



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

APLICACION DEL METODO ANALITICO DE MINIMOS  
CUADRADOS PARCIALES (MCP), EN LA CUANTIFICACION  
DE NAPROXENO EN SUSPENSION, CON EL USO DE  
ESPECTROFOTOMETRIA U.V.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

P R E S E N T A :

**SAUL NAVARRO REYES**

ASESOR: Q.F.B. JOSE ANTONIO GARDUÑO ROSAS



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

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

NOMBRE: Saul Navarro

Choyas

FECHA: 26/30 septiembre/2005

FIRMA: [Firma manuscrita]



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN**  
**UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR**  
**DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE  
EXAMENES PROFESIONALES

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO**  
**DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN**  
**PRESENTE**

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Aplicación del método analítico de mínimos cuadrados parciales  
(MCP) en la cuantificación de naproxeno en suspensión, con el  
uso de espectrofotometría U.V.

que presenta el pasante: Saul Navarro Reyes  
con número de cuenta: 9660593-6 para obtener el título de :  
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 18 de Agosto de 2005

PRESIDENTE	<u>MC. Luisa Martínez Aguilar</u>	<u>L. M. A.</u>
VOCAL	<u>QFB. José Antonio Garduño Rosas</u>	<u>J. A. G. R.</u>
SECRETARIO	<u>QFB. Juan Chiu Chan</u>	<u>J. C. C.</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>QFB. Guadalupe Rebollar Barrera</u>	<u>G. R. B.</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>QFB. Héctor Coss Garduño</u>	<u>H. C. G.</u>

## *AGRADECIMIENTOS*

*A Dios por darme la vida, y porque siempre está conmigo.*

*A mis padres. J. Guadalupe Navarro y Filadelfa Reyes Chávez, por el apoyo y comprensión durante los años de estudio que tuve.*

*A mis hermanos Nelida y Joel, por el apoyo que me brindaron.*

*A mis sinodales, gracias por los comentarios y sugerencias para el mejoramiento de este trabajo.*

*Gracias a I.M. BRULUART por las facilidades otorgadas para la elaboración de este trabajo.*

*A mis compañeros y amigos por su compañía y amistad.*

*Gracias a la FES-Cuautitlán.*

*Agradecimiento especial*

*Gracias al profesor José Antonio Garduño Rosas por todo  
El apoyo, Paciencia y dedicación  
Que me brindó en el presente trabajo*

*Gracias por ser mi profesor, asesor y amigo.*

## ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL	Pag.
INTRUDUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
<i>CAPÍTULO I. Generalidades</i>	4
Características Fisicoquímicas	5
Farmacología del Naproxeno	7
Justificación	8
Análisis multivariante	9
Fundamentos del análisis multicomponente	10
Matriz de datos de la calibración	12
Algoritmo del modelo de mínimos cuadrados parciales	13
Calibración.	14
Predicción.	16
Selección del número óptimo de factores.	18
Detección de muestras desechables.	19
<i>CAPÍTULO II. Desarrollo del método analítico.</i>	20
Planteamiento experimental.	21
Reactivos, equipos y software utilizados.	23
Recopilación de datos.	24
Etapas de exploración.	25
Gráficos de la suspensión y del estándar de Naproxeno en diferentes medios de dilución.	26
Aditividad e interferencia.	29
Procedimiento de análisis realizado para el desarrollo del método.	30

---

---

Elección de las soluciones patrón.	31
Ensayo analítico.	33
Sistema de calibración.	35
<i>CAPÍTULO III. Resultados y análisis del método.</i>	36
Evaluación de los ensayos.	37
Curva de calibración modelada.	38
Disminución de la interferencia en la muestra.	42
Evaluación de los ensayos sin vehículo.	47
Evaluación del porcentaje de interferencia dentro de las muestras.	48
Resultados de los ensayos con porcentajes de vehículo.	52
Nuevas condiciones de análisis para el desarrollo del método en medio ácido clorhídrico 0.1N.	53
Sistema de calibración.	56
Nuevo procedimiento de Ensayo analítico.	57
Exploración del método en medio de dilución búfer de acetatos pH 3.9.	60
Resultados de la curva de calibración en búfer de acetatos pH 3.9.	63
<i>CONCLUSIONES.</i>	66
Anexo I, Abreviaturas.	68
Anexo II, Preparación de soluciones.	69
Anexo III, Tablas de SCERP.	77
BIBLIOGRAFÍA.	80

## INTRODUCCIÓN

Los problemas que se enfrentan en el campo del análisis farmacéutico son cada día mayores debido al gran incremento de nuevos productos, con moléculas activas nuevas y excipientes novedosos que requieren de métodos de análisis apropiados. Sin embargo, en la actualidad se cuenta con instrumentación analítica más satisfactoria de gran precisión y sensibilidad que ayudan a resolverlos.

El desarrollo de un método analítico consiste en determinar, de acuerdo a las propiedades físicas y químicas del analito, las condiciones adecuadas para analizar cuantitativamente una muestra. Los métodos espectroscópicos figuran entre los métodos analíticos instrumentales más utilizados.

Entre algunas causas que limitan el análisis de medicamentos está la presencia de más de un principio activo o excipientes que interfieran con el análisis, lo que obliga a la búsqueda de métodos alternativos que permitan realizar la determinación cuantitativa. En los sistemas dispersos, además, se presentan una serie de problemas relativos a la formulación; puede haber problemas de humectación, sedimentación, derivados de las interacciones existentes entre las partículas, de crecimiento de cristales y de adsorción al envase entre otras.

Las suspensiones son sistemas dispersos de partículas insolubles de un sólido en un líquido. Los principales componentes de una suspensión son el fármaco y los agentes que facilitan la humectación del fármaco, los que afectan la floculación, controlan la viscosidad, ajustan el pH y el medio externo, que por lo general es agua. Además se emplean agentes aromatizantes, edulcorantes, colorantes y conservadores.<sup>[1]</sup>

En la química analítica se han desarrollado en los últimos años técnicas quimiométricas las cuales se basan en el tratamiento matemático de datos. La técnica más empleada para el procesamiento de señales espectrales es el uso de la calibración multivariante, que es una herramienta de reconocida selectividad y confiabilidad en el análisis cuantitativo, aplicable en la determinación de macro y microcomponentes, con diversas características y bajo distintos métodos de análisis.

La calibración multivariante consiste en usar datos empíricos y conocimientos previos para establecer cómo predecir información desconocida  $Y$  a partir de mediciones disponibles  $Z$ , a través de alguna función matemática de transformación. La calibración multivariante utiliza muchas variables medidas  $z_1, z_2, z_3, \dots, z_n$  simultáneamente para cuantificar alguna variable; las variables  $z$  pueden ser mediciones cromatográficas o espectroscópicas.<sup>[2]</sup>

En el caso de estar presentes interferencias en la mezclas con el analito y si no existe otro punto en el que pueda ser determinado selectivamente con una señal lo suficientemente fuerte, tradicionalmente se recurre a procesos de separación de las sustancias interferentes, o a la corrección matemática de los resultados.

La calibración multivariante permite analizar sistemas con interferencias químicas, aunque no estén definidas, sin necesidad de manipular excesivamente la muestra.<sup>[2]</sup>

En algunos casos se pueden presentar ciertos fenómenos físicos que afectan la señal de medición (interferencia física), lo cual se tiene que compensar matemáticamente, la calibración multivariante corrige sus efectos matemáticamente con el uso de alguna versión algorítmica.

En regresión de mínimos cuadrados parciales (MCP), se utilizan como variables predictoras, vectores que explican menos variancia que los componentes principales, pero a cambio están más correlacionados con las respuestas. Los componentes principales se obtienen en orden de máxima variancia explicada decreciente, por lo que no es posible aumentar la correlación de los vectores con la respuesta sin perder variancia.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar si el método analítico de mínimos cuadrados parciales (MCP) se puede aplicar para la cuantificación de Naproxeno en suspensión sin el conocimiento del tipo y cantidad de excipientes contenidos en una formulación.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Establecer las posibles interferencias que se pueden presentar en el análisis por parte de los excipientes.
- Determinar las condiciones espectrofotométricas óptimas para cuantificar Naproxeno (NAP), en suspensión.
- Establecer las condiciones de un ensayo que pueda ser utilizado en la cuantificación de Naproxeno (NAP), en suspensión.
- Evaluar algunas características del método espectrofotométrico establecido para la cuantificación de Naproxeno.

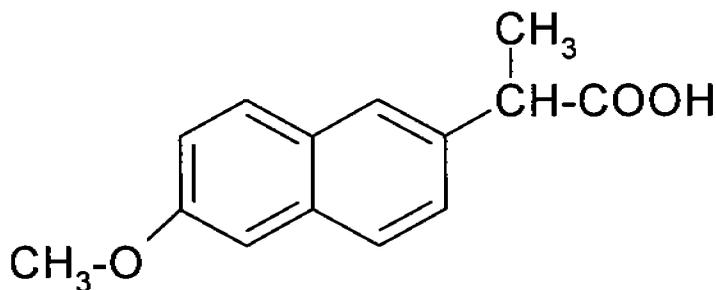
***CAPÍTULO I***  
***GENERALIDADES***

1.- CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL NAPROXENO.<sup>[3]</sup>

NOMBRE QUÍMICO:

Ácido (+)-2-(6-Metoxi-2 naftil) propiónico

ESTRUCTURA QUÍMICA:



FÓRMULA CONDENSADA:

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>

PESO MOLECULAR:

230.3 g/mol.

APARIENCIA, COLOR Y OLOR:

Polvo cristalino blanco, de sabor amargo

PUNTO DE FUSIÓN

156 °C

NATURALEZA QUÍMICA

Ácida; Constante de disociación pK<sub>a</sub> = 4.2 (25°).

SOLUBILIDAD:

Solvente	Cantidad
Etanol	1 en 25
Cloroformo	1 en 15
Éter	1 en 40
Agua	Prácticamente insoluble

ESPECTRO ULTRAVIOLETA:

En solución ácida presenta picos a 262nm (A= 208), a 272nm (A= 215), a 315nm (A= 52 y a 328nm (A= 63); en solución alcalina presenta picos a 261nm (A= 218) y a 271nm (A= 218).

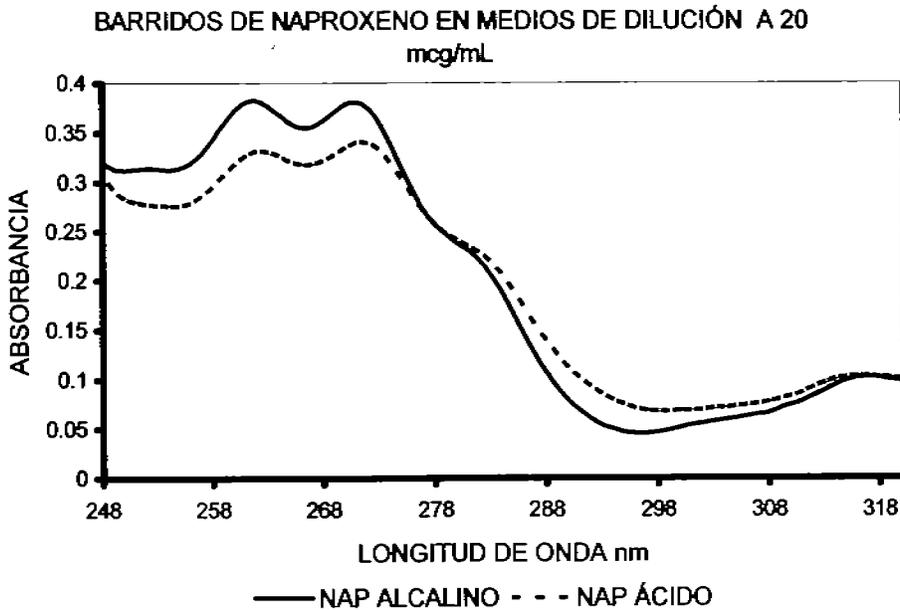


Figura 1. Espectros de absorción del Naproxeno en dos diferentes medios de disolución, (— Naproxeno en medio alcalino, hidróxido de sodio 0.1N), (— Naproxeno en ácido clorhídrico 0.1N). [Química elaborada en el laboratorio]

## FARMACOLOGÍA DEL NAPROXENO.<sup>14)</sup>

Es un derivado del ácido propiónico con propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. Se comercializa en forma de ácido y como sal sódica. Está indicado para el alivio de los síntomas de la artritis reumatoide. Tanto en episodios agudos como para el tratamiento a largo plazo de la enfermedad.

*Farmacocinética y biotransformación.* Después de ingerido, el Naproxeno se absorbe en su totalidad. La rapidez de la absorción pero no la magnitud de ella es influenciada por los alimentos en el estómago. La absorción puede acelerarse por el suministro de bicarbonato de sodio o reducirse por el consumo de óxido de magnesio o hidróxido de aluminio. El Naproxeno también se absorbe por vía rectal, pero las concentraciones máximas en plasma se logran con mayor lentitud. La vida media de este compuesto en plasma es de unas 14h.

Los productos de biotransformación del Naproxeno se excretan casi por completo en la orina. En promedio, 30% del fármaco muestra 6- desmetilación. Estos, así como el propio Naproxeno, se excretan en forma de glucurónido u otros conjugados.

El Naproxeno se liga en una forma casi total (99%) a las proteínas plasmáticas. El medicamento cruza la placenta y aparece en la leche materna, aproximadamente a razón de 1% de la concentración plasmática de la madre.

Efectos tóxicos. La incidencia de efectos colaterales en vías gastrointestinales y SNC es casi igual a la observada con la indometacina, pero en uno y otro aspecto es mejor tolerado el naproxeno. Las complicaciones gastrointestinales han variado desde dispepsia relativamente leve, molestias gástricas y pirosis, náusea y vómito. Los efectos adversos en SNC varían desde somnolencia, cefalea, mareos y fatiga.

## JUSTIFICACIÓN

Generalmente, en la mayoría de los métodos analíticos es necesario recurrir a algunos métodos físicos químicos o fisicoquímicos con el fin de separar las posibles interferencias que se presentan en las muestras a analizar. Por eso que resulta importante seleccionar un método de análisis, tomando en cuenta diversos factores como son: precisión, sensibilidad, reproducibilidad tiempo de análisis así como el costo del mismo. En los métodos espectrofotométricos la determinación de la concentración de activo depende en parte de la precisión de las medidas de absorbancia. Una gran cantidad de estos de estos métodos analíticos involucran procesos previos de separación, para eliminar interferencias producidas por la mezcla de los componentes de la muestra.

Este trabajo resalta la utilización de un nuevo modelo de análisis (mínimos cuadrados parciales), para la cuantificación de Naproxeno en una forma farmacéutica compleja como la suspensión, con el uso de la espectrofotometría la cual se basa en la absorción de radiación luminosa por la materia que presenta una región comprendida en el ultravioleta. Lo que lo hace que la obtención de las señales espectrales sea sencilla y económica es que, las muestras solo son diluidas en volúmenes específicos y leídas en el instrumento. A diferencia de otras técnicas como la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), que es método que se basa en la separación de compuestos con el propósito de identificar, cuantificar o purificar es uno de los aspectos desafiantes de la química analítica. Así, la cromatografía se puede definir como el método y la técnica usada para separar y analizar mezclas de sustancias químicas, basados en la diferente absorción o adsorción de éstas por otros compuestos y disolventes. Normalmente se emplean columnas cargadas con adsorbentes sólidos y pulverizados en las que la fase móvil es un líquido o un gas. Lo que la hace una técnica costosa.

## ANÁLISIS MULTIVARIANTE <sup>15</sup>

La química analítica cada vez hace mayor uso de técnicas quimiométricas, las cuales se basan en el tratamiento matemático de datos. De las técnicas más empleadas por los espectroscopistas se encuentran el uso de las derivadas para el procesamiento de señales espectrales y la calibración multivariante en sus diferentes métodos de análisis:

Regresión lineal múltiple (RLM).

Mínimos cuadrados clásicos (MCC).

Mínimos cuadrados inversos (MCI).

Análisis del componente principal (ACP).

Regresión del componente principal (RCP):

Mínimos cuadrados parciales (MCP).

Los métodos de análisis automatizados facilitan la obtención de grandes cantidades de datos. Una serie de métodos espectroscópicos y cromatográficos pueden proporcionar datos analíticos sobre muchos componentes de una única muestra. Estas situaciones que miden varias variables para cada muestra, proporcionan datos multivariantes. En la predicción múltiple y multivariante, se utilizan preferentemente modelos en los que la variable independiente, X, es siempre la predictora (señal instrumental o combinación lineal de varias señales instrumentales), tanto en la etapa de calibración como en la etapa de predicción; y la variable dependiente, Y, es siempre la respuesta (concentración).

---

---

FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS DE MULTICOMPONENTE. <sup>16)</sup>

En la calibración lineal simple es habitual el uso del siguiente método de predicción:

$$A = C K \quad \text{Ec. 1}$$

Donde A es la absorbancia a cierta longitud de onda y C y K la concentración y absortividad del componente, respectivamente. Esto implica que es posible conocer la concentración de cualquier especie (si el estudio está libre de interferencias) tras medir simplemente la absorbancia de una muestra de concentración conocida y deducir la adsortividad, para usarla en cualquier cálculo posterior.

Si la mezcla contiene dos componentes, es posible establecer dos ecuaciones:

$$A_1 = C_1 K_1 + E_1 \quad \text{Ec 2}$$

$$A_2 = C_2 K_2 + E_2 \quad \text{Ec 3}$$

Donde  $A_1$  y  $A_2$  son las absorbancias a dos longitudes de onda,  $K_1$  y  $K_2$  son los coeficientes de absortividad de los dos componentes a esas longitudes de onda,  $E_1$  y  $E_2$  son los errores residuales obtenidos a partir de la línea ajustada por mínimos cuadrados. Mientras la absorbancias de un componente no interfiera con el otro es posible dar solución en forma simultánea.

Si existe interferencia entre los dos componentes dentro del mismo espectro (bandas solapadas). Entonces se tendrían dos ecuaciones.

$$A_1 = C_1 K_{11} + C_2 K_{21} + E_1 \quad \text{Ec. 4}$$

$$A_2 = C_1 K_{12} + C_2 K_{22} + E_2 \quad \text{Ec 5}$$

La solución de estas ecuaciones sería en forma simultánea aunque se convertiría en algo tedioso.

Otra forma de dar solución al sistema de ecuaciones simultáneamente es con el uso de sistemas matriciales que se pueden resolver por computadora, quedando expresadas así:

$$A_{(n,p)} = C_{(n,m)} K_{(m,p)} + E_{(n,p)} \quad \text{Ec. 6}$$

Siendo n el número de disoluciones patrón, p el número de valores de longitudes de onda y m el número de componentes.

Teniendo dos componentes a dos longitudes de onda se tendrían las siguientes ecuaciones.

Espectro # 1

$$A_{11} = C_{11} K_{11} + C_{12} K_{21} + E_{11} \quad \text{Ec. 7}$$

$$A_{12} = C_{12} K_{12} + C_{12} K_{22} + E_{12} \quad \text{Ec. 8}$$

Espectro # 2

$$A_{11} = C_{11} K_{11} + C_{12} K_{21} + E_{11} \quad \text{Ec. 9}$$

$$A_{12} = C_{12} K_{12} + C_{12} K_{22} + E_{12} \quad \text{Ec. 10}$$

Y en notación matricial se tendría

$$A = C K + E$$

Con el uso de un paquete estadístico que maneje el álgebra matricial es fácil encontrar solución a las expresiones, la matriz K, la cual se utiliza en la predicción de muestras problema.

## MATRIZ DE DATOS DE LA CALIBRACIÓN <sup>171</sup>

En calibración multivariante; la matriz se divide en dos bloques: el bloque X, con  $m$  variables que se usan como predictoras, y el bloque Y, que debe incluir tantas variables respuesta como fuentes de variancias significativas e independientes influyan sobre las variables del bloque X.

Cualquier serie de medidas instrumentales se puede utilizar como variables del bloque X, si bien, con frecuencia, se trata de señales generadas por los instrumentos a distintas longitudes de onda (espectroscopía), a distintos tiempos crecientes (cromatografía), o en general, a distintos valores de la variable de barrido instrumental. Para cada valor de la variable de barrido se tiene una variable predictora,  $x_j$ .<sup>[9]</sup>

Por otra parte, cualquier fuente de variancia o factor subyacente se puede utilizar como respuesta, ya se trate de concentraciones de analitos o de interferencias, o de otros factores que influyen sobre las señales instrumentales.

La matriz está también partida en dos bloques de objetos: El conjunto de calibrado, contiene  $n$  estándares, siendo  $n$  igual o mayor que el número de respuestas. Y el de muestras problema, sin limitación en el número de objetos. En esta etapa de calibración se establecen las variables que deben incluirse en el bloque X (de variables predictoras) y bloque Y (respuestas). Se diseña la composición de los estándares y su preparación de acuerdo con el diseño previsto, se realiza la medida de las variables y se establece el modelo de predicción.<sup>[9]</sup>

### CONJUNTO DE ESTÁNDARES DE CALIBRACIÓN <sup>[7]</sup>

Para construir un modelo de predicción múltiple y multivariante se deben cumplir las siguientes condiciones.

- El bloque Y contiene tantas variables como fuentes de variancia relevantes influyen sobre el bloque X. así, por ejemplo, si el bloque X con tiene tres fuentes de variancia, el bloque Y se debe diseñar incluyendo al menos tres variables.
- Las variables del bloque X, o un subconjunto seleccionado de entre las mismas, contienen variancia correlacionada con todas y cada una de las variables del bloque Y.
- Las variables del bloque X, o al menos las del subconjunto seleccionado, están poco correlacionadas entre sí.
- El conjunto de estándares de calibración se ha diseñado de modo que las variables del bloque Y no están correlacionadas entre sí, y además, cubren de modo satisfactorio sus respectivos intervalos de calibración.

### ALGORITMO DEL MODELO DE MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES <sup>[8]</sup>

El algoritmo de MCP utilizado en el desarrollo de este trabajo fue el que estableció Haaland. Que consta de dos etapas

Etapas de calibración.

Etapas de predicción.

**CALIBRACIÓN:**

En esta etapa se relacionan las absorbancias obtenidas a diferentes longitudes de onda y la concentración del componente de interés se estima a partir de un conjunto de estándares de soluciones de referencia que presentan las combinaciones posibles de los componentes de la mezcla. Y de acuerdo al algoritmo de MCP establecido por Haaland D. <sup>[4,9]</sup> Se obtienen las expresiones matriciales compuestas por valores de absorbancias a diferentes longitudes de onda, dispuestas en columnas para cada longitud de onda y en filas para cada solución conteniendo la mezcla de los componentes a analizar.

Un aspecto importante en la etapa de calibración es el diseño del conjunto de soluciones patrón a partir de las cuales se obtienen el número de soluciones para la matriz, las soluciones deben ser representativas de las diferentes composiciones de las muestras.

PASO 1: Pretratamiento de datos, centrar A y C. Las matrices centradas sustituyen en las operaciones a las de los datos originales.

PASO 2

Formación del vector de peso ( $Wh'$ ) o de ponderación.

$$A = c Wh' + Ea$$
$$Wh' = (A' c) / c' c$$

Este paso de MCP se ejecuta asumiendo que se conoce la concentración de uno de los componentes de la muestra analítica. Ya obtenidos los valores de ( $Wh$ ) se normalizan dividiendo los valores de  $Wh$  entre el primer valor del vector.

PASO 3

Vector cargador latente (th).

$$A = th Wh' + Ea$$

$$th = A Wh$$

El vector t1 representa la intensidad o cantidad del primer vector de peso en las muestras de calibración.

PASO 4

Se presenta una relación entre el vector marcador y las concentraciones.

$$C = Vt th + ec$$

$$Vt = ( th' c ) / th' th$$

El vector marcador puede ser relacionado con las concentraciones usando la regresión de mínimos cuadrados lineal.

PASO 5

Formación del vector de carga.

$$A = th bh' + Ea$$

$$Bh = A' th / th' th$$

El vector b1 explica la máxima variancia en el espectro de calibración.

PASO 6

Cálculo de los residuales en A y c

$$Ea = A - th bh'$$

Concentración residual

$$ec = c - Vh th$$

PASO 7

Aumentar h (el número de cálculos del algoritmo), sustituyendo Ea para A y ec para c en el paso 2, realizar las repeticiones necesarias hasta obtener un modelo adecuado.

**PREDICCIÓN:**

Es esta etapa se utiliza para encontrar concentraciones de muestras desconocidas mediante el uso de los datos obtenidos en la calibración. Para cada muestra se obtiene un vector con absorbancias obtenidas a cada longitud de onda.

PASO 1

Se centra "a" usando los datos de la calibración, o se obtiene el valor medio de la calibración de cada valor espectral.

PASO 2

Se calcula la variable latente th

$$th = a Wh'$$

PASO 3

Se calcula la concentración

$$Ch = c_{n-1} + vt_{th}$$

PASO 4

Se calcula los residuales de absorbancia.

$$eh = e_{n-1} - bh_{th}$$

PASO 5

Incrementar h, sustituir eh por "a" y repetir el paso 2 hasta que se complete el número de h utilizadas en la calibración.

## SELECCIÓN DEL NÚMERO ÓPTIMO DE FACTORES <sup>[4]</sup>

El método que permite establecer el número óptimo de factores es la aplicación de SCERP (suma de cuadrados de los errores residuales de predicción). En este método se utiliza la validación cruzada y se aplica la fórmula;

$$SCERP = \sum_{i=1}^n (C_{i \text{ Est}} - C_{i \text{ Real}})^2$$

Donde n es el número de muestras de la calibración,  $C_{i \text{ real}}$  es la concentración real y  $C_{i \text{ Est}}$  es la concentración estimada al utilizar la validación cruzada. <sup>[6]</sup>

Los valores de SCERP son el indicativo de qué tan bien se están estimando las soluciones patrón con cada número de repeticiones de los cálculos del algoritmo de MCP, en una gráfica típica de SCERP en función del número de repeticiones se observa que conforme aumenta el número de repeticiones de los cálculos en el algoritmo disminuye el error de la predicción (ver figura 2).

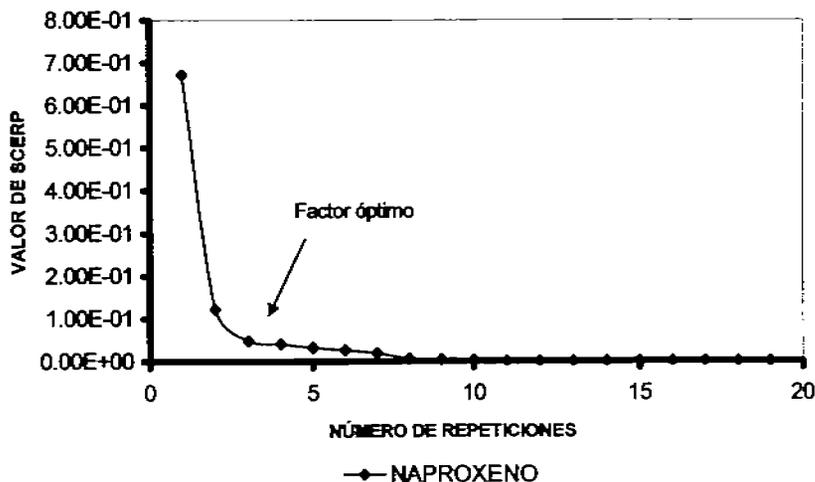


Figura 2. Gráfico del valor de SCERP. En función del número de repeticiones.

### DETECCIÓN DE LAS MUESTRAS DESECHABLES <sup>[9]</sup>

Las muestras desechables son soluciones que presentan una diferencia considerable entre el valor de la concentración estimada y su respectiva concentración esperada (residuos de la concentración) en comparación con las soluciones pertenecientes a la calibración. Una o varias de las soluciones de la calibración pueden presentar valores incorrectos, esto debido a mala preparación o errores en la manipulación.

Una forma para detectar muestras desechables es la utilización de la validación cruzada. Así, tras elegir el número óptimo de repeticiones, cada una de las muestras se separa del resto de las soluciones de la calibración para posteriormente predecir la concentración de la muestra que quedó fuera. Tras repetir este procedimiento a todas las soluciones de la calibración, se puede determinar el porcentaje de desviación de la concentración estimada con respecto a su concentración real:

$$\left( \frac{C_{\text{est}} - C_{\text{real}}}{C_{\text{real}}} \right) \times 100$$

De esta forma se puede determinar si una o más de las soluciones de la calibración son desechables, se debe obtener un gráfico como el descrito en la figura 3. En este por ejemplo se observa que la solución 6 está por arriba del 2%, por lo que es desechable.

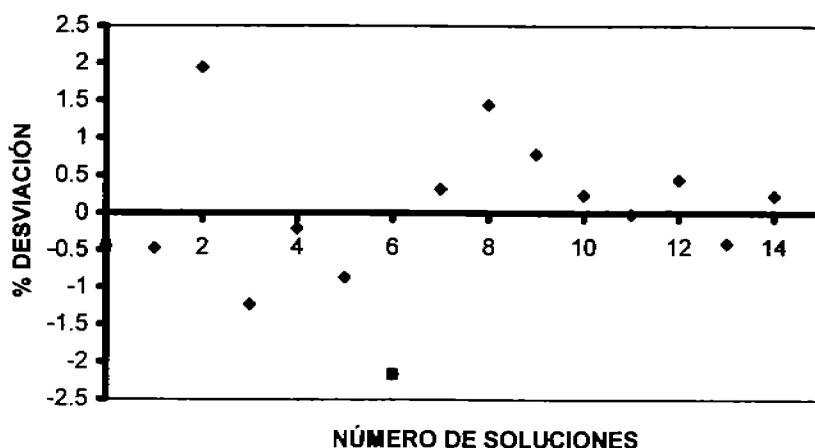


Figura 3. Gráfico de porcentaje de desviación de cada solución de la calibración.

***CAPÍTULO II***  
***DESARROLLO***  
***DEL***  
***MÉTODO ANALÍTICO***

## PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

En el planteamiento de este trabajo se consideró el demostrar que el método de MCP es aplicable a muestras en las cuales los componentes que acompañan al analito son desconocidos. Esto desde el punto de vista experimental se hizo trabajando inicialmente con muestras de suspensión comerciales.

De acuerdo con el esquema descrito (Pág. 22), se planteó como problema cuantificar al Naproxeno, contenido en las suspensiones iniciando por evaluar las características de la muestra (color, sabor, etc.). Enseguida se procedió a realizar barridos con la muestra de suspensión

De acuerdo con los resultados, se seleccionó el medio de dilución adecuado para proceder a efectuar ensayos cuantitativos y establecimiento de las condiciones de calibración.

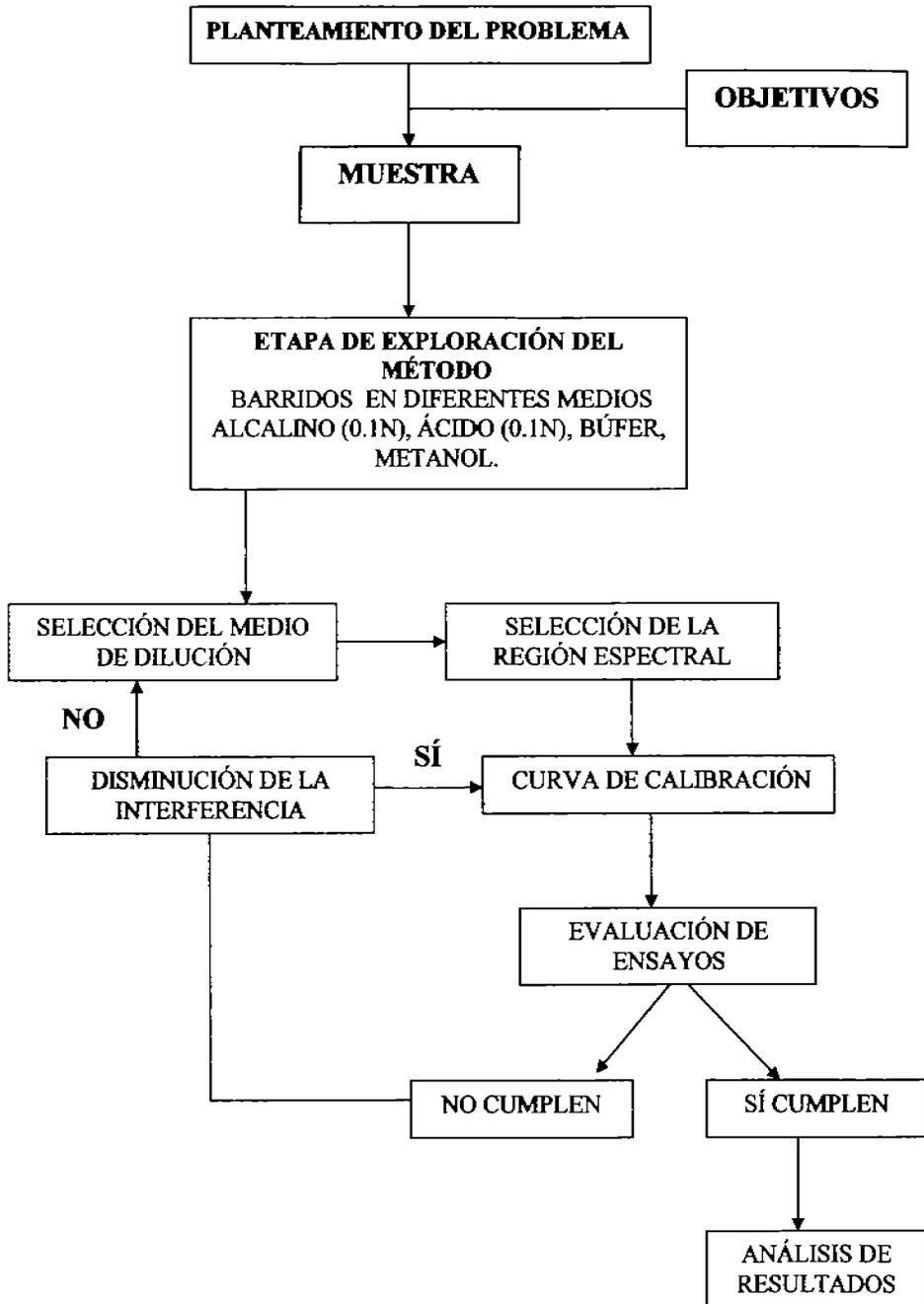
Posteriormente, de acuerdo a los resultados de los ensayos se determinó si cumplían o no con los criterios de precisión y exactitud.

Si se cumplía, se realiza el análisis de resultados y se concluía.

Si no se cumple, se busca un nuevo medio de dilución

En esta forma se condujo toda la parte experimental en busca de las condiciones adecuadas de análisis para la cuantificar y de acuerdo con el objetivo planteado.

Posteriormente se obtuvo de la industria I.M BRULUART un placebo de la suspensión de Naproxeno que ellos producen y se siguió con la misma rutina.



**REACTIVOS, EQUIPOS Y SOFTWARES UTILIZADOS**

<i>SUSTANCIA</i>	<i>DONADOR/PROVEEDOR</i>	<i>No. DE LOTE</i>
Hidróxido de sodio.	J.T Baker	044103
Ácido clorhídrico.	Técnica Química	03H8532
Ácido acético.	Química Mayer	50-A95
Acetato de sodio.	J.T Baker	R0-A09
Metanol.	LEM. Farmacia	36-MTO23
Búfer de fosfatos pH 8.0.	I.M. Bruhuart S.A	R.A -412
Naproxeno. Estándar	I.M. Bruhuart S.A	NA 3326
Naproxeno materia prima.	I.M. Bruhuart S.A	MP31249
Vehículo placebo de suspensión.	I.M. Bruhuart S.A	DA36311-P01

**INSTRUMENTOS Y EQUIPO.**

<i>EQUIPO</i>	<i>MARCA</i>	<i>No. INVENTARIO</i>
Balanza Analítica	Ohaus, modelo plus	1581170
Espectrofotómetro.	Varian, modelo Cary E13	95031303
Computadora Pentium 3	Epsilon A-TREND.	1969861
Purificador de agua Ríos 5	Millipore	1592150
Sistema de purificación Milli-Q plus	Millipore	1587776
Centrifuga	Damon/Iec	10465
Vortex	Scientific Industries	348324

**SOFTWARES**

El tratamiento de datos fue realizado con el programa estadístico ISHEJA INC <sup>[6]</sup>. Versión 1.0 soportado en ambiente Windows 98 (el cual utiliza el algoritmo establecido por Haaland), y el Programa Excel de la paquetería de Microsoft Office.

RECOPIACIÓN DE DATOS

Los datos son recopilados de las soluciones estándar y de las muestras leyendo las soluciones a las diferentes longitudes de onda establecidas, como se muestra en la tabla 1, primero se leen las soluciones estándar que conforman la matriz de calibración; en segunda instancia se obtienen las lecturas de las muestras problema que van hacer estimadas dentro de la curva de calibración. Estas lecturas son copiadas del software del espectrofotómetro Cary y ordenadas en el programa excel, las absorbancias son copiadas y pegadas en el programa ISHEJA, el cual establece el algoritmo descrito por Haaland<sup>[8]</sup> dando los resultados de la curva de calibración tomando en cuenta todos los criterios establecidos como son, el número de la SCERP, las muestras desechables y los parámetros estadísticos de regresión. Y después se estiman las muestras problema en el programa obteniendo las concentraciones de las soluciones.

Tabla 1. Matriz de datos. Absorbancias obtenidas a  $n$  longitudes de onda y  $p$  soluciones estándar.

longitud de onda (nm)	L <sub>1</sub> (240)	L <sub>2</sub> (239)	L <sub>3</sub> (235)	L <sub>4</sub> (230)	L <sub>5</sub> (228)	Longitud $n$
Solución estándar C <sub>1</sub>	L <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	L <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	L <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	L <sub>4</sub> C <sub>1</sub>	L <sub>5</sub> C <sub>1</sub>	L <sub>n</sub> C <sub>1</sub>
C <sub>2</sub>	L <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	L <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	L <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	L <sub>4</sub> C <sub>2</sub>	L <sub>5</sub> C <sub>2</sub>	L <sub>n</sub> C <sub>2</sub>
C <sub>3</sub>	L <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	.	.	.	.	.
C <sub>4</sub>	L <sub>1</sub> C <sub>4</sub>	.	.	.	.	.
C <sub>p</sub>	L <sub>1</sub> C <sub>p</sub>	.	.	.	.	L <sub>n</sub> C <sub>p</sub>

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Material de vidrio.

Matraces volumétricos de 25ml

Matraces volumétricos de 50ml.

Matraces volumétricos de 100ml.

Matraces volumétricos de 200ml.

Matraces volumétricos de 1000ml.

Pipetas graduadas de 5 y 10ml.

Pipetas volumétricas de 1 a 10ml

Vasos de precipitados de 50, 100, 250 y 500ml

Agitador de vidrio.

### **ETAPA I EXPLORACIÓN**

Inicialmente se realizaron barridos de Naproxeno SR y de la muestra de suspensión, en diferentes medios de dilución, (búfer de fosfatos pH 8.0, ácido clorhídrico 0.1N, metanol e hidróxido de sodio 0.1N). Los gráficos se compararon con el fin de determinar el medio de dilución más adecuado. Los barridos se efectuaron en el intervalo espectral de 249 a 350nm. Dando como resultado los espectros de absorción que muestran las características que presenta el Naproxeno en las diferentes soluciones. Para establecer el medio de dilución adecuado se tomaron en cuenta las características del medio bajo los siguientes criterios: que el analito estuviera en solución, que presentara el menor tiempo en disolverlo, que el medio de dilución fuera estable y fácil de preparar.

**GRÁFICOS DE NAP ESTÁNDAR Y SUSPENSIÓN EN DIFERENTES MEDIOS DE DILUCIÓN.**

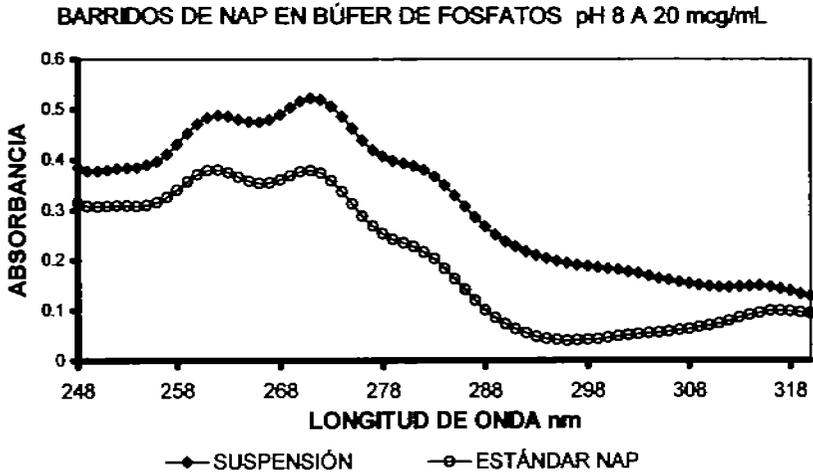


Figura 4. Barridos de NAP en suspensión y NAP SR a una concentración de (20 mcg/mL) en medios de dilución búfer de fosfatos pH 8.0. En el intervalo espectral de 248- 320nm.

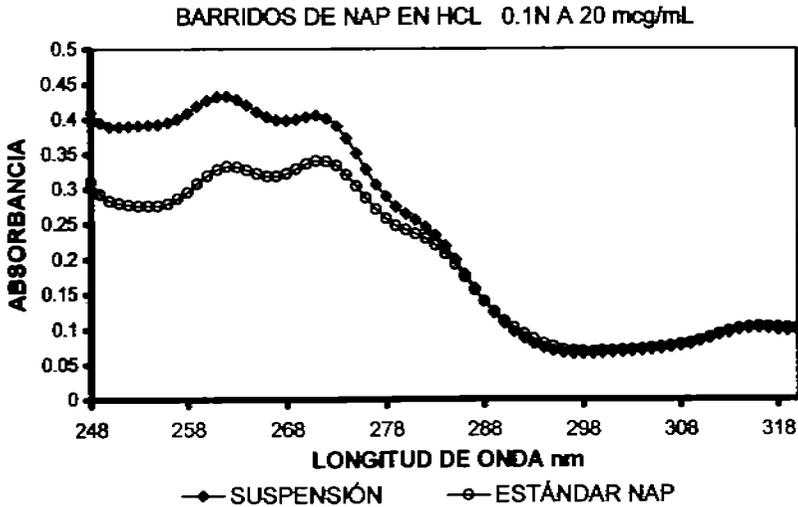


Figura 5. Barridos de NAP en suspensión y NAP SR a (20 mcg/mL), en medio de dilución ácido clorhídrico 0.1N. En el intervalo espectral de 248- 320nm.

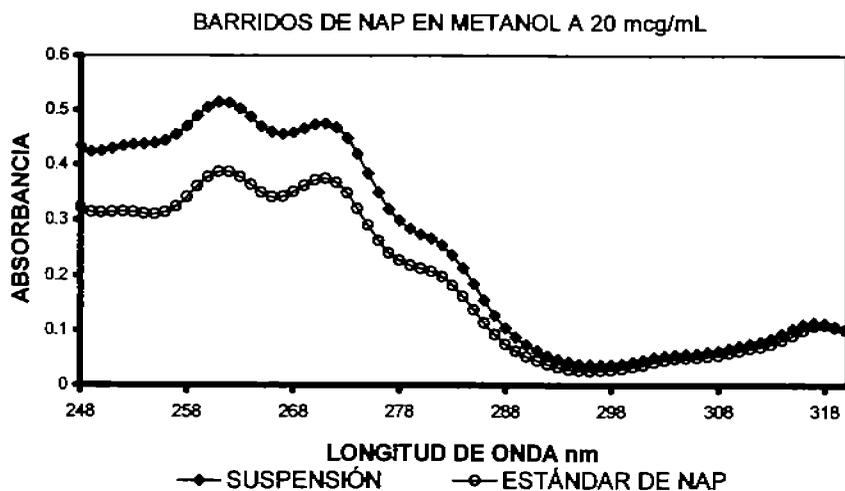


Figura 6. Barridos de NAP en suspensión y NAP SR (20mcg/mL), en el medio de dilución metanol. En el intervalo espectral de 248-320nm.

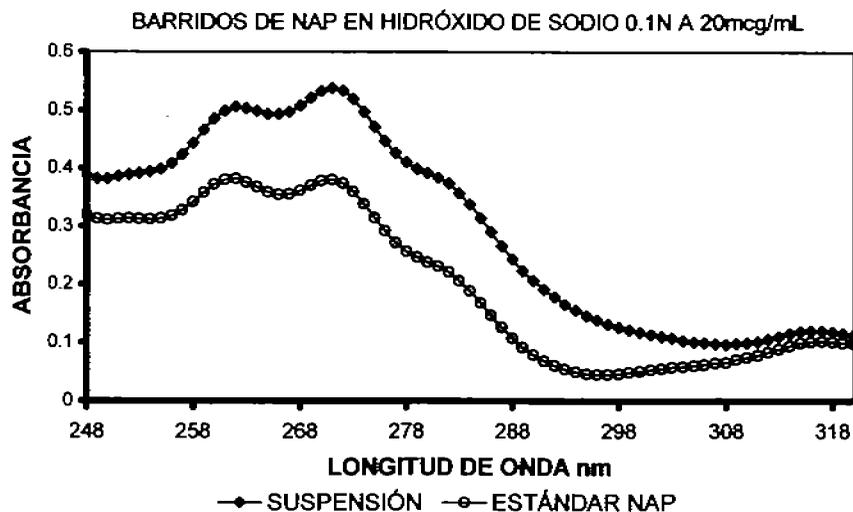


Figura 7. Barridos de NAP en suspensión y NAP SR a (20mcg/mL), en Hidróxido de sodio 0.1N. En el intervalo espectral de 248-320nm.

En las figuras 4, 5, 6 y 7 se observan los espectros realizados en los diferentes medios de dilución para la muestras de suspensión de Naproxeno y estándar de Naproxeno. Como se observa en la figura 4, al usar búfer de fosfatos a pH 8.0 se presenta un incremento de absorbancia muy marcado debido a la presencia de los excipientes en toda la región espectral comprendida de 248 a 320nm; es posible que parte de los excipientes estén en solución y presenten absorbancia en la toda la región del espectro.

En la figura 5, se muestra el espectro obtenido al usar ácido clorhídrico 0.1N, el cual muestra que algunos de los excipientes presentan absorbancia en la región espectral comprendida de 248 a 280 y en el resto del espectro se observa un comportamiento en el que los espectros se solapan; esto es un indicativo de que los excipientes no presentan absorbancia en el resto de la región espectral y que la señal está dada por el analito.

En espectro mostrado en la figura 6 se obtuvo al utilizar como medio de dilución metanol. En este gráfico se muestra un comportamiento similar al del medio ácido, pero el aumento en la absorbancia de los excipientes se presenta a mayores longitudes de onda que van desde 248 a 290 y el resto del espectro no presenta un incremento muy marcado en la absorbancia.

En la figura 7 se muestra el comportamiento espectral que presentó la muestra de Naproxeno en suspensión y el NAP estándar dando un incremento en la absorbancia para la suspensión de NAP, y ésta se encuentra en toda la región del espectro, por lo que existe la posibilidad de interferencia por parte de los excipientes de la suspensión. En este medio es posible establecer que gran parte de los excipientes de la formulación están en solución y que estos excipientes presentan absorbancia en la misma región del espectro.

Para establecer si el método de mínimos cuadrados parciales (MCP), es aplicable en la cuantificación de Naproxeno se decidió que el medio adecuado para el análisis y desarrollo del método fuera medio alcalino (hidróxido de sodio 0.1N), ya que el medio alcalino es fácil de preparar, es económico, y más estable que las otras soluciones.

ADITIVIDAD E INTERFERENCIA

Para determinar las posibles interferencias que pueden presentar los excipientes en el método, se obtuvo un espectro de absorción para los excipientes, en una región espectral de 248 a 350.

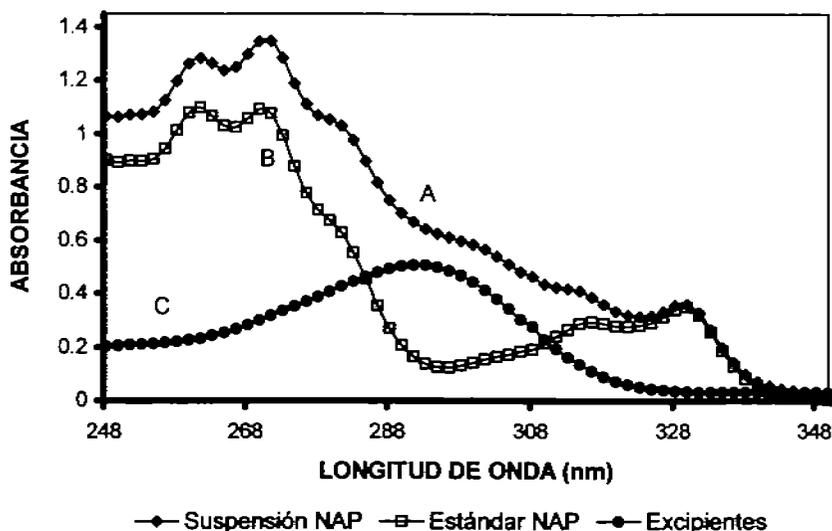


Figura 8. Espectros de absorción obtenidos a 50mcg/mL para la suspensión de Naproxeno (A), Naproxeno estándar (B) y los excipientes de la formulación (C), en un intervalo espectral de 248 a 350nm en medio alcalino (solución de Hidróxido de sodio 0.1N).

En la figura 8. Se muestra el gráfico obtenido de la muestra de suspensión, de estándar de Naproxeno y de los excipientes de la formulación. Como se ve, hay interferencia ocasionada por parte de los excipientes en gran parte de la región espectral, lo que indica que gran cantidad de los excipientes presenta propiedades de absorción.

## PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS REALIZADO PARA EL DESARROLLO DEL MÉTODO.

### SELECCIÓN DE LA REGIÓN ESPECTRAL PARA LA CUANTIFICACIÓN DE NAPROXENO.

En el método de matrices para MCP la elección de las longitudes de onda en el espectro es importante, para realizar las lecturas espectrofotométricas de las muestras, y que su tratamiento matemático sea el más adecuado. Se sugirieron 23 longitudes de onda tomando en cuenta algunos puntos de inflexión, como máximos, mínimos y hombros marcados con flechas en el espectro puro para el analito de interés (NAP), que son lo más representativos, ( ver figura abajo).

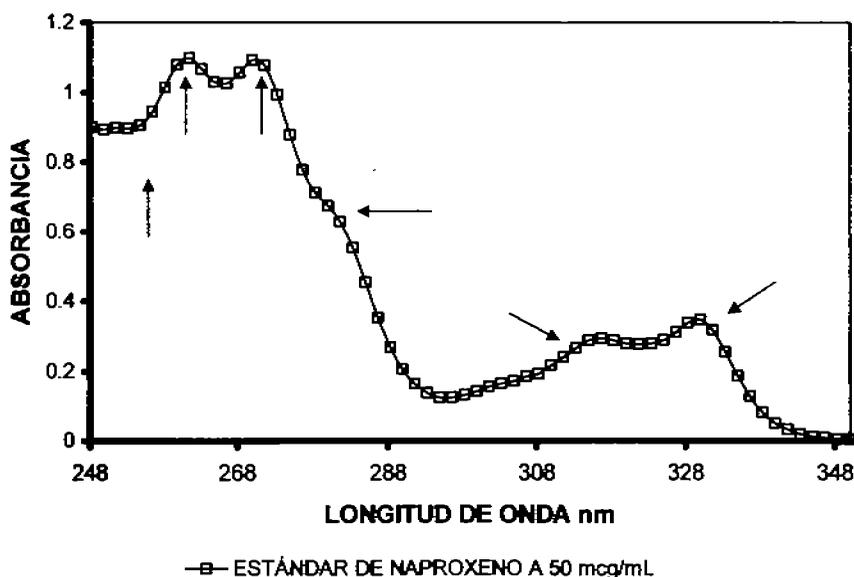


Figura 9. Gráfico del espectro puro para el estándar de Naproxeno a (50mcg/mL), en un intervalo espectral de 248 a 350nm con la solución de Hidróxido de sodio 0.1N.

De acuerdo con lo anterior y al barrido de Naproxeno mostrado en la figura 9, se eligieron las longitudes de onda donde se encuentran los rasgos característicos del analito, estas longitudes de onda se encuentran dentro del intervalo espectral de 248 a 340, mostrado con las flechas en el gráfico, utilizando las siguientes longitudes de onda para el análisis (339, 335, 333, 330, 327, 325, 290, 285, 284, 281, 280, 277, 275, 272, 270, 269, 267, 261, 258, 256, 254, 249, 242nm).

### ELECCIÓN DE LAS SOLUCIONES PATRÓN

Para establecer las soluciones que conformarán la matriz de calibración, se construyó una curva de calibración en la cual se prepararon 15 concentraciones de estándar de NAP, obtenidas a partir de una solución stock, las soluciones se leyeron a las 23 longitudes de onda establecidas. Posteriormente se determinó el número de factores óptimo con los datos estandarizados y se realizó el gráfico de valores del SCERP contra número de factores mostrado en la figura 10. A continuación se evaluó la capacidad de predicción del modelo de mínimos cuadrados parciales (MCP), con el uso de la validación cruzada y se realizaron gráficos de concentración real en función de la concentración estimada (figura 11).

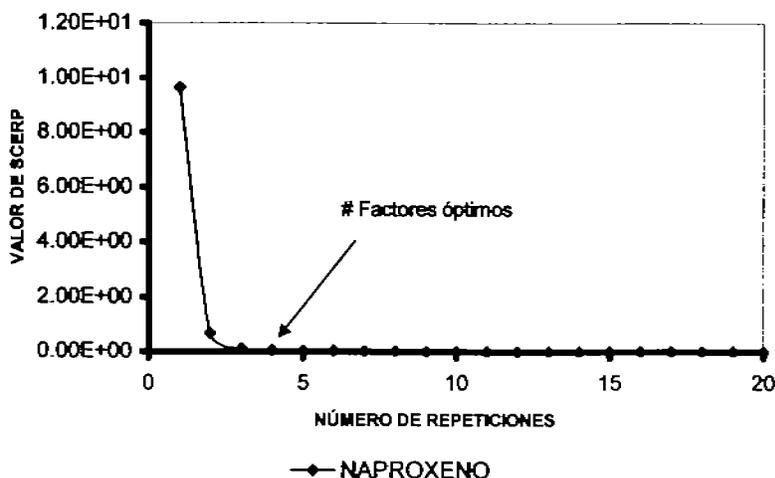


Figura 10. Gráfico del valor de SCERP en función del número de repeticiones.

En la figura 10 se observa el gráfico obtenido de la SCERP. Con él se obtiene el número de repeticiones a utilizar en el método de MCP para establecer la capacidad predictiva en las soluciones estándar y los ensayos de suspensión. El número de repeticiones que se utilizó en la estimación fue el factor de 4, ya que presenta mejor estimación en la curva de calibración.

Tabla 1. Resultados de las soluciones estándar de Naproxeno que conforman la matriz de calibración.

Solución Estándar	Concentración Estimada de NAP (mcg/mL)	Concentración real de NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
1	34.512	34.504	-0.02%
2	17.3451	17.252	-0.54%
3	51.6986	51.756	0.11%
4	17.2317	17.252	0.12%
5	34.4454	34.504	0.17%
6	51.7091	51.756	0.09%
7	86.261	86.26	0.00%
8	51.9143	51.756	-0.31%
9	17.2342	17.252	0.10%
10	34.4404	34.504	0.18%
11	86.2578	86.26	0.00%
12	69.0119	69.008	-0.01%
13	86.2491	86.26	0.01%
14	69.0174	69.008	-0.01%
15	69.012	69.008	-0.01%

En la tabla 1, se presentan los resultados obtenidos en la curva de calibración, utilizando el factor de 4 obtenido en la figura 10. Con él se evaluó la capacidad predictiva de la curva de calibrado. Esta capacidad de predicción se estableció calculando el porcentaje de desviación entre las concentraciones con la siguiente relación  $(\text{CONC. ESTIMADA} - \text{CONC. REAL})/\text{CONC. REAL} \times 100$ . Los valores de porcentaje estuvieron por debajo del 2%. Para establecer la validación cruzada se realizó un gráfico, de concentración estimada en función de la concentración real (Figura 11), y también se establece que estas concentraciones presentan linealidad mostrado con los parámetros estadísticos del gráfico.

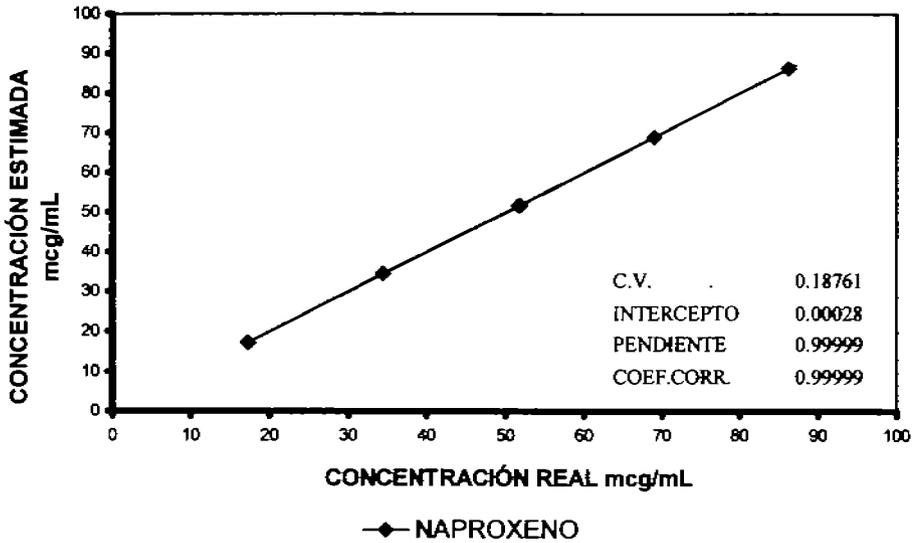


Figura 11. Gráfico de concentración estimada en función de la concentración real de Naproxeno (NAP), aplicando el método de mínimos cuadrados parciales.

### ENSAYO

1. Agitar la suspensión y pesar de ella en un vaso de precipitado de 100mL el equivalente a la cantidad de 125mg de Naproxeno en una balanza analítica.
2. Adicionar aproximadamente 30mL de la solución de hidróxido de sodio al vaso de precipitados.
3. Agitar manualmente con una varilla de vidrio hasta una completa disolución.
4. Verter el contenido a un matraz volumétrico de 100mL, enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con 10mL de la solución de hidróxido de sodio y verter el contenido al matraz volumétrico.
5. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio.

6. Filtrar la solución con un papel filtro marca watman No. 42.
7. Tomar con una pipeta volumétrica de 2mL de la solución filtrada y verter su contenido en un matraz volumétrico de 50mL.
8. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio.
9. Tomar las lecturas de absorbancia correspondientes en el espectrofotómetro Cary a: 339, 335, 333, 330, 327, 325, 290, 285, 284, 281, 280, 277, 275, 272, 270, 269, 267, 261, 258, 256, 254, 249, 242nm.

#### **CONDICIONES FINALES DE ANÁLISIS**

1. Las muestras analizadas deben estar en medios de dilución de hidróxido de sodio 0.1N
2. En cada ensayo, se deben preparar 15 soluciones estándar que conforman la matriz de calibración.
3. Las soluciones estándar y muestras del análisis deben leerse a las longitudes de onda de 339, 335, 333, 330, 327, 325, 290, 285, 284, 281, 280, 277, 275, 272, 270, 269, 267, 261, 258, 256, 254, 249, 242nm.

### SISTEMA DE CALIBRACIÓN

1. Pesar en un vaso de precipitado de 100mL la cantidad aproximada de 40mg de Naproxeno estándar en una balanza analítica.
2. Adicionar al vaso la cantidad de 40mL de la solución de hidróxido de sodio, agitar manualmente con una varilla de vidrio hasta la completa disolución.
3. Transvasar la solución a un matraz volumétrico de 100ml.
4. Enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con la cantidad aproximada a 20mL de la solución de hidróxido de sodio y transferir el contenido al matraz volumétrico de 100mL.
5. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio (Solución stock).

Tomar con una pipeta volumétrica de 1mL de la solución stock, y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 25mL. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio **(solución 1)**.

Tomar con una pipeta volumétrica de 2mL de la solución stock, y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25mL, llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio **(solución 2)**.

Tomar con una pipeta volumétrica de 3mL de la solución stock y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 25mL, llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio **(solución 3)**.

Tomar con una pipeta volumétrica de 4mL de la solución stock y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25mL, llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio **(solución 4)**.

Tomar con un pipeta volumétrica de 5mL de la solución stock y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25mL, llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio **(solución 5)**.

Preparar las soluciones de la 1 a la 5 por triplicado y Tomar las lecturas correspondientes en el espectrofotómetro Cary a: 339, 335, 333, 330, 327, 325, 290, 285, 284, 281, 280, 277, 275, 272, 270, 269, 267, 261, 258, 256, 254, 249, 242nm.

***CAPÍTULO III***  
***RESULTADOS Y ANÁLISIS***  
***DEL***  
***MÉTODO ANALÍTICO***

### EVALUACIÓN DE LOS ENSAYOS

Para evaluar si el método de MCP, puede ser capaz de predecir la concentración de Naproxeno en las muestras de suspensión, se realizaron por sextuplicado placebos cargados a una concentración de 125mg/5mL de suspensión. Con esto se puede determinar si el método da una estimación adecuada.

Tabla 3. Resultados de los ensayos.

Placebos cargados	Concentración Estimada de NAP(mcg/mL)	Concentración Real NAP(mcg/mL)	Porcentaje Desviación
1	39.3165	49.84	-21.11%
2	40.5397	49.892	-18.75%
3	39.9147	49.828	-19.90%
4	41.0454	49.828	-17.63%
5	39.3658	49.792	-20.94%
6	40.009	49.8228	-19.70%
BLANCO	-8.4146		

Tabla 4. Resultados de los ensayos.

Ensayos	Concentración Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje de desviación
1	40.5664	50.096	-19.023%
2	45.3245	50.68	-10.567%
3	43.9286	50.036	-12.206%
4	43.662	50.048	-12.760%
5	44.1655	50.348	-12.280%
6	42.7791	50.244	-14.857%
BLANCO	-5.6993		

Como se establece en la tabla 3 y 4 el método de mínimos cuadrados parciales no es capaz de hacer una estimación adecuada de los ensayos, obteniéndose porcentajes de desviación elevados, ya que tenemos en cuenta que las especies químicas contenidas en la formulación presentan absorbancia. Esto mostrado en la figura 8, por lo que la interferencia es muy amplia, y se tiene que aplicar una nueva forma de análisis.

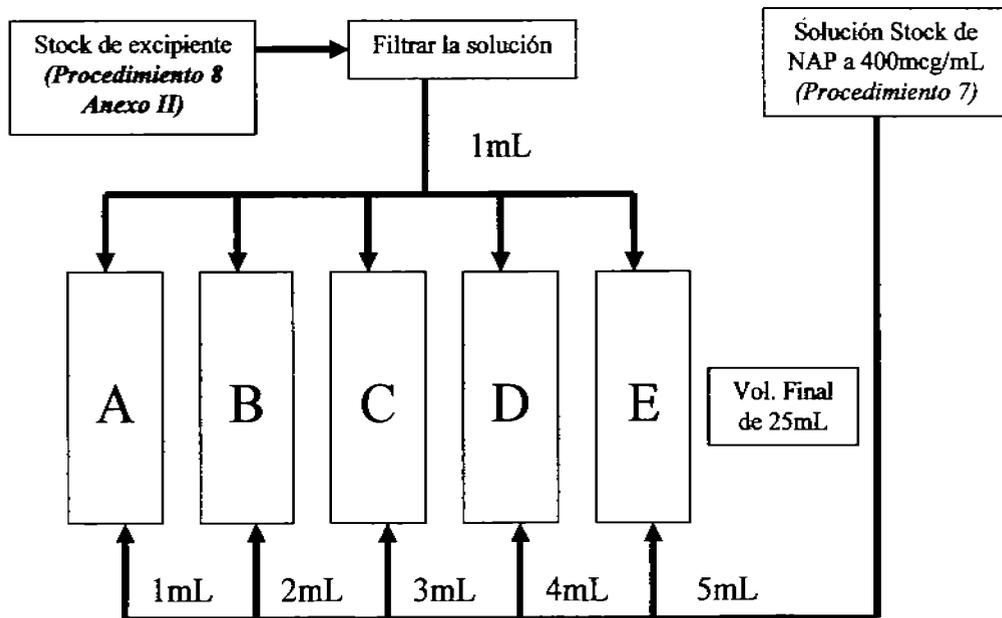
**CURVA DE CALIBRACIÓN MODELADA**

Ya que la curva de calibración anterior no mostraba un comportamiento predictivo adecuado se estableció que era posible que los excipientes no permitieran la estimación en las muestras, por lo que se trató de adicionar a la matriz de calibración nueva información referente a las muestras, de esta forma se implementó una modalidad que fue la incorporación de los excipientes de la suspensión, por lo que se realizó un stock de excipientes, y se adicionó en cada una de las solución de la curva. Estableciéndose lo que denominamos curva de calibración modelada.

(Diagrama de flujo 1).

El propósito de la curva modelada es determinar si incorporando los efectos interferentes ocasionados por parte de los excipientes es posible que la curva pueda realizar una estimación satisfactoria sin la necesidad de manipular excesivamente la muestra.

**DIAGRAMA DE FLUJO 1: CURVA DE CALIBRACIÓN MODELADA.**



**CURVA DE CALIBRACIÓN MODULADA:**

1. Tomar con una pipeta volumétrica, 1mL de la **solución stock** (procedimiento 7), y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 25mL; tomar con una pipeta graduada, 1ml de la **solución A EXC** (procedimiento 8), y verter su contenido al mismo matraz volumétrico de 25mL. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio (**solución 1**).
2. Tomar con una pipeta volumétrica, 2mL de la **solución stock** (procedimiento 7), y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25mL; tomar con una pipeta graduada, 1ml de la **solución A EXC** (procedimiento 8), y verter su contenido al mismo matraz volumétrico de 25mL. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio (**solución 2**).
3. Tomar con una pipeta volumétrica de 3mL de la **solución stock** (procedimiento 7), y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 25mL, tomar con una pipeta graduada, 1ml de la **solución A EXC** (procedimiento 8), y verter su contenido al mismo matraz volumétrico de 25mL. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio (**solución 3**).
4. Tomar con una pipeta volumétrica de 4ml de la **solución stock** (procedimiento 7), y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25mL, tomar con una pipeta graduada, 1ml de la **solución A EXC** (procedimiento 8), y verter su contenido al mismo matraz volumétrico de 25mL. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio (**solución 4**).
5. Tomar con una pipeta volumétrica de 5mL de la **solución stock** (procedimiento 7), y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25mL, tomar con una pipeta graduada, 1ml de la **solución A EXC** (procedimiento 8), y verter su contenido al mismo matraz volumétrico de 25mL. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio (**solución 5**).
6. Preparar las soluciones de la 1 a la 5 por duplicado.
7. Efectuar las lecturas de absorbancia correspondientes a las longitudes de onda establecidas en el espectrofotómetro Cary a: 339, 335, 333, 330, 327, 325, 290, 285, 284, 281, 280, 277, 275, 272, 270, 269, 267, 261, 258, 256, 254, 249, 242nm.

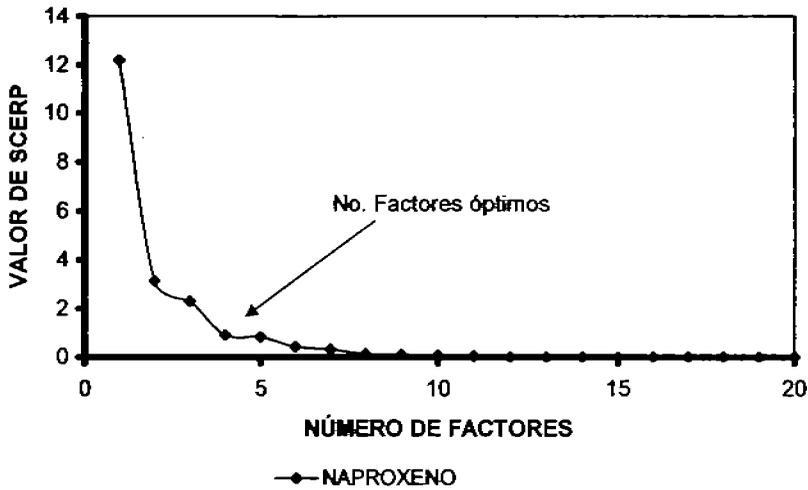


Figura 12. Gráfica de valor de SCERP en función del número de factores. Para la curva de calibración modelada.

### SISTEMA DE CALIBRACIÓN MODELADA

Para establecer la capacidad predictiva de la curva de calibración modelada se realizó el análisis de SCERP aplicando el algoritmo establecido, los valores obtenidos se graficaron y se muestran en la figura 12, obteniéndose el número de factores óptimo a utilizar que fue el número de 4. Con este factor se efectuó la estimación de la curva y de los ensayos.

Los resultados de la estimación de la curva se muestran en la tabla 5, donde el número utilizado muestra una estimación eficiente ya que los porcentajes de desviación están por debajo del 2%. Con los valores obtenidos de la estimación en la curva se grafican los valores obtenidos de la concentración estimada en función de la concentración real para verificar los parámetros estadísticos lo que se conoce como validación cruzada (figura 13), determinando que se tiene una tendencia lineal. Este mismo número de factores se aplica en la muestras de los placebos cargados, con el fin de establecer la capacidad predictiva de la curva modelada.

Tabla 5. Resultados obtenidos de la estimación de la curva de calibración modelada.

Solución Estándar	Concentración. Estimada de NAP (mcg/mL)	Concentración Real de NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
1	84.2086	84.2	-0.01%
2	16.864	16.84	-0.14%
3	67.2661	67.36	0.14%
4	50.2826	50.52	0.47%
5	83.8402	84.2	0.43%
6	50.4212	50.52	0.20%
7	17.0494	16.84	-1.24%
8	84.2918	84.2	-0.11%
9	17.0288	16.84	-1.12%
10	67.9788	67.36	-0.92%
11	33.2716	33.68	1.21%
12	50.6012	50.52	-0.16%
13	33.6425	33.68	0.11%
14	67.5357	67.36	-0.26%
15	33.5174	33.68	0.48%

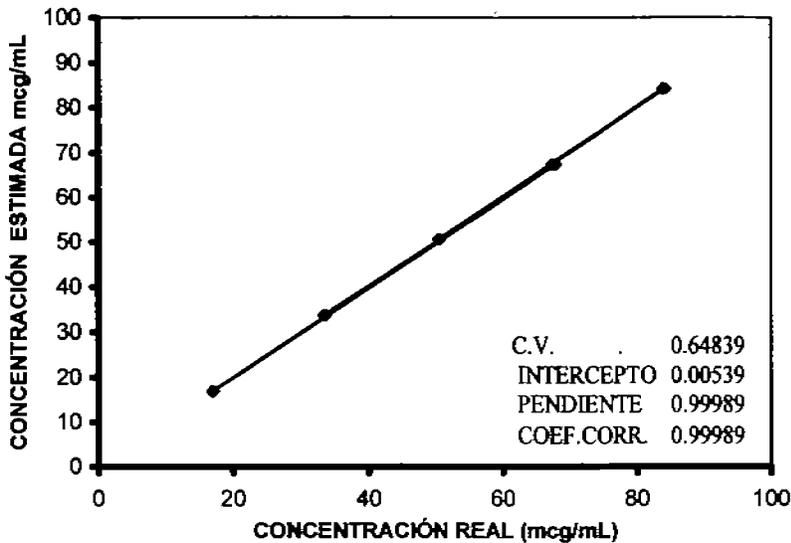


Figura 13. Gráfico obtenido de la validación cruzada entre la concentración real y la concentración estimada.

Tabla 6. Resultados obtenidos de los ensayos en la curva de calibración modelada.

Ensayos	Concentración Estimada NAP(mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
1	44.3458	49.844	-11.03%
2	45.704	49.884	-8.38%
3	46.2142	49.736	-7.08%
4	45.4458	49.928	-8.98%
5	45.5242	50.008	-8.97%
6	45.4328	49.86	-8.88%
BLANCO	1.6156		

En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos de la estimación de 6 placebos cargados preparados mediante el procedimiento 5 (*anexo II*), obteniendo resultados desviados con respecto del valor real, los porcentaje de desviación son elevados con lo que podemos determinar que la curva de calibración modelada no presenta una buena capacidad predictiva a un modelando los excipientes de la formulación dentro de la curva de calibración, por lo que no se puede aplicar esta modalidad de curva.

Puesto que la modelación resulta inadecuada para la cuantificación de Naproxeno en suspensión se establece verificar en que punto de la interferencia podemos aplicar el método de mínimos cuadrados parciales, para lo cual se realiza una disminución de la interferencia.

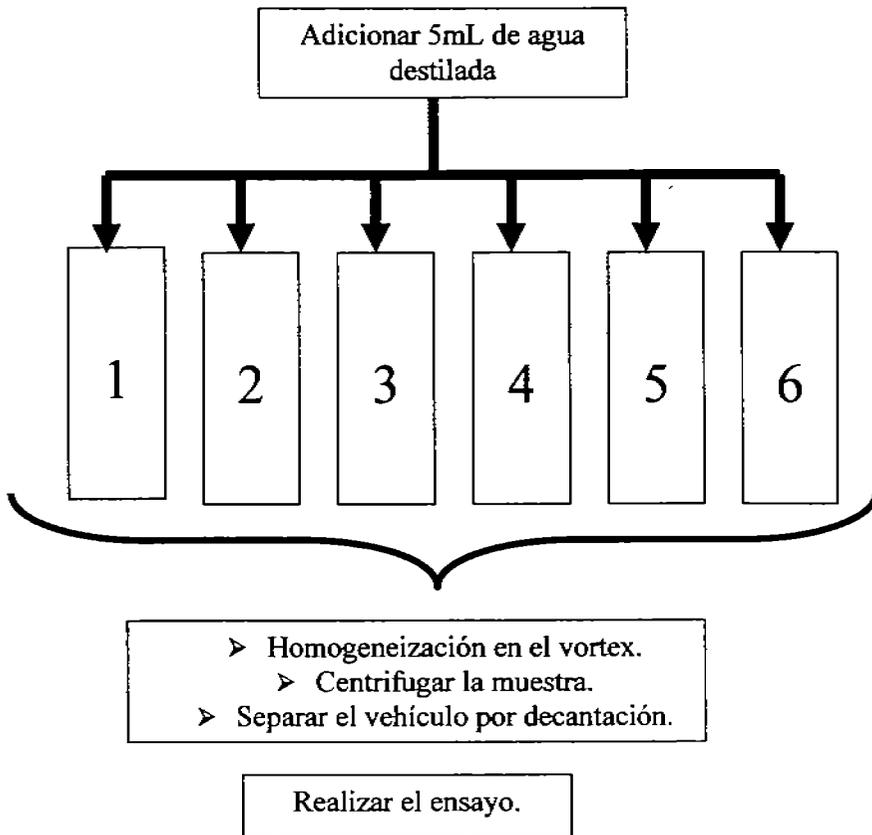
#### DISMINUCIÓN DE LA INTERFERENCIA DENTRO DE LOS ENSAYOS:

Uno de los aspectos importantes dentro del análisis era que la interferencia ocasionada por parte de los excipientes es muy alta y que la predicción de las muestras no era la adecuada. Por lo que se decidió realizar un procedimiento en el que se disminuyeran las especies interferentes en la muestra.

### MODIFICACIÓN DE LA MUESTRA PARA LOS ENSAYOS.

Se estableció una variación dentro de los ensayos. Este procedimiento se aplica para retirar gran parte de los excipientes de la formulación, y verificar si el método de MCP es aplicable en la cuantificación del analito de interés. Se tiene la hipótesis de que el mayor agente de interferencia es el color por lo que con la centrifugación y decantación de la muestra se elimina gran parte del vehículo de la formulación (*Procedimiento 6; Anexo II*).

#### DIAGRAMA DE FLUJO 2: PARA EL TRATAMIENTO DE LA MUESTRA



### ENSAYO.

1. Adicionar al tubo de plástico la cantidad de 5ml de hidróxido de sodio 0.1N, y agitar en el vortex
2. Verter el contenido a un matraz volumétrico de 100ml, repetir el paso anterior hasta retirar todo el sólido contenido en el tubo de plástico. y verter el contenido al mismo matraz volumétrico de 100ml.
3. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N. (solución problema).
4. Filtrar la solución anterior con un papel filtro Watman No. 40.
5. Tomar con una pipeta volumétrica de 2ml de la solución filtrada, y verter su contenido en un matraz volumétrico de 50ml.
6. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N.
7. Realizar del paso 1 al paso 8, por sextuplicado.
8. Tomar las lecturas de absorbancia correspondientes en el espectrofotómetro Cary. 339, 335, 333, 330, 327, 325, 290, 285, 284, 281, 280, 277, 275, 272, 270, 269, 267, 261, 258, 256, 254, 249, 242nm.

### CALIBRACIÓN.

Se realizó una calibración tomando en cuenta las concentraciones anteriormente mostradas (pagina 33), la curva de calibrado se sometió al algoritmo correspondiente del método de MCP, obteniéndose el grafico de SCERP figura 14, dando como resultado la obtención del número de repeticiones más adecuado, utilizando el factor de 4.

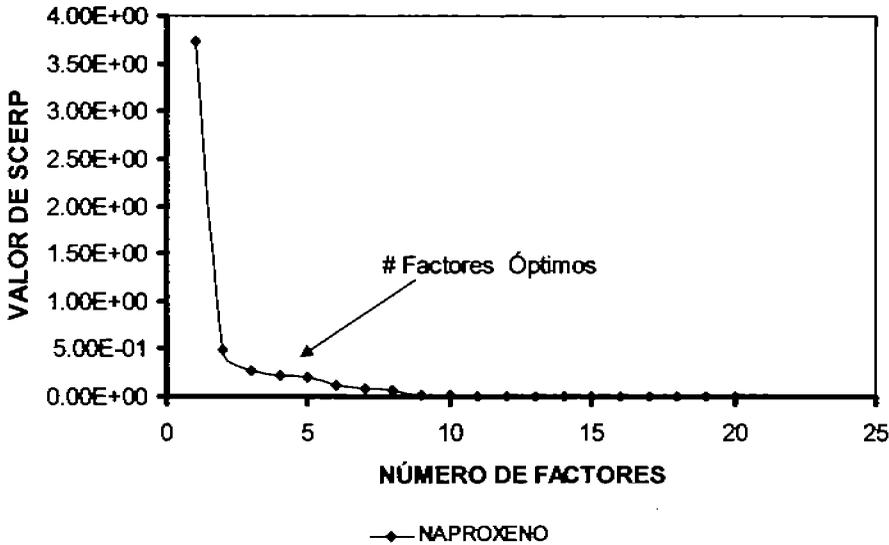


Figura 14. Gráfico de SCERP obtenido para las soluciones de la curva de calibración.

En la tabla 7, se observan los resultados obtenidos para la curva de calibración. Los porcentajes de desviación menores al 2% por lo que observa una buena estimación. Para establecer que los parámetros estadísticos están dentro de los criterios de aceptación se realiza un gráfico de validación cruzada entre la concentración estimada en función de la concentración real (figura 15).

Tabla 7. Resultados obtenidos de la curva de calibración.

Solución Estándar.	Concentración Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje De desviación
1	80.8414	80.76	-0.10%
2	16.2205	16.152	-0.42%
3	48.4414	48.456	0.03%
4	64.383	64.608	0.35%
5	32.3154	32.304	-0.04%
6	80.784	80.76	-0.03%
7	48.4846	48.456	-0.06%
8	15.9426	16.152	1.30%
9	48.4459	48.456	0.02%
10	16.2841	16.152	-0.82%
11	64.564	64.608	0.07%
12	80.6529	80.76	0.13%
13	32.2085	32.304	0.30%
14	64.8662	64.608	-0.40%
15	32.4056	32.304	-0.31%

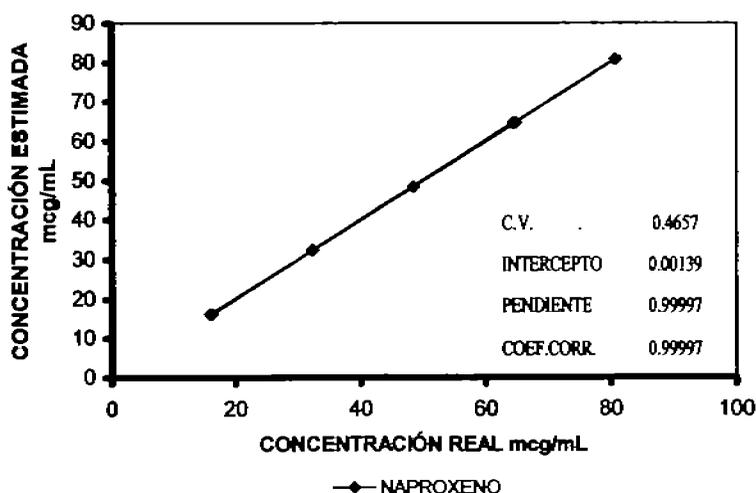


Figura 15. Gráfico de regresión de la concentración estimada en función de la concentración real de la validación cruzada.

**EVALUACIÓN DE LOS ENSAYOS SIN VEHÍCULO.**

Para establecer la capacidad de predicción en las muestras se realizan ensayos sin vehículo, obteniendo los resultados en la tabla 8, con este procedimiento podemos verificar que la predicción es adecuada, ya que se disminuyen en gran parte de los excipientes de la formulación que absorben. En la tabla 9 se muestran los porcentajes de recobro obtenidos en los ensayos. Estos porcentajes se calcularon con el fin de establecer si el método es exacto con la prueba estadística de *t* obteniendo un valor de -0.2011 y comparado con el valor de tablas que es de 2.571 podemos concluir que es exacto, pero teniendo en cuenta que ese procedimiento se puede aplicar si se conoce el comportamiento de la suspensión, los sistemas dispersos pueden presentar un comportamiento diferente entre formulaciones, y este es, que algunos de los excipientes de la formulación floten debido a su densidad, por lo que el procedimiento no se puede aplicar. Otra limitante es que las suspensiones contienen surfactantes que facilitan el mojado del activo, si separamos por centrifugación y decantación pudiéramos perder cantidad de analito en el ensayo. Ya que una parte del analito de interés pudiera disolverse en el vehículo.

Tabla 8. Resultados obtenidos de los ensayos.

Placebos Cargados	Concentración Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP ( mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
1	50.7177	50.52	0.39%
2	49.5857	50.46	-1.76%
3	50.1808	50.584	-0.80%
4	49.8751	50.716	-1.69%
5	51.065	50.492	1.12%
6	51.2641	50.716	1.07%
BLANCO	1.504		

Tabla 9. Porcentaje recuperado de los ensayos.

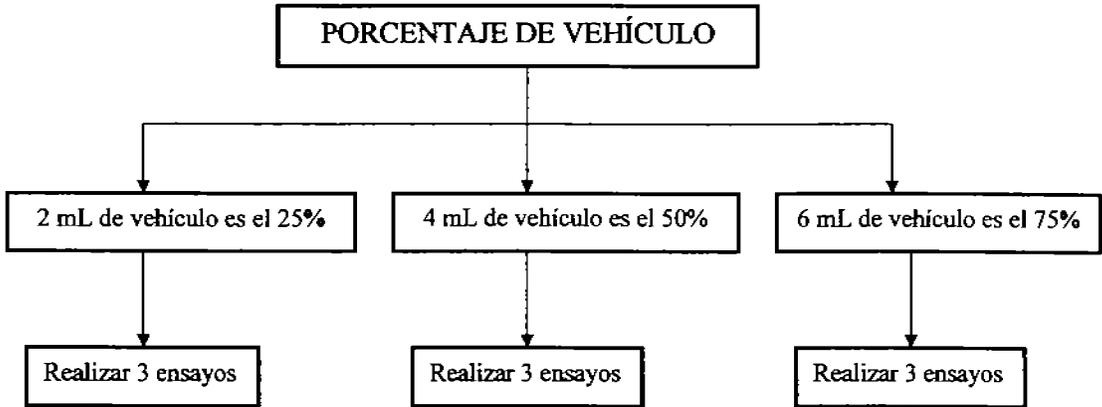
Cantidad Real mg de NAP	Cantidad Estimada mg de NAP	% Recuperado
126.3	126.79425	100.3913302
126.15	123.96425	98.26734047
126.46	125.452	99.20291001
126.79	124.68775	98.34194337
126.23	127.6625	101.1348332
126.79	128.16025	101.080724

PROMEDIO	99.73651355
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	1.309886472
C.V	1.31%
VALOR T DE TABLAS	2.571
PRUEBA DE T	-0.201152128

### EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE INTERFERENCIA DENTRO DE LAS MUESTRAS.

Para determinar qué porcentaje de vehículo es el causante de la interferencia, se llevo acabo la modificación de las muestras (*diagrama de flujo 3*). Con esté procedimiento se espera obtener información sobre el nivel de interferencia de los excipientes contenidos en la formulación.

**DIAGRAMA DE FLUJO 3: PARA EL PORCENTAJE DE VEHÍCULO.**



El objetivo de este procedimiento es evaluar algunas características del método en el cual se pueda establecer si reduciendo las especies interferentes es posible dar una estimación adecuada, determinar qué tan intensa era la interferencia por parte de los excipientes y verificar si el método de mínimos cuadrados parciales puede cuantificar con esta disminución, o hasta que grado el método soportaba la interferencia, con lo que se realizó un análisis con variación en el porcentaje de vehículo dentro del ensayo (*procedimiento 10. Anexo II*).

**CALIBRACIÓN**

Se realizó una curva de calibración basándose en las concentraciones ya establecidas (Pág. 33), la curva contiene 5 concentraciones por triplicado.

Aplicando el algoritmo correspondiente de MCP se obtenemos el número de repeticiones óptimo a utilizar durante el análisis figura 16, obteniendo como número de repeticiones adecuado de 3.

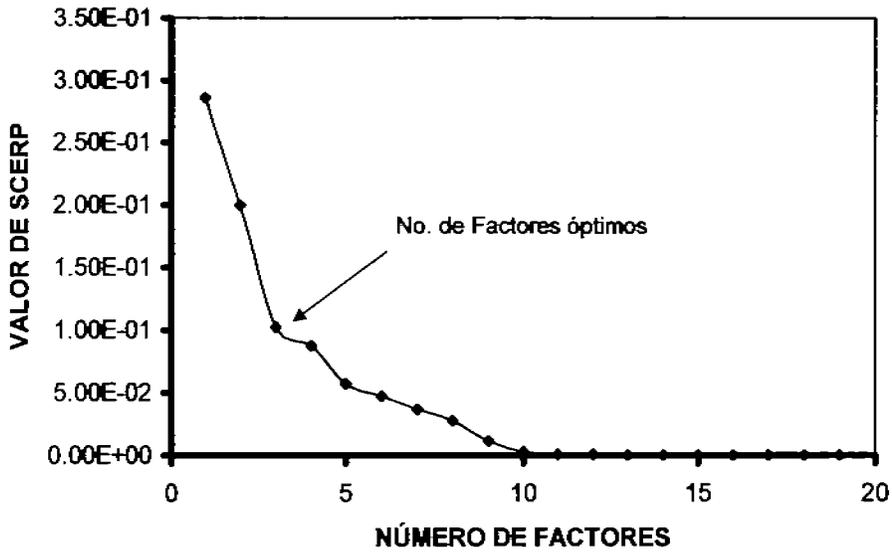


Figura 16. Gráfico de SCERP obtenidos para la curva de calibración.

Tabla 10. Resultados obtenidos de la curva de calibración.

Solución Estándar	Concentración Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
1	64.8603	64.8	-0.09%
2	80.9566	81	0.05%
3	16.0985	16.2	0.63%
4	64.6395	64.8	0.25%
5	81.0221	81	-0.03%
6	64.6558	64.8	0.22%
7	32.4442	32.4	-0.14%
8	32.4035	32.4	-0.01%
9	81.0947	81	-0.12%
10	48.6527	48.6	-0.11%
11	32.4104	32.4	-0.03%
12	16.2921	16.2	-0.57%
13	48.6236	48.6	-0.05%
14	16.1347	16.2	0.40%
15	48.7114	48.6	-0.23%

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos de la estimación de la curva de calibración con un número de repeticiones de 3, en la cual los porcentajes de desviación obtenidos están por debajo del 2%. Por lo que la estimación de las concentraciones de la curva son adecuados.

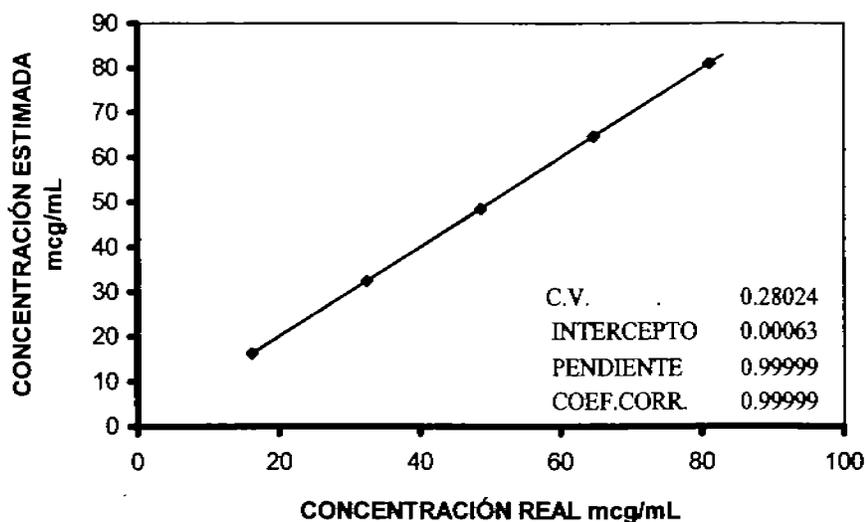


Figura 17. Gráfico de validación cruzada entre la concentración estimada en función de la concentración real para Naproxeno.

En la figura 17 se muestra el gráfico de linealidad entre los valores de concentración estimada en función de la concentración real con lo que se obtiene los parámetros estadísticos para determinar que estos resultados muestran una tendencia lineal, con un CV menor al 2% y el coeficiente de correlación cercano a 1.

**RESULTADOS DE LOS ENSAYOS.**

Se realizaron 3 ensayos a cada porcentaje de vehículo.

Tabla 11. Resultados obtenidos de las estimaciones de los ensayos a diferente porcentaje de vehículo, en la curva de calibración.

Ensayos	Concentración Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
Ensayo 25%	49.2247	49.936	1.42%
Ensayo 25%	49.0653	49.752	1.38%
Ensayo 25%	49.1738	49.988	1.63%
Ensayo 50%	48.7834	50.328	3.07%
Ensayo 50%	48.0484	49.488	2.91%
Ensayo 50%	48.9144	50.456	3.06%
Ensayo 75%	47.4111	50.064	5.30%
Ensayo 75%	48.0706	50.344	4.52%
Ensayo 75%	47.3581	50.216	5.69%

Tabla 12. Resultados de los ensayos a un nivel de 100% de vehículo.

Ensayos	Concentración Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
Ensayo 100%	46.7385	50.44	7.34%
Ensayo 100%	46.8848	49.904	6.05%
Ensayo 100%	46.4491	50.04	7.18%
BLANCO	-3.5274		

Las tablas 11 y 12 muestran los resultados obtenidos de la estimación de los ensayos, con la variación en los porcentajes de vehículo, realizados para determinar si con disminución de la interferencia es posible una estimación adecuada, se obtuvo en el 25% de vehículo una estimación satisfactoria en la concentración de NAP. Siendo lo contrario para los ensayos con porcentajes de vehículo de 50,75 y 100% dado que presentaron porcentajes de desviación por arriba del 2% por lo que el método soporta interferencias hasta el nivel de 25% de vehículo, por lo tanto se debe de establecer una nueva búsqueda de condiciones para cuantificar el analito sin la manipulación de la muestra.

**NUEVAS CONDICIONES DE ANÁLISIS PARA EL DESARROLLO DEL MÉTODO.**

En forma experimental se pudo determinar que el método analítico de mínimos cuadrados parciales no es capaz de establecer una adecuada predicción de las muestras de Naproxeno en suspensión en medio alcalino, por lo que se establece la búsqueda de nuevas condiciones que nos permitan cuantificar sin la manipulación de la muestra y de una manera más sencilla.

En el ensayo para disolver la muestra se utilizó el medio alcalino (hidróxido de sodio 0.1N), y al llevar a volumen de aforo en la segunda dilución se utilizó el medio ácido. De esta forma Se establecieron nuevas condiciones de análisis en el ensayo.

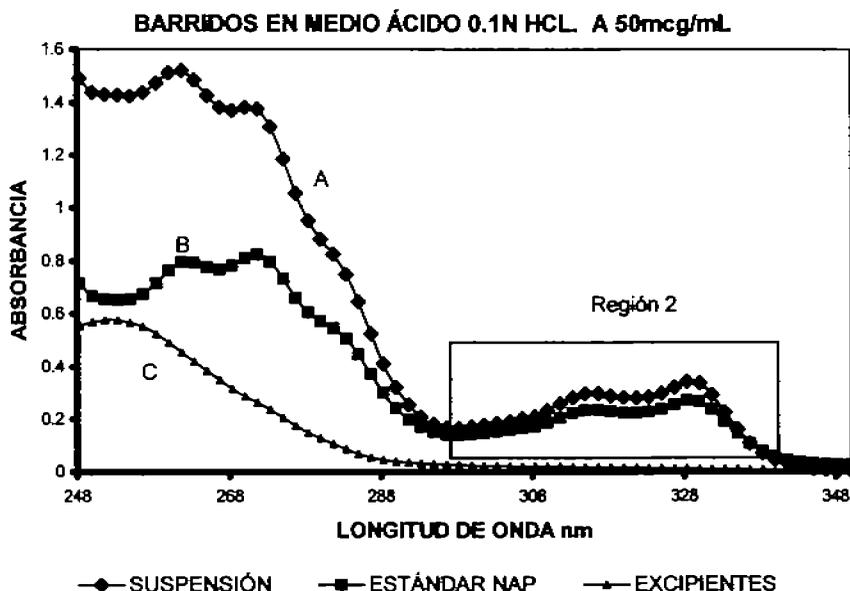


Figura 18. Espectro de absorción de la suspensión (A), estándar de Naproxeno (B), y de los excipientes de la formulación (C).

En la figura 18 se muestra el comportamiento espectral de la muestra de suspensión, estándar de NAP y de los excipientes de la formulación, en ella se verifica la interacción de los excipientes dentro del ensayo. La región del espectro en la que se encuentra la aditividad más marcada es la región comprendida dentro de 248 a 288nm.

Esta interferencia afecta la estimación del analito de interés, por lo que se optó por utilizar la otra parte del espectro (región 2), donde la interferencia es menor, en este caso se toman las longitudes de onda en donde se marcó como región 2 (recuadro), obteniendo un gráfico más específico de la zona de análisis.

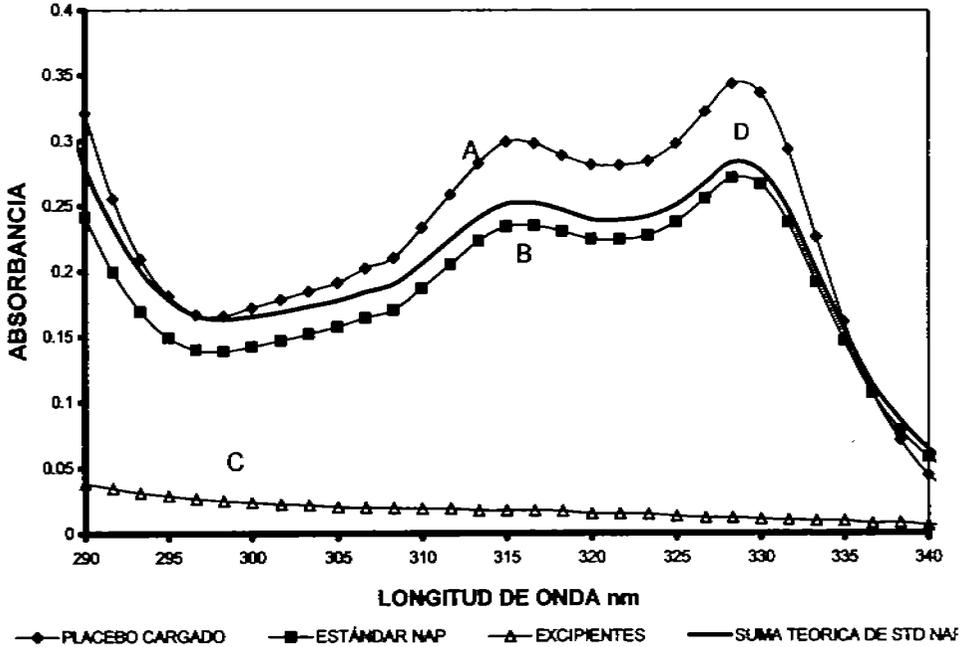


Figura 19. Comportamiento espectral de la suspensión (A), Estándar de Naproxeno (B), y excipientes (C), suma teórica de la Abs del estándar de NAP y los excipientes (D). En la región del espectro comprendida de 290 a 340nm.

En la figura 19 se muestra el comportamiento del espectro en la muestra de suspensión, estándar de NAP y excipientes obtenido de la región 2 mostrada en el recuadro de la figura 18. En esta figura se observa que el espectro de Naproxeno estándar, se encuentra por debajo de la muestra ambas a la misma concentración (50mcg/mL), lo que nos indica que una pequeña cantidad de estándar de Naproxeno está precipitando recordando que la naturaleza de la molécula de Naproxeno es ácida. Esto se determinó haciendo un ajuste en las longitudes de onda, si se suma la absorbancia de los excipientes, a la absorbancia del estándar NAP (trazo D), se tendría igual magnitud que el espectro de la suspensión, en toda la región del espectro, lo que indicaría que el

espectro de la suspensión se solaparía con el espectro del estándar de NAP. En el caso de los excipientes de la formulación vemos que la interferencia no es muy intensa. Por esta razón decimos que se está precipitando el estándar de NAP.

#### **MODIFICACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES EN LA CURVA DE CALIBRACIÓN EN MEDIO ÁCIDO HCL 0.1N.**

Ya que en los barridos mostrados en la figura 19. Se mostraba un comportamiento disminuido en la absorbancia por parte del estándar de Naproxeno, y al realizar la curva de calibración a las concentraciones ya establecidas estas soluciones precipitaban por lo que se establecieron nuevas concentraciones en la matriz de calibración, las concentraciones se establecen en 5, 10, 15, 20, 25mcg/mL, y la concentración final del ensayo es de 15mcg/mL.

Para obtener la región espectral que se utilizará en el análisis en medio ácido, se toma el comportamiento espectral del analito puro solución ((B) figura 19). Las longitudes de onda que se utilizarán durante el análisis estarán dentro del intervalo espectral de 284-340nm, seleccionando las longitudes de onda con los puntos característicos del espectro puro, estableciendo como nuevas longitudes de onda. 340, 336, 333, 331, 330, 328, 326, 323, 320, 318, 315, 313, 310, 308, 304, 300, 295, 293, 290, 288, 286, 284nm.

### SISTEMA DE CALIBRACIÓN.

1. Tomar con una pipeta volumétrica de 1mL de la solución stock (procedimiento 11), y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 25mL. Llevar a la marca de aforo con la solución de ácido clorhídrico 0.1N, (solución 1).
2. Tomar con una pipeta volumétrica de 2mL de la solución stock (procedimiento 11), y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25mL, llevar a la marca de aforo con la solución de ácido clorhídrico 0.1N, (solución 2).
3. Tomar con una pipeta volumétrica de 3mL de la solución stock (procedimiento 11), y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 25mL, llevar a la marca de aforo con la solución de ácido clorhídrico 0.1N (solución 3).
4. Tomar con una pipeta volumétrica de 4mL de la solución stock (procedimiento 11), y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25mL, llevar a la marca de aforo con la solución de ácido clorhídrico 0.1N (solución 4).
5. Tomar con una pipeta volumétrica de 5mL de la solución stock (procedimiento 11), y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25mL, llevar a la marca de aforo con la solución de ácido clorhídrico 0.1N (solución 5).
6. Preparar las soluciones de la 1 a la 5 por triplicado.
7. Efectuar las lecturas de absorción correspondientes a las longitudes de onda establecidas en el espectrofotómetro Cary. 340, 336, 333, 331, 330, 328, 326, 323, 320, 318, 315, 313, 310, 308, 304, 300, 295, 293, 290, 288, 286, 284nm.

RESULTADOS DEL VALOR DE SCERP EN MEDIO ÁCIDO.

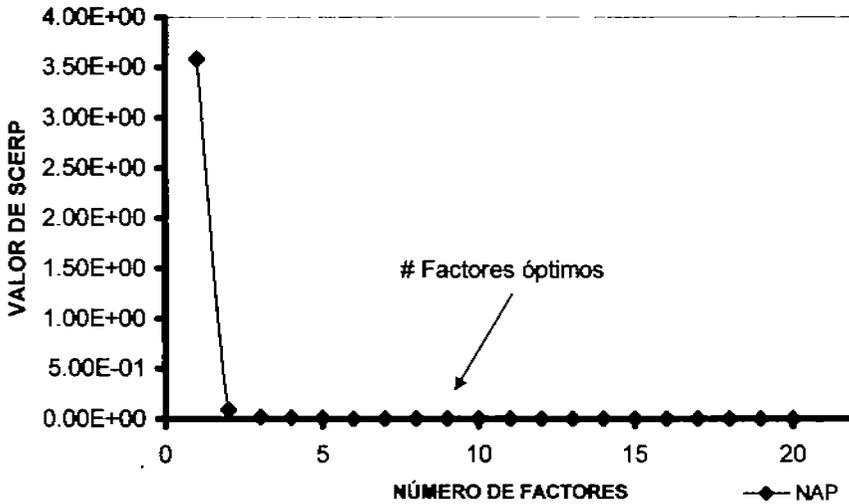


Figura 20. Gráfico de SCERP en la curva de calibrado en medio ácido.

En la figura 20 se obtuvo el gráfico de la SCERP con el que se obtuvo el número de 9 repeticiones y Aplicando el algoritmo de MCP se realizan las estimaciones de las concentraciones de la curva de calibración obteniendo 3 soluciones con valores en el porcentaje de desviación mayores al 2% por lo que se retiraron de la curva<sup>[13]</sup> (tabla 13). Con estos resultados se establece que la capacidad de predicción es adecuada para el análisis en medio ácido.

Tabla 13. Resultados de la estimación de la curva de calibración a un factor de 9.

Solución Estándar	Concentración Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
1	10.9156	10.912	0.033%
2	21.8227	21.824	-0.006%
3	16.3714	16.368	0.021%
4	16.3665	16.368	-0.009%
5	21.8229	21.824	-0.005%
6	10.9126	10.912	0.005%
7	27.2785	27.28	-0.005%
8	5.4523	5.456	-0.068%
9	27.2792	27.28	-0.003%
10	10.9113	10.912	-0.006%
11	21.8272	21.824	0.015%
12	16.3679	16.368	-0.001%

### NUEVO PROCEDIMIENTO DE ENSAYO.

1. Agitar la suspensión y pesar de ella en un vaso de precipitado de 100mL el equivalente a la cantidad de 125mg de Naproxeno en una balanza analítica.
2. Adicionar aproximadamente 30mL de la solución de hidróxido de sodio al vaso de precipitados.
3. Agitar manualmente con la varilla vidrio hasta una completa disolución.
4. Verter el contenido a un matraz volumétrico de 100ml, enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con 10ml de la solución de hidróxido de sodio y verter el contenido al matraz volumétrico y llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio. (solución PB1).
5. Tomar con una pipeta volumétrica de 6ml de solución anterior y verter su contenido en un matraz volumétrico de 50ml.

6. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N (solución PB2).
7. Filtrar la solución PB2 y Tomar con una pipeta volumétrica de 5mL de la solución filtrada, y verter el contenido en un matraz volumétrico de 50mL.
8. Llevar a volumen de aforo con la solución de ácido clorhídrico 0.1N.
9. Realizar del paso 1 al paso 9, por triplicado.
10. Tomar las lecturas de absorción correspondientes en el espectrofotómetro Cary. 340, 336, 333, 331, 330, 328, 326, 323, 320, 318, 315, 313, 310, 308, 304, 300, 295, 293, 290, 288, 286, 284.

#### ESTIMACIÓN DE LOS ENSAYOS EN LA CURVA DE CALIBRACIÓN.

Se realizaron tres placebos cargados, en donde el medio de dilución fue ácido clorhídrico 0.1N En la tabla 14. Se muestran los resultados obtenidos de la estimación de los ensayos utilizando como medio de dilución ácido clorhídrico, en esta estimación se determinó que el método de MCP puede dar una estimación eficiente a una concentración de 15mcg/mL, esto sin la necesidad de manipular la muestra obteniéndose porcentajes de desviación menores al 2%. Debido a que se modificaron las concentraciones de la curva de calibración y que se disminuyó la concentración final del ensayo se decidió la búsqueda de una nueva condición de análisis.

Tabla 14. Resultados de los ensayos en medio ácido.

Ensayos	Concentración. Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
1	15.1481	14.9136	1.57%
2	15.192	15.1248	0.44%
3	14.7418	14.8932	-1.02%
BLANCO	0.0893		

**EXPLORACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO UTILIZANDO COMO MEDIO DE DILUCIÓN BÚFER DE ACETATOS PH 3.9.**

Como se pudo determinar en los ensayos anteriores utilizando como medio de dilución ácido se tiene una estimación satisfactoria de los placebos cargados, pero como las concentraciones de la curva de calibración se modificaron debido a que las concentraciones iniciales de la curva precipitaban y por esto la concentración final del ensayo se modificó a 15mcg/mL, se procedió a buscar una nueva condición en la que el pH estuviera cercano al valor de pKa del analito que es de 4.2, por lo que se utilizó un búfer de acetatos a pH de 3.9.

Se realizó un barrido haciendo uso del ensayo ya establecido diluyendo en medio alcalino y llevando a volumen de aforo con la solución búfer de acetatos a un pH de 3.9, obteniéndose el gráfico mostrado en la figura 21. En él podemos observar que una parte del espectro en la región comprendida de 248 a 288nm se ve un incremento marcado en la absorbancia por parte de los excipientes, y de la región espectral de 290 a 345nm la interacción es menor por lo que se utiliza la región marcada en el recuadro como Z, que es la parte del espectro restante.

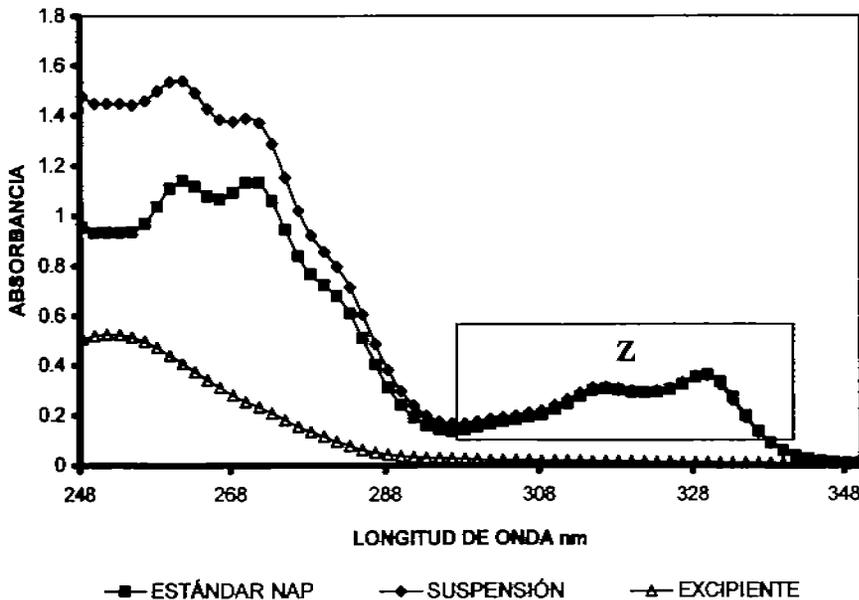


Figura 21. Espectro de absorción de estándar de NAP a (50mcg/mL), placebos cargados a (50mcg/mL) y excipiente, en el intervalo espectral de 248 a 350nm.

Para establecer las longitudes de onda que se utilizarán durante el análisis, se obtiene un gráfico figura 22, tomando en cuenta solo la región espectral que está de 288 a 345nm. Que es la región que presenta la menor interferencia, ya que el medio de dilución a cambiado se establecerán nuevas longitudes de onda (ver Pág. 28), que se utilizarán durante el análisis.

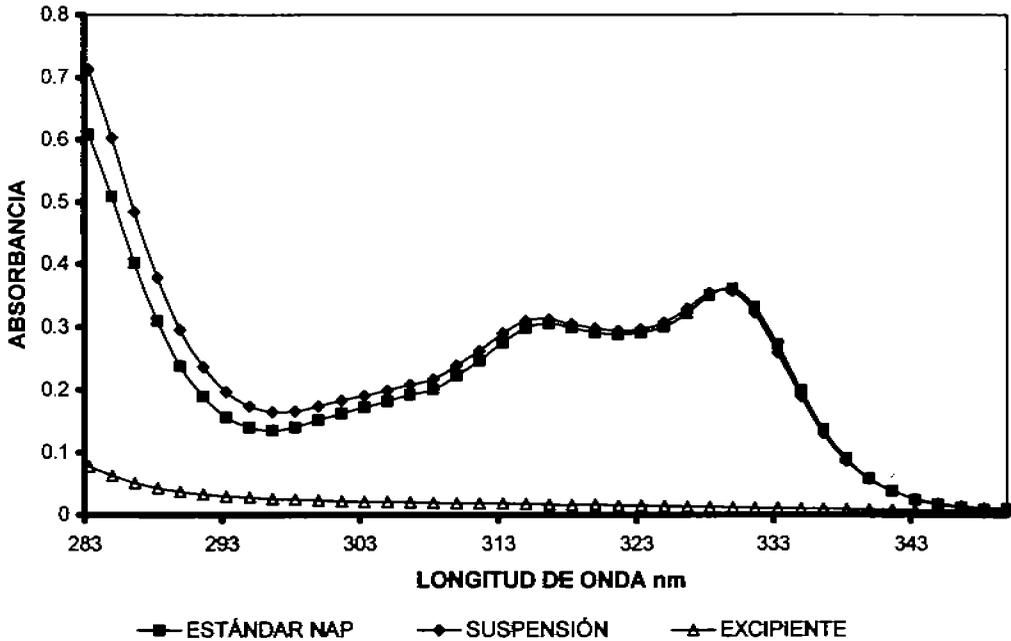


Figura 22. Espectro de absorción de estándar de NAP a (50mcg/mL), placebos cargados a (50mcg/mL) y excipiente, en el intervalo espectral de 283 a 350nm.

En la figura 16 se muestra banda espectral para la muestra de suspensión, estándar de NAP y excipientes, utilizando como medio de dilución la solución búfer de acetatos pH 3.9, reduciendo las longitudes de onda de 283 a 350nm, y obteniendo del espectro puro del estándar de NAP las longitudes de onda que se utilizarán dentro del análisis de MCP, quedando las siguientes condiciones de análisis:

- En medio de dilución es búfer de acetatos pH 3.9.
- Curva de calibración 5 puntos por triplicado, partiendo de una solución stock de 400mcg/mL.
- Tomando las lecturas de absorción a las longitudes de onda de; 340, 338, 335, 333, 330, 328, 326, 325, 323, 321, 320, 318, 316,315, 313, 310, 308, 306, 303, 300, 298, 295, 293, 290, 288, 285, 283nm.

### **CURVA DE CALIBRACIÓN EN BÚFER PH 3.9, COMO MEDIO DE DILUCIÓN.**

#### **SISTEMA DE CALIBRACIÓN.**

1. Tomar con una pipeta volumétrica de 1ml de la solución stock (procedimiento 12, anexo II), y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 25ml. Llevar a la marca de aforo con la solución búfer pH 3.9 (solución 1).
2. Tomar con una pipeta volumétrica de 2ml de la solución stock (procedimiento 12, anexo II), y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25ml, llevar a la marca de aforo con la solución búfer pH 3.9 (solución 2).
3. Tomar con una pipeta volumétrica de 3ml de la solución stock (procedimiento 12, anexo II), y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 25ml, llevar a la marca de aforo con la solución búfer pH 3.9 (solución 3).
4. Tomar con una pipeta volumétrica de 4ml de la solución stock (procedimiento 12, anexo II), y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25ml, llevar a la marca de aforo con la solución búfer pH 3.9 (solución 4).
5. Tomar con un pipeta volumétrica de 5ml de la solución stock (procedimiento 12, anexo II), y transferir su contenido a un matraz volumétrico de 25ml, llevar a la marca de aforo con la solución búfer pH 3.9 (solución 5).
6. Preparar las soluciones de la 1 a la 5 por triplicado.

7. Efectuar las lecturas de absorbancia correspondientes a las longitudes de onda establecidas en el espectrofotómetro Cary. 340, 338, 335, 333, 330, 328, 326, 325, 323, 321, 320, 318, 316,315, 313, 310, 308, 306, 303, 300, 298, 295, 293, 290, 288, 285, 283nm.

**RESULTADOS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN EN BÚFER DE ACETATOS pH 3.9.**

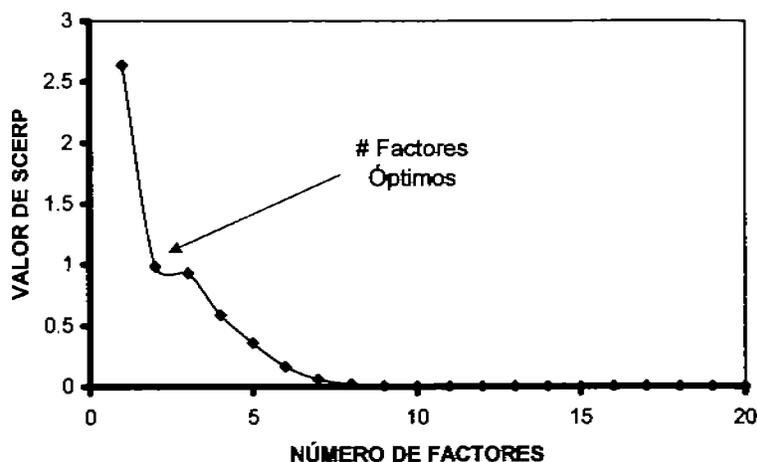


Figura 23. Resultados del valor de SCERP para la curva de calibración en medio de dilución búfer pH 3.9.

Aplicando el algoritmo correspondiente del método de mínimos cuadrados parciales, se obtiene el número de factores que se utilizará en la predicción, por lo que la figura 23 muestra el número 2 como número de factor a utilizar.

RESULTADOS DE LAS SOLUCIONES ESTÁNDAR QUE CONFORMAN LA MATRIZ DE CALIBRACIÓN EN LA SOLUCION BÚFER DE ACETATOS pH 3.9.

Tabla 15. Resultados obtenido estimados de la curva de calibración.

Solución Estándar	Concentración Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
1	33.6792	33.8	-0.36%
2	84.5364	84.5	0.04%
3	83.7634	84.5	-0.87%
4	50.7362	50.7	0.07%
5	17.022	16.9	0.72%
6	67.9128	67.6	0.46%
7	50.6844	50.7	-0.03%
8	67.4544	67.6	-0.22%
9	84.9671	84.5	0.55%
10	33.6064	33.8	-0.57%
11	67.7706	67.6	0.25%
12	50.7671	50.7	0.13%

La tabla 15, muestra los resultados de la estimación de las concentraciones de la curva de calibración en esta curva se detectaron 3 soluciones que presentan un valor de desviación mayor al 2%, por lo que se retiraron de la curva<sup>(13)</sup>, realizando la estimación con 12 soluciones y dando porcentajes de desviación por debajo del 2% por lo que las estimaciones son adecuadas.

Con el fin de determinar si el medio de dilución búfer es adecuado en la cuantificación de Naproxeno en suspensión, y la capacidad predictiva del método es eficiente, se evaluaron ensayos, los resultados de la estimaciones se muestran en la tabla 16, obteniendo una estimación efectiva de las concentraciones de los placebos cargados, aún que en el ensayo número 6 el porcentaje de desviación está por arriba de 2%, siendo el único podemos decir que posiblemente fue mal preparado pero se emplea para determinar si el método es preciso.

Para determinar que el método es exacto se calculó el porcentaje de recobro (tabla 17). El porcentaje recuperado fue de 100.8%, y en la prueba estadística de t se obtuvo un valor de 0.877 y menor que la t de tablas que es 2.517, por lo que se determinó que el método es exacto.

Tabla 16. Resultados de la estimación de los placebos cargados.

Placebos cargados	Concentración Estimada NAP (mcg/mL)	Concentración Real NAP (mcg/mL)	Porcentaje de Desviación
1	51.186	50.368	1.624
2	50.6261	50.376	0.496
3	50.3349	50.06	0.549
4	50.1404	50.332	-0.381
5	50.4505	50.192	0.515
6	51.4082	50.184	2.439
BLANCO. 7	2.0488		

PROMEDIO	50.69101667
DESV. EST.	0.500284053
C.V	0.986928426

Tabla 17. Resultados del porcentaje de recuperación de los placebos cargados.

Cantidad Real (mcg/mL)	Cantidad Estimada (mcg/mL)	% Recuperado
125.92	127.965	101.624047
125.94	126.56525	100.4964666
125.15	125.83725	100.549141
125.83	125.351	99.61932766
125.48	126.12625	100.5150223
125.46	128.5205	102.4394229

PROMEDIO	100.8739046
DESVE	0.996418776
C.V	0.987786465

VALOR DE TABLAS	2.517
PRUEBA DE T	0.877045483

***CONCLUSIONES***

## CONCLUSIONES

☛ El método de mínimos cuadrados parciales se puede aplicar sin el conocimiento de la cantidad y tipo de excipiente de la formulación siempre y cuando se obtengan las condiciones específicas de análisis.

☛ El método analítico de mínimos cuadrados parciales (MCP) no es aplicable en la cuantificación de Naproxeno con medio de dilución alcalino (hidróxido de sodio 0.1N).

Pero es aplicable si se reducen gran parte de los excipientes en la muestra.

☛ En medio ácido clorhídrico 0.1N el método de MCP se puede aplicar, si se reducen las concentraciones de las soluciones estándar en la curva de calibración.

☛ Asimismo El método analítico de (MCP) se puede aplicar en la cuantificación de Naproxeno en suspensión con medio de dilución búfer de acetatos pH 3.9 y región espectral de 283 a 340nm.

## ANEXO 1. ABREVIATURAS

A.	Absorbancia
b.	Ordenada al origen
g.	gramos
HCL.	Ácido clorhídrico
mcg.	Microgramos
MCP.	Mínimos cuadrados parciales
MEOH.	Metanol
Mg.	Miligramos
mL.	Mililitros
NAP.	Naproxeno
nm .	Nanómetros
r.	Coefficiente de correlación
$r^2$ .	Coefficiente
SCERP.	Suma de cuadrados del error residual de predicción.
U.V.	Ultravioleta

---

---

## PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

### PROCEDIMIENTO 1: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO DE SODIO 0.1N

1. Pesar en un vaso de precipitado de 100ml aproximadamente la cantidad de Hidróxido de sodio a preparar en una balanza analítica.
2. Adicionar aproximadamente 20ml de agua desionizada al vaso de precipitado.
3. Agitar manualmente con una varilla de vidrio hasta la completa disolución.
4. Trasvasar la solución a un matraz volumétrico de 1000ml.
5. Enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con un total de 20ml de agua destilada y transferir el contenido al matraz volumétrico.
6. Llevar a la marca de aforo con agua desionizada.

### PROCEDIMIENTO 2: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO DE SODIO 0.2 N

1. Pesar en un vaso de precipitado de 100 mL, aproximadamente la cantidad requerida de NaOH con una balanza analítica.
2. Adicionar aproximadamente 20 mL de agua desionizada al vaso de precipitado.
3. Agitar manualmente con una varilla de vidrio hasta completa disolución.
4. Transvasar esta solución a un matraz volumétrico de 1000 mL.
5. Enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con un total de 15 mL de agua desionizada y transferir el contenido al matraz volumétrico.
6. Llevar a la marca de aforo con agua desionizada.

PROCEDIMIENTO 3: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE FOSFATO  
MONOBÁSICO DE POTASIO 0.2 M

1. Pesar en un vaso de precipitado de 100 mL, aproximadamente la cantidad requerida de Fosfato Monobásico de Potasio con una balanza analítica.
2. Adicionar aproximadamente 50 mL de agua destilada al vaso de precipitado.
3. Colocar el vaso de precipitado sobre una parrilla con agitador.
4. Agitar la muestra con una barra magnética hasta completa disolución del Fosfato Monobásico de Potasio.
5. Transvasar esta solución a un matraz volumétrico de 1000 mL.
6. Enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con un total de 5 mL de agua destilada y transferir el contenido al matraz volumétrico.
7. Llevar a la marca de aforo con agua destilada.

PROCEDIMIENTO 4: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN AMORTIGUADORA DE  
FOSFATOS pH 8

1. Colocar en una probeta graduada de 500 mL, 390 mL de la solución de NaOH 0.2 N (Procedimiento 1) y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 2 litros.
2. Adicionar en otra probeta graduada de 500 mL, 500 mL de la solución de Fosfato Monobásico de Potasio 0.2 M (Procedimiento 2) y transferir el contenido al mismo matraz volumétrico.
3. Llevar a la marca de aforo con agua destilada.
4. Tomar con una pipeta volumétrica, 5 mL de la Solución amortiguadora de fosfatos y colocar su contenido en un vaso sin graduación.
5. Tomar la Lectura del valor de pH de la Solución Amortiguadora de Fosfatos con el potenciómetro marca OAKTON No 35613-01.

### PROCEDIMIENTO 5: PREPARACIÓN DE ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.1N.

1. Tomar con una pipeta graduada la cantidad de ácido clorhídrico, para preparar 250mL.
2. Verter el contenido de la pipeta graduada en un matraz volumétrico de 250mL, por las paredes del matraz.
3. Llevar ala marca de aforo con agua desionizada.

### PROCEDIMIENTO 6: PREPARACIÓN DE LOS PLACEBOS CARGADOS

1. Pesar en un vaso de precipitado de 100ml el equivalente a la cantidad de 125mg de Naproxeno materia prima en una balanza analítica.
2. Agregar la cantidad de suspensión placebo de 5ml, y homogeneizar manualmente con una varilla de vidrio.

### PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

3. Adicionar aproximadamente 40ml de la solución de hidróxido de sodio al vaso de precipitado.
4. Agitar manualmente con la varilla vidrio hasta una completa disolución.
5. Verter el contenido a un matraz volumétrico de 100ml, enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con 10ml de la solución de hidróxido de sodio y verter el contenido al matraz volumétrico.
6. llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N. (solución primaria PB1).
7. Filtrar el equivalente a 10mL de la solución anterior con un papel filtro Watman No. 40.
8. Tomar con una pipeta volumétrica de 2ml de la solución filtrada, y verter su contenido en un matraz volumétrico de 50ml.
9. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N.
10. Realizar del paso 1 al paso 9, por sextuplicado.
11. Tomar las lecturas de absorbancia correspondientes en el espectrofotómetro Cary.

---

### PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN STOCK DE NAPROXENO.

1. Pesar en un vaso de precipitado de 100mL la cantidad aproximada de 40mg de Naproxeno estándar en una balanza analítica.
2. Adicionar al vaso la cantidad de 30mL de la solución de hidróxido de sodio, agitar manualmente con una varilla de vidrio hasta la completa disolución.
3. Transvasar la solución a un matraz volumétrico de 100mL.
4. Enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con la cantidad aproximada a 15mL de la solución de hidróxido de sodio, y transferir el contenido al matraz volumétrico de 100mL.
5. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N. (solución stock de concentración 400mcg/mL).

### PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN STOCK DE EXCIPIENTES.

1. Agitar el placebo y tomar con una pipeta graduada 5mL, transferir la cantidad a un vaso de precipitado de 100mL.
2. Agregar al vaso de precipitado 30mL de NaOH 0.1N y agitar manualmente con una varilla de vidrio hasta una completa disolución.
3. Verter su contenido en un matraz volumétrico de 100mL, enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con 15mL de la solución de hidróxido de sodio 0.1N.
4. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio (solución A EXC).

---

### PROCEDIMIENTO 7: DE SEPARACIÓN DEL VEHÍCULO.

1. Agitar la suspensión y pesar de ella en un tubo de plástico el equivalente a la cantidad de 125mg de Naproxeno en una balanza analítica.
2. Adicionar aproximadamente 5mL de agua destilada.
3. Agitar con un vortex la suspensión hasta una completa homogeneización.
4. Centrifugar la suspensión a 2500rpm durante 15min. retirar el sobrenadante por decantación.
5. Aplicar el procedimiento de ensayo ya establecido.

### PROCEDIMIENTOS DE PREPARACIÓN DE LOS PLACEBOS CARGADOS CON PORCENTAJE DE VEHÍCULO.

#### PROCEDIMIENTO 8: PLACEBOS CARGADOS CON UN PORCENTAJE DE 25% DE VEHÍCULO.

1. Agregar la cantidad de suspensión placebo de 2ml a un tubo de plástico para centrifuga.
2. Pesar en un papel adecuado la cantidad de 125mg de Naproxeno materia prima en una balanza analítica.
3. Adicionar la cantidad pesada de NAP al tubo de plástico, y agregar 3ml más de suspensión placebo al mismo tubo de plástico.
4. Agitar con un vortex la suspensión hasta una completa homogeneización.
5. centrifugar la suspensión a 2500rpm durante 15min.
6. Retirar la cantidad de 25% de vehículo con una pipeta graduada de 5ml.
7. Adicionar ala solución contenida en el tubo 3ml de hidróxido de sodio 0.1N para disolverlo agitando vigorosamente con el vortex, y verter el contenido en un matraz volumétrico de 100ml, repetir el paso varias veces hasta la completa remoción de la solución y verter el contenido al mismo matraz volumétrico de 100ml.
8. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N. (Solución primaria PB1).

9. Filtrar el equivalente a 10mL de la solución anterior con un papel filtro Watman No. 40.
10. Tomar con una pipeta volumétrica de 2ml de la (solución primaria PB1 filtrada) y verter su contenido en un matraz volumétrico de 50mL.
11. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N.
12. Realizar del paso I al paso II, por triplicado.
13. Tomar las lecturas correspondientes en el espectrofotómetro Cary.

#### PROCEDIMIENTO 9: PLACEBOS CARGADOS CON UN PORCENTAJE DE 50% DE VEHÍCULO.

1. Agregar la cantidad de suspensión placebo de 2ml a un tubo de plástico para centrifuga.
2. Pesar en un papel adecuado el equivalente a la cantidad de 125mg de Naproxeno materia prima en una balanza analítica.
3. Adicionar la cantidad pesada de NAP al tubo de plástico, y agregar 3ml más de suspensión placebo al mismo tubo de plástico.
4. Agitar con un vortex la suspensión hasta una completa homogeneización.
5. centrifugar la suspensión a 2500rpm durante 15min.
6. Retirar la cantidad de 50% de vehículo con una pipeta graduada de 5ml.
7. Adicionar a la solución contenida en el tubo 3ml de hidróxido de sodio 0.1N para disolverlo agitando vigorosamente con el vortex, y verter el contenido en un matraz volumétrico de 100ml, repetir el paso varias veces hasta la completa remoción de la solución y verter el contenido al mismo matraz volumétrico de 100ml.
8. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N. (Solución primaria PB1).
9. Filtrar el equivalente a 10mL de la solución anterior con un papel filtro Watman No. 40.
10. Tomar con una pipeta volumétrica de 2ml de la (solución primaria PB1 filtrada) y verter su contenido en un matraz volumétrico de 50mL.
11. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N.
12. Realizar del paso I al paso II, por triplicado.
13. Tomar las lecturas correspondientes en el espectrofotómetro Cary.

---

**PROCEDIMIENTO 10: PREPARACIÓN DE LOS PLACEBOS CARGADOS CON UN PORCENTAJE DE 75% DE VEHÍCULO.**

1. Agregar la cantidad de suspensión placebo de 2ml a un tubo de plástico para centrifuga.
2. Pesar en un papel adecuado el equivalente a la cantidad de 125mg de Naproxeno materia prima en una balanza analítica.
3. Adicionar la cantidad pesada de NAP al tubo de plástico, y agregar 3ml más de suspensión placebo al mismo tubo de plástico.
4. Agitar con un vortex la suspensión hasta una completa homogeneización.
5. centrifugar la suspensión a 2500rpm durante 15min.
6. Retirar la cantidad de 75% de vehículo con una pipeta graduada de 5ml.
7. Adicionar ala solución contenida en el tubo 3ml de hidróxido de sodio 0.1N para disolverlo agitando vigorosamente con el vortex, y verter el contenido en un matraz volumétrico de 100ml, repetir el paso varias veces hasta la completa remoción de la solución y verter el contenido al mismo matraz volumétrico de 100ml.
8. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N. (Solución primaria PB1).
9. Filtrar el equivalente a 10mL de la solución anterior con un papel filtro Watman No. 40.
10. Tomar con una pipeta volumétrica de 2ml de la (solución primaria PB1 filtrada) y verter su contenido en un matraz volumétrico de 50mL.
11. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N.
12. Realizar del paso I al paso 11, por triplicado.
13. Tomar las lecturas correspondientes en el espectrofotómetro Cary.

---

---

**PROCEDIMIENTO 11: SOLUCIÓN STOCK DE NAPROXENO EN MEDIO  
ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.1N**

1. Pesar en un vaso de precipitado de 100ml la cantidad aproximada de 25mg de Naproxeno estándar en una balanza analítica.
2. Adicionar al vaso la cantidad de 40ml de la solución de hidróxido de sodio 0.1N, agitar manualmente con una varilla de vidrio hasta la completa disolución.
3. Transvasar la solución a un matraz volumétrico de 200ml.
4. Enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con la cantidad aproximada a 30ml de la solución de hidróxido de sodio 0.1N, y transferir el contenido al matraz volumétrico de 200ml.
5. Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio 0.1N. (solución stock de concentración 125mcg/mL).

**PROCEDIMIENTO 12: SOLUCIÓN STOCK DE NAPROXENO CON  
MEDIO DE DILUCIÓN BÚFER DE ACETATOS pH 3.9.**

- Pesar en un vaso de precipitado de 100ml la cantidad aproximada de 40mg de Naproxeno estándar en una balanza analítica.
- Adicionar al vaso la cantidad de 30ml de la solución de hidróxido de sodio 0.1N, agitar manualmente con una varilla de vidrio hasta la completa disolución.
- Transvasar la solución a un matraz volumétrico de 100ml.
- Enjuagar 3 veces el vaso de precipitado con la cantidad aproximada a 15ml de la solución de hidróxido de sodio, y transferir el contenido al matraz volumétrico de 100ml.
- Llevar a la marca de aforo con la solución de hidróxido de sodio. (solución stock a 400mcg/mL).

Tabla 1 Resultados de la suma de cuadrados del error residual de predicción (SCERP), para la curva de calibración en medio de dilución hidróxido de sodio 0.1N.

PRESS	NAP
h 1	9.63E+00
h 2	6.73E-01
h 3	1.22E-01
h 4	4.77E-02
h 5	4.14E-02
h 6	3.23E-02
h 7	2.60E-02
h 8	1.98E-02
h 9	5.73E-03
h 10	3.73E-03
h 11	2.35E-03
h 12	1.86E-04
h 13	7.71E-06
h 14	9.35E-27
h 15	5.16E-27
h 16	3.00E-27
h 17	3.00E-27
h 18	3.00E-27
h 19	3.00E-27
h 20	3.00E-27

Tabla 2. Resultados de la suma de cuadrados del error residual de predicción de la curva de calibración modelada para la cuantificación al 100% de vehículo.

PRESS	NAP
h 1	1.22E+01
h 2	3.14E+00
h 3	2.31E+00
h 4	9.08E-01
h 5	8.19E-01
h 6	4.30E-01
h 7	3.20E-01
h 8	1.34E-01
h 9	1.10E-01
h 10	6.46E-02
h 11	4.38E-02
h 12	5.98E-03
h 13	4.16E-06
h 14	7.57E-25
h 15	1.46E-25
h 16	2.71E-27
h 17	2.71E-27
h 18	2.71E-27
h 19	2.71E-27
h 20	2.71E-27

Tabla 3. Resultados de suma de cuadrados del error residual de predicción (SCERP), de la curva de calibración para el análisis de los ensayos sin vehículo.

PRESS	SCERP
h 1	3.73E+00
h 2	4.82E-01
h 3	2.75E-01
h 4	2.25E-01
h 5	1.95E-01
h 6	1.21E-01
h 7	9.21E-02
h 8	6.68E-02
h 9	2.38E-02
h 10	9.63E-03
h 11	1.03E-03
h 12	5.06E-05
h 13	5.67E-08
h 14	1.15E-25
h 15	6.99E-27
h 16	2.49E-27
h 17	2.49E-27
h 18	2.49E-27
h 19	2.49E-27
h 20	2.49E-27

Tabla 4 Resultados de la suma de cuadrados del error residual de predicción (SCERP), de la curva de calibración con medio ácido clorhídrico 0.1N.

PRESS	SCERP
h 1	5.19E+00
h 2	2.86E-01
h 3	2.00E-01
h 4	1.02E-01
h 5	8.76E-02
h 6	5.69E-02
h 7	4.71E-02
h 8	3.64E-02
h 9	2.74E-02
h 10	1.16E-02
h 11	2.68E-03
h 12	9.95E-04
h 13	7.09E-04
h 14	8.19E-26
h 15	7.55E-27
h 16	2.04E-27
h 17	2.04E-27
h 18	2.04E-27
h 19	2.04E-27
h 20	2.04E-27

Tabla 5. Resultados de la suma de los errores residual de predicción (SCERP), para la curva de calibración en medio de dilución buffer de acetatos pH 3.9.

PRESS	SCERP
h 1	2.64E+00
h 2	9.83E-01
h 3	9.29E-01
h 4	5.86E-01
h 5	3.58E-01
h 6	1.63E-01
h 7	5.72E-02
h 8	1.92E-02
h 9	2.61E-03
h 10	1.74E-04
h 11	1.79E-26
h 12	2.13E-27
h 13	1.33E-27
h 14	1.33E-27
h 15	1.33E-27
h 16	1.33E-27
h 17	1.33E-27
h 18	1.33E-27
h 19	1.33E-27
h 20	1.33E-27

***BIBLIOGRAFÍA***

---

---

**BIBLIOGRAFÍA**

1. **José L. Villa Jato.** Tecnología Farmacéutica Vol. I 1ª edición, Ed Síntesis. p 299-313.
2. **López de Alba P.L** (1996) "Métodos de calibración multivariante. Sociedad química de México, p 34-44.
3. **Clarké s** Isolation and Identification of drugs. The pharmaceutical Press. 2a ed.( 1986). Londres. Págs. 799, 800.
4. **Goodman y Gilman** las bases farmacológicas de la terapéutica 9ª Edición Vol. I Ed McGraw-hill Interamericana 1996. pp 686.
5. **María de la Luz Salazar,\* Pedro L. López De Alaba,** Quimiometría Aplicada Al Control De calidad de Fármacos. CIENCIA UANL / VOL. VI, No. 3, JULIO-SEPTIEMBRE 2003.
6. **Islas Hernández J. Alejandro.** Desarrollo de un método espectrofotométrico U.V. para la obtención del perfil de disolución de una forma farmacéutica que contenga trimetoprima y sulfametoxazol., TESIS, FES-UNAM, Q.F.B 2003. p 5-17.
7. **Guillermo Ramis R. Ma. Celia García.** "Quimiometría"1ª edición, Ed. Síntesis España 2001.p 200-202, 218-228.
8. **Barrera G. Mauricio.** Aplicación de métodos de calibración multivariante en la cuantificación simultánea, por espectrofotometría U.V., de Acetaminofen (APAP) y Naproxeno (NAP) presentes en un medio de disolución. TESIS, FES- UNAM, Q.F.B 2004. p 2-40.
9. **Mirón G. Margot,** Desarrollo de un método Espectrofotométrico confiable para cuantificar la cantidad de sulfametazina sodica liberada en el proceso de disolución de bolos de liberación controlada, TESIS, FES-UNAM, Q.F.B 1998 p14-20.
10. **Alfred Dar.** Tecnología Farmacéutica 4ª edición, Ed Acribia, Zaragoza España 1981 p 125-127.
11. **Alberto J. Nepote a, Luciana Vera-Candiotti a, María R. Williner.** Development and validation of chemometrics-assisted spectrophotometry and micellar electrokinetic chromatography for the determination of four-component pharmaceuticals. Analytica Chimica Acta 489 (2003) 77-84.

12. **Alberto Navalón, Rosario Blanc, Monsalud del Olmo, José Luis Vilchez** Simultaneous determination of naproxen, salicylic acid and acetylsalicylic acid by spectrofluorimetry using partial least-squares (PLS) multivariate calibration. *Talanta* 48 (1999) 469-475.
13. **David M. Haaland\* Edward V. T.** Partial least-Squares Methods for spectral Analyses. 1. Relation to Other Quantitative Calibration Methods and the Extraction of Qualitative Information. *Analytical Chemistry*, Vol 60, No.11, June 1, (1988) 1193-1202.
14. **Daniel C. Harris.** Análisis químico Cuantitativo 2ª edición, Ed. Reverte España 2001.
15. **James N. Miller** Estadística y Quimiometría para Química Analítica 4ª Edición Ed. Prentice Hall. España 2002.
16. **Héctor C. Goicoechea<sup>a,b</sup>, Alejandro C. Olivieri<sup>b,\*</sup>, Arsenio Munfoz de la PEN** Determination of theophylline in blood serum by UV spectrophotometry and partial least-squares (PLS-1) calibration *Analytica Chimica Acta* 384 (1999) 95±103.
17. **M. Ferina a,\* , M.C. Casolino a, C. de la Pezuela Martínez.** Multivariate calibration: applications to pharmaceutical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 18 (1998) 21-33.
18. **Maria E. Ribone, Ariana P. Pagani, Alejandro C. Olivieri \*** Determination of the minor component bromhexine in cotrimoxazole-containing tablets by absorption spectrophotometry and partial least-squares (PLS-1) multivariate calibration. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 23 (2000) 591-595
19. **Maria S. Collado, Juan C. Robles, Mercedes De Zan, María S. Camara, Víctor E. Mantovani, Héctor C. Goicoechea \*** Determination of dexamethasone and two excipients (creatinine and propylparaben) in injections by using UV-spectroscopy and multivariate calibrations *International Journal of Pharmaceutics* 229 (2001) 205-211
20. **Remington.** "Farmacia" 20ª Edición, Tomo II Ed. Panamericana 2003 p 1735.
21. **Resendiz T. Laura y García V. Rogelio.** Determinación Espectrofotométrica de Sulfametoxazol y Trimetoprim por medio de los métodos de Razones de Absorbancia y Mínimos Cuadrados Parciales", TESIS, FEC-UNAM, Q.F.B 1998 p20-28.
22. **The United States Pharmacopeia XX IV** Ed. (The official compendia of standards) USA. 2000. p 1148.