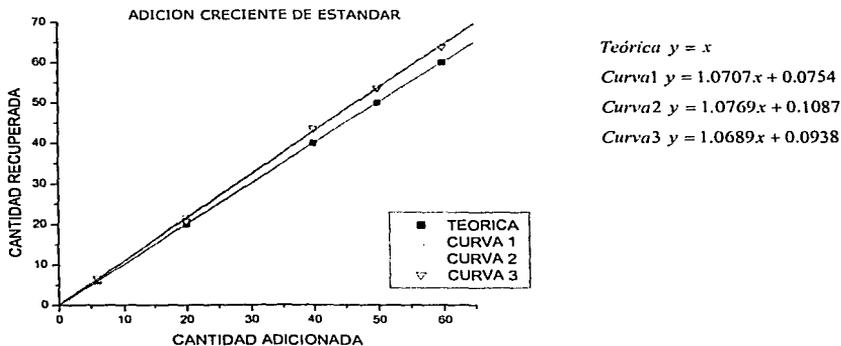


Figura 22. cantidad recuperada

En la figura 22 se observa un sesgo positivo con respecto a la curva del sistema, las pendientes son mayores a uno y las ordenadas al origen cercanas a cero; por lo que se detecta un error proporcional en el método analítico.

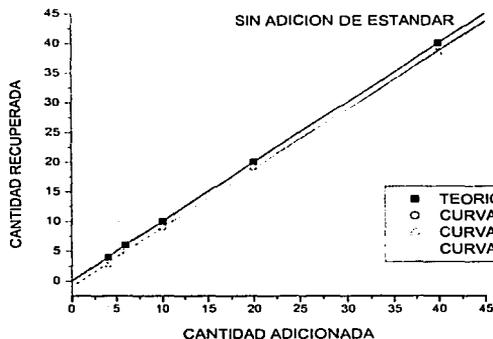
Para el caso del naproxeno sódico se puede apreciar el error proporcional al usar la técnica sin adición de estándar y con adición creciente de estándar.

KETOROLACO TROMETAMINA

En la tabla LXV se presentan los resultados de la cantidad recuperada para ketorolaco trometamina con la técnica sin adición de estándar.

TABLA LXV Sin adición de estándar

conc	curva1	curva2	curva3	promedio	DE	CV
4	2.782	2.812	2.777	2.790	0.019	0.690
6	4.848	4.916	4.796	4.854	0.060	1.234
10	8.916	9.016	8.922	8.951	0.056	0.625
20	19.116	19.104	19.086	19.102	0.015	0.080
40	38.570	38.421	38.467	38.486	0.076	0.198
ordenada	-1.0579	-0.9540	-1.0571	-1.0230		
pendiente	0.9940	0.9880	0.9917	0.9912		
correlación	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999		



$$\text{Teórica } y = x$$

$$\text{Curva 1 } y = 0.9940x - 1.0579$$

$$\text{Curva 2 } y = 0.9880x - 0.9540$$

$$\text{Curva 3 } y = 0.9917x - 1.0571$$

Figura 23. Cantidad recuperada

La figura 23 muestra un sesgo en donde la pendiente es cercana a uno y el intercepto es diferente de cero. Por lo que se detecta un error constante.

En la tabla LXVI se presentan los resultados de la cantidad recuperada para ketorolaco trometamina con la técnica de adición creciente de estándar.

TABLA LXVI Adición creciente

conc	curva1	curva2	curva3	Promedio	DE	CV
4	2.129	2.198	2.112	2.146	0.046	2.127
6	4.453	4.559	4.518	4.510	0.053	1.185
10	9.123	9.152	9.052	9.109	0.052	0.565
20	20.464	20.528	20.527	20.506	0.037	0.178
40	39.079	39.181	39.092	39.117	0.055	0.142

ordenada	-1.3711	-1.3086	-1.3704	-1.3501
pendiente	1.0263	1.0270	1.0269	1.0267
correlación	0.9986	0.9986	0.9985	0.9986

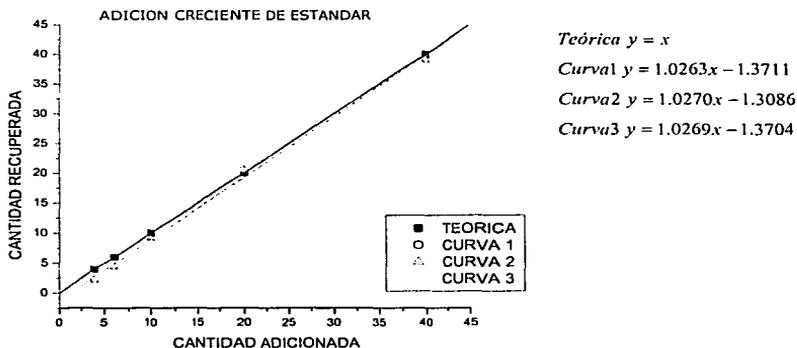


Figura 24. Cantidad recuperada

En la figura 24 se aprecia que las ordenadas al origen de las curvas del sistema son diferentes de cero y la pendiente es cercana a uno. Sin embargo el sesgo no se puede apreciar muy bien, a pesar de que se trate de un error constante.

En el caso de ketorolaco trometamina las dos técnicas permiten detectar el sesgo del método, un error constante.

Para seleccionar cual de los métodos de cálculo presentó la menor variación se realizaron graficas comparando el por ciento de recobro obtenido por los diferentes métodos de cálculo para las diferentes técnicas evaluadas.

ALOPURINOL



Figura 25. dispersión del por ciento de recobro con respecto al método de calculo

La figura 25 representa la variación del por ciento de recobro con respecto al método de calculo utilizado, no se aprecia una diferencia significativa, pero el método 3 es más homogéneo.

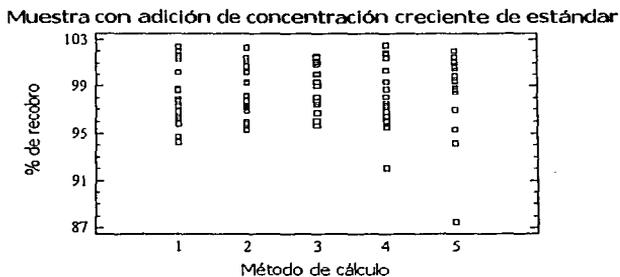


figura 26. variación del por ciento de recobro con respecto al método de cálculo

La figura 26 representa que tanto varia el por ciento de recobro con respecto al método de calculo utilizado, no se observa diferencia significativa entre ellos.

NAPROXENO



figura 27. dispersión del por ciento de recobro con respecto al método de cálculo.

La figura 27 representa la variación del por ciento de recobro con respecto al método de calculo utilizado, los resultados muestran que no hay diferencia significativa entre ellos.

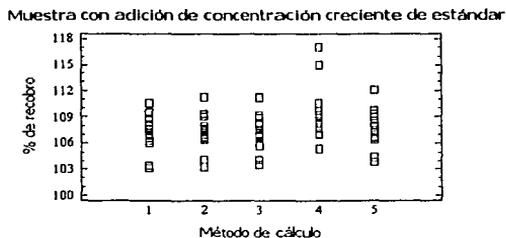


figura 28. variación del por ciento de recobro con respecto al método de cálculo.

La figura 28 representa la variación del por ciento de recobro con respecto al método de calculo utilizado, se observa una variación similar entre los métodos de cálculo.

KETOROLACO



figura 29. dispersión del por ciento de recobro con respecto al método de cálculo

La figura 29 representa la variación del por ciento de recobro con respecto al método de calculo , se aprecia una mayor variación en el método uno.

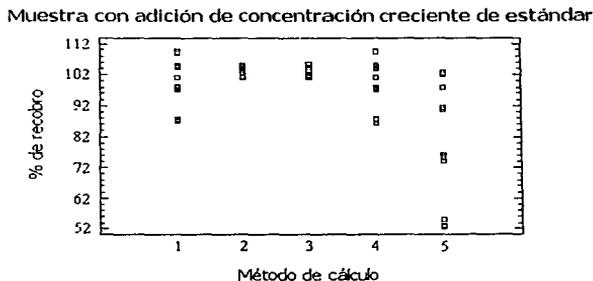


figura 30. dispersión del por ciento de recobro con respecto al método de cálculo.

La figura 30 representa como varia el por ciento de recobro con respecto al método de calculo utilizado, se observa que la mayor variación esta presente en el método 5, y presenta una menor variación en los métodos 2 y 3.

CONCLUSIONES

- Al evaluar las técnicas para la validación del método analítico de Alopurinol, Ketorolaco trometamina y naproxeno sódico en estudios de disolución se encontró que:
- La técnica de adición constante de estándar solo proporciona un valor de por ciento de recobro por lo que sería difícil visualizar el sesgo que se presente por la presencia de excipientes.
- La técnica de adición creciente no aporta más información que la técnica sin adición de estándar ya que ambas son capaces de detectar el sesgo del método.
- Con base en lo mencionado se recomienda que para los fármacos estudiados se emplee la técnica sin adición de estándar, además esta presenta la ventaja de la disminución de costo y de tiempo al realizarla.
- No se encontró diferencia entre los métodos de cálculo empleados para determinar el por ciento de recobro en Alopurinol y Naproxeno sódico.
- Se encontró variación entre los métodos de cálculo empleados para determinar el por ciento de recobro en Ketorolaco trometamina.

BIBLIOGRAFÍA

1. "Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos FEUM", 7ª edición
2. Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998. "Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas", FEUM 7ª edición, pp 1723-1741.
3. The United States Pharmacopeia USP, 24ª edición.
4. "Diccionario de Especialidades Farmacéuticas DEF", Ediciones PLM 2000, 46ª edición, México, 2000,
5. "Vademecum Farmacéutico" 3ª edición, información especializada SA de CV, Rezza editores S.A, USA, 1994.
6. J, MENDHAM, ET AL, "Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis" 6ª edición, Prentice Hall, Singapur, 2000, pp 117-169
7. R.A.DAY JR, A. L. UNDERWOOD, "Quantitative Analysis", 3ª edición, Prentice Hall inc, New Yersey, 1974, USA, pp 288-290.
8. WEIMER C RICHARD, "Estadística", 3ª reimpresión, Compañía Editorial Continental SA de CV, México, 2000, pp 594-603.
9. BARTZ ALBERT, "Basic Statistical Concepts", 3ª edición, Mac Millan Publishing Company, Estados Unidos de América, 1998, pp 278-297.
10. PEREZ LOPEZ CESAR, "Métodos estadísticos con Star Graphics para windows, técnicas básicas", Editorial Za-ma, España, 1998, pp 399-400,569-584.

-
11. WILLARD, HOBART. "Métodos instrumentales de análisis", Compañía Editorial Continental SA, México, 1978, Pp, 413.
 12. WATTY MARGARITA, "Química Analítica", 1ª edición, Editorial Alhambra Mexicana SA, México, 1982, 449-451.
 13. V. ABRAIRA, A. PÉREZ DE VARGAS. "Métodos Multivariantes en Bioestadística". Editorial Centro de Estudios Ramón Areces. 1996.
 14. GOODMAN & GILMAN. "Las bases farmacológicas de la terapéutica". 9ª edición, volumen I y II. Mc Graw Hill Interamericana , México, 1996.
 15. CARDONE, MARIO J. "New Technique in Chemical Assay Calculation. 1. A Survey of Calculation Practices on a Model Problem". Analytical Chemistry, volumen 58, No 2, 1986, pp 433-438.
 16. CARDONE, MARIO J. "New Technique in Chemical Assay Calculations. 2. Correct Solution of the Model Problem and Related Concepts". Analytical Chemistry, vol. 58, No. 2, 1986, 438-445.
 17. CARDONE MARIO J, PALERMO PHILIP, SYBRANDT LARRY. "Potential Error in Single-Point-Ratio Calculations Based on Linear Calibration Curves with a Significant Intercept". Analytical Chemistry, vol. 52, No. 8, 1980, pp 1187-1191.
 18. CARDONE, MARIO J. "Detection and Determination of Error in Analytical Methodology. Part I. In the Method Verification Program". Journal Association off Analytical Chemistry, vol. 66, No. 5, 1983, pp 1257-1282.
 19. CARDONE, MARIO J. "Detection and Determination of Error in Analytical Methodology. Part II Corrections for Corrigible Systematic Error in the Course of Real Sample Analysis". Journal Association off Analytical Chemistry, Vol. 66, No. 2, 1983, pp 1283- 1293.

-
20. WAGNER JOHN G. "Farmacocinética Clínica". Editorial Reverté S.A. España, 1983. pp 347-354.
21. SANFORD BOLTON, "Pharmaceutical Statistics Practical and Clinical Applications", 3ª edición, volumen 80 serie Drugs and the Pharmaceutical Sciences. Editorial Marcel Dekker, Estados Unidos de Norteamérica, 1997.
22. J ELKS & CR GALVELLIN, "Dictionary of Drugs Indexes", 1ª edición, editorial Chapman and Hall, Gran Bretaña, 1990.
23. "Drug Information for the Health Care Professional", 16ª edición, volumen 7, editorial USPDI, USA, 1996.
24. "The Merck INDEX and Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals", 12ª edición, Merck Research Lab. Divisions of Merck & Co INC, USA, 1996
25. "The Pharmaceutical Codex", 11ª edición, the Pharmaceutical Press, Londres, 1979.
26. BRAUN, ROBERT P. "Introduction to Instrumental Analysis". MC Graw Hill Company, USA, 1976.
27. GARY, CHRISTIAN D. "Analytical Chemistry". 4ª edición, editorial John Wiley & Sons, Hong Kong, 1986.
28. BERRY, IRA R. "Pharmaceutical Process Validation", 2ª edición, volumen 57 serie Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Marcel Dekker Inc, USA, 1993.

29. WELLING, PETER G. "Pharmacokinetics". Volumen 33 serie Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Marcel Dekker Inc. USA, 1988

30. <http://www.rxlist.com/cgi/generic/allopur.htm>

31. <http://www.rocheusa.com/products/n;prosyn/p;pdf>

32. <http://www.bedfordlabs.com/pdf/480-01.pdf>

33. <http://www.drreddys.com/newtemplate/bulkkctorolac.htm>

34. <http://www.rxlist.com/cgi/generic/ketor.htm>

35. www.aromatincidia.com/products.html

36. <http://www.rxlist.com/cgi/generic/naproxsod.htm>

37. <http://www.drreddys.com/newtemplate/bulknaproxensodium.htm>

ANEXO I

Ejemplo de calculo 1:

ALOPURINOL

a.

Ordenada del sistema	Curva 1	Curva 2	Curva 3
	0.01478302	0.01221698	0.01543396

b.

Ordenada del método	Curva 1	Curva 2	Curva 3
Adición creciente	0.57762264	0.58143396	0.58179245

c.

$$0.57762264 - 0.01478302 = 0.5628396$$

$$0.58143396 - 0.01221698 = 0.569217$$

$$0.58179245 - 0.01543396 = 0.5663585$$

d.

$$0.786 - 0.5628396 = 0.2231601$$

$$0.793 - 0.569217 = 0.223783$$

$$0.800 - 0.6024717 = 0.1975283$$

e.

$$y = mx + b$$

$$x = \frac{y - b}{m}$$

$$x = \frac{0.2231601 - 0.01478302}{0.05528841} = 3.766$$

f.

$$\%recobro = \left(\frac{c.recuperada}{c.real} \right) * 100$$

$$\%recobro = \left(\frac{3.766}{4} \right) * 100 = 94.15\%$$

Método de cálculo 2:

a.

Ordenada del sistema	Curva 1	Curva 2	Curva 3
	0.01478302	0.01221698	0.01543396

b.

Ordenada del método	Curva 1	Curva 2	Curva 3
Adición creciente	0.57762264	0.58143396	0.58179245

c.

$$0.57762264 - 0.01478302 = 0.5628396$$

$$0.58143396 - 0.01221698 = 0.569217$$

$$0.58179245 - 0.01543396 = 0.5663585$$

concentración	Curva 1	Curva 2	Curva 3
4	0.786	0.793	0.8

d.

$$0.786 - 0.5628396 = 0.22316$$

$$0.793 - 0.569217 = 0.223783$$

$$0.800 - 0.6024717 = 0.1975283$$

f.

$$\%recobro = \left(\frac{a.método}{a.sistema} \right) * 100$$

$$\%recobro = \left(\frac{0.22316}{0.233} \right) * 100 = 95.7\%$$

Método de cálculo 3:

a.

Promedio de las curvas de la linealidad del sistema 0.01414465

b.

Promedio de las curvas de la linealidad del método con la técnica de adición creciente de estándar 0.58179245

c.

$$0.58179245 - 0.01414465 = 0.56765$$

d.

$$0.786 - 0.56765 = 0.21835$$

$$0.793 - 0.56765 = 0.22535$$

$$0.800 - 0.56765 = 0.23235$$

e.

$$\%recobro = \left(\frac{a.método}{a.sistema} \right) * 100$$

$$\%recobro = \left(\frac{0.21835}{0.229} \right) * 100 = 95.34\%$$

Método de cálculo 4:

a.

Promedio de las curvas de la linealidad del sistema 0.01414465

b.

Promedio de las curvas de la linealidad del método con la técnica de adición creciente de estándar 0.58179245

c.

$$0.58179245 - 0.01414465 = 0.56765$$

d.

$$0.786 - 0.56765 = 0.21835$$

$$0.793 - 0.56765 = 0.22535$$

$$0.800 - 0.56765 = 0.23235$$

e.

$$y = mx + b$$

$$x = \left(\frac{y - b}{m} \right)$$

$$x = \left(\frac{0.21835 - 0.01414465}{0.055343441} \right) = 3.69$$

f.

$$\%recobro = \left(\frac{c.recuperada}{c.real} \right) * 100$$

$$\%recobro = \left(\frac{3.69}{4} \right) * 100 = 92.25\%$$

Método de cálculo 5:

a.

Ordenada del sistema	Curva 1	Curva 2	Curva 3
	0.01478302	0.01221698	0.01543396

b.

Ordenada del método	Curva 1	Curva 2	Curva 3
Adición creciente	0.57762264	0.58143396	0.58179245

c.

$$0.786 - 0.57762264 = 0.2083$$

$$0.793 - 0.58143396 = 0.2115$$

$$0.800 - 0.58632075 = 0.2136$$

d.

$$y = mx + b$$

$$x = \left(\frac{y - b}{m} \right)$$

$$x = \frac{0.2083 - 0.01478302}{0.05528841} = 3.5$$

e.

$$\%recobro = \left(\frac{c.recuperada}{c.real} \right) * 100$$

$$\%recobro = \left(\frac{3.5}{4} \right) * 100 = 87.5\%$$

Método de cálculo 6:

a.

Ordenada del sistema	Curva 1	Curva 2	Curva 3
	0.01478302	0.01221698	0.01543396

b.

Ordenada del método	Curva 1	Curva 2	Curva 3
Adición constante	0.61048113	0.60466981	0.61790566

c.

$$y = mx + b$$

$$x = \left(\frac{y - b}{m} \right)$$

$$x = \left(\frac{0.610481132 - 0.01478302}{0.05228841} \right) = 10.77$$

c.

$$\%recobro = \left(\frac{c.recuperada}{c.real} \right) * 100$$

$$\%recobro = \left(\frac{10.77}{10} \right) * 100 = 107.7\%$$