



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

**“COMPARACIÓN DE TRES TÉCNICAS POR CURVA DE  
ADICIÓN DE ESTÁNDAR PARA LA DETERMINACIÓN  
DE LORATADINA EN TRES PRESENTACIONES  
FARMACÉUTICAS”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

PRESENTA:

**TANIA YAZMIN RUIZ DE CHÁVEZ GONZÁLEZ**



DIRECTOR: QFB VÍCTOR HUGO BECERRA LÓPEZ  
ASESOR: MTRA. ISABEL GARDUÑO POZADAS

MÉXICO, ABRIL DE 2011



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.

Comparación de tres técnicas por curva de adición de estándar para la determinación de loratadina en tres presentaciones farmacéuticas.

---

*A mis padres  
Por abrirme las puertas al mundo*

*A mis profesores  
Por compartir sus conocimientos y vivencias*

*A Dios  
Por darme fuerza y guía*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>TITULO</b>	<b>1</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>I. MARCO TEÓRICO</b>	<b>3</b>
A.FUNDAMENTO FÍSICOQUÍMICO DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA	3
B.CURVA DE ADICIÓN	9
C.ANTIHISTAMÍNICOS	12
D.ANÁLISIS DE VARIANZA	17
<b>II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>20</b>
<b>III.OBJETIVO</b>	<b>21</b>
A.PARTICULARES	21
<b>IV.HIPÓTESIS</b>	<b>21</b>
<b>V. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>22</b>
A.POBLACIÓN DE ESTUDIO	22
B.CRITERIOS DE INCLUSIÓN	22
C.CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	22
D.CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	22
<b>VI.MATERIALES Y REACTIVOS</b>	<b>23</b>
A.EQUIPO	23
B.REACTIVOS	23
C.SOFTWARE	24
<b>VII. METODOLOGÍA</b>	<b>24</b>
A.PREPARACION DE LAS MUESTRAS	24
B.PREPARACION DE LAS TRES TECNICAS DE CURVA DE ADICION	25
<b>VIII. DIAGRAMA DE FLUJO</b>	<b>28</b>
<b>IX. DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>29</b>
<b>X. RESULTADOS</b>	<b>31</b>
<b>XI. ANALISIS DE RESULTADOS</b>	<b>43</b>
<b>XII. CONCLUSIONES</b>	<b>46</b>
<b>XIII. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS</b>	<b>47</b>
<b>XIV. LISTA DE REFERENCIAS CONSULTADAS</b>	<b>48</b>

## TITULO

Comparación de tres técnicas por curva de adición de estándar para la determinación de Loratadina en tres presentaciones farmacéuticas.

## RESUMEN

Con este estudio se pretendió realizar la comparación de técnicas del método de curva de adición, pues son de gran utilidad actualmente y nos permiten realizar una evaluación con respecto a la sensibilidad, linealidad y el porcentaje de contenido de un análisis.

Estas técnicas son, adición de estándar en cantidades variables-*muestra fija*, adición de muestra variable-*estándar fijo* y *volúmenes variables*, estándar y muestra se modifican simultáneamente, llevándolo a un volumen final constante.

En el presente estudio se realizó la aplicación de dichas técnicas a la Loratadina, en tres presentaciones farmacéuticas, tabletas y solución, pues es un fármaco que permite la representación del efecto de matriz con una mayor facilidad ya que se presenta en bajas dosis de administración; la lectura se llevo a cabo por espectrofotometría UV-visible.

Una vez obtenidas los datos se recopilaron en tres tablas de registro para cada presentación farmacéutica, pendientes (linealidad), porcentaje de contenido (contenido por muestra) y coeficiente de determinación (sensibilidad), analizándolos por regresión lineal y posteriormente con un análisis estadístico, obteniendo también graficas de interacción de cada uno; una vez realizada la interpretación fue posible obtener ventajas y desventajas para cada técnica. La revisión del proyecto permitió el replanteamiento del método y de sus correspondientes técnicas, así como la aplicación en la que cada una de ellas podría tener lugar.

Se ha concluido que la técnica uno, adición de *muestra fija* presenta la mejor linealidad así como homogeneidad, pero presenta un bajo porcentaje de contenido; la técnica dos adición de *estándar fijo* presenta un mayor registro en el porcentaje de contenido con

respecto a la técnica uno y técnica tres, pero tiene una baja linealidad; por último la técnica tres *volúmenes variables*, presenta la mejor sensibilidad, pero un bajo registro de porcentaje de contenido así como una baja linealidad.

La conclusión del proyecto se centra en la igualdad entre las diferentes técnicas aplicables, tomando siempre en cuenta los factores a observar durante un análisis, como la sensibilidad, linealidad u homogeneidad.

## INTRODUCCIÓN

Debido a que las determinaciones espectrofotométricas son de gran utilidad en nuestros días, y considerando su amplia utilidad, se ha decidido utilizarla para comparar distintas técnicas del método de curva de adición.

La primera se lleva a cabo con la adición de estándar en cantidades variables y la muestra permanece fija; la segunda en la cual es el volumen de muestra adicionada el que varía y el estándar es aquel que permanece fijo; y una tercera técnica en la cual ambos volúmenes adicionados, estándar y muestra se modifican simultáneamente, llevándolo a un volumen final constante.

La elección de cualquiera de estas técnicas se realiza muchas veces con bases empíricas, tomando en cuenta cantidades de estándar y volumen del disolvente, sin embargo, se pueden considerar otras variables para dicha selección, tales como la evaluación de la sensibilidad, linealidad y el porcentaje de contenido.

Para realizar dicho estudio, el presente proyecto pretende la aplicación del análisis de las técnicas del método de curva de adición en tres presentaciones farmacéuticas, tabletas y solución, así como su posible interacción, para obtener ventajas y desventajas en cada uno de los casos, y proponer razones científicamente válidas para su aplicación.

Se ha seleccionado a la Loratadina como analito a determinar por presentar una baja dosis de administración que permite representar el efecto de matriz

Para las tres técnicas se realizara la lectura de las muestras por espectrofotometría UV-visible, analizando los datos por regresión lineal para obtener un porcentaje de contenido correspondiente a la muestra y por ultimo comparando el comportamiento que tiene cada una de las técnicas en cada una de las presentaciones farmacéuticas, obteniendo indicios para evaluar las ventajas y desventajas que tiene cada una de ellas.

## I. MARCO TEÓRICO

### A. FUNDAMENTO FISICOQUÍMICO DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA

La espectrofotometría es el método que emplea la radiación electromagnética para determinar la concentración de una especie y las distintas interacciones de la radiación con la materia. <sup>(1)</sup>

La espectrofotometría ultravioleta visible es una de las técnicas instrumentales mas empleadas en la determinación experimental de sustancias de interés farmacéutico y bioquímico clínico debido a su amplio dominio de aplicación, selectividad, sensibilidad, exactitud y precisión. Además el equipo suele ser de fácil manejo y costo razonable. <sup>(2)</sup>

La radiación electromagnética es una forma de energía que se transmite en el espacio a la velocidad de la luz ( $c$ ) y que se manifiesta de diversas formas, algunas de ellas visibles como la luz que comprende los colores del arcoíris, otras como las ondas de radio que son invisibles y otras perceptibles como el calor radiante de los rayos infrarrojos. Todas estas ondas luminosas constituyen parte de un conjunto mucho mayor de ondas electromagnéticas que recibe el nombre de *espectro electromagnético*.

La espectrofotometría ultravioleta visible se basa en la propiedad que tienen algunas sustancias en disolución (moléculas, átomos y complejos de transición) de absorber radiación electromagnética de la región ultravioleta (200 – 380 nm) o visible (380 – 780 nm) del espectro electromagnético.

Si se considera el proceso de absorción como una colisión entre la radiación (fotón) y la especie absorbente, que ocasiona una transición electrónica, entonces para que un electrón pase del estado fundamental  $E_1$  (estado basal) al estado  $E_2$  (estado excitado) se necesita un incremento de energía ( $\Delta E$ ) que es proporcionada por la radiación electromagnética.

$$\Delta E = h\nu$$

Donde  $\Delta E$  es la energía necesaria para la transición de  $E_1$  a  $E_2$ ,  $h$  la constante de Planck que es igual a  $6.62 \times 10^{-27}$  erg-seg y  $\nu$  es la frecuencia en segundos<sup>-1</sup> o un hertz (Hz), es decir, el número de ondas que pasan por un punto dado en una unidad de tiempo. <sup>(2)</sup>

## TEORÍA ORBITAL MOLECULAR

La Teoría de Orbitales Moleculares (T.O.M.) es la segunda aproximación al estudio del enlace covalente, y la más ampliamente empleada para explicar la estructura y la geometría de muchos sólidos inorgánicos. El punto de partida consiste en asumir que si los dos núcleos implicados en el enlace se ubican a la distancia de equilibrio, los electrones se alojarán no en orbitales atómicos de cada elemento, sino en orbitales moleculares, que son análogos a los atómicos, y que presentan características similares.

La formación del enlace puede suponerse por superposición de orbitales atómicos de energía y orientación espacial adecuadas, pertenecientes a los dos átomos que se combinan, y dando lugar a un ORBITAL MOLECULAR que ya no pertenece a los átomos sino a la molécula en su conjunto; y en el cual, de acuerdo con el Principio de Exclusión, sólo podrán caber dos electrones.

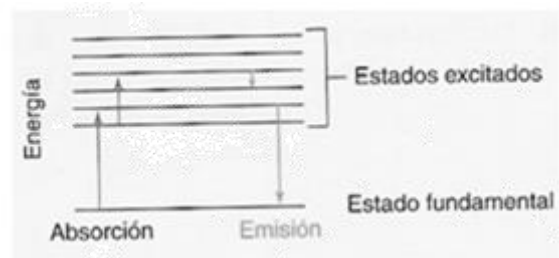


Figura 1. Cuando una molécula absorbe luz, aumenta su energía. Al emitir luz, disminuye su energía. Fuente: (1)



Cuando una molécula absorbe un fotón pasa a un *estado excitado* (Figura 1), y viceversa, cuando una molécula emite un fotón, disminuye su energía en un valor igual a la energía de fotón.

Los orbitales moleculares describen la distribución de electrones en una molécula, del mismo modo que los orbitales atómicos describen la distribución de electrones en un átomo.

En toda transición electrónica se produce un salto de un electrón de un orbital a otro, con el consiguiente aumento o disminución de la energía de la molécula. La transición electrónica de mínima energía en la molécula corresponde a la promoción de un electrón no enlazante ( $n$ ) a un orbital antienlazante  $\pi^*$ . En realidad, existen dos posibles transiciones, dependiendo de los números cuánticos de espín del estado excitado. Los estados de los espines opuestos se llaman estados singuletes. Si los espines son paralelos, los estados excitados se llaman estados tripletes (Figura 2).

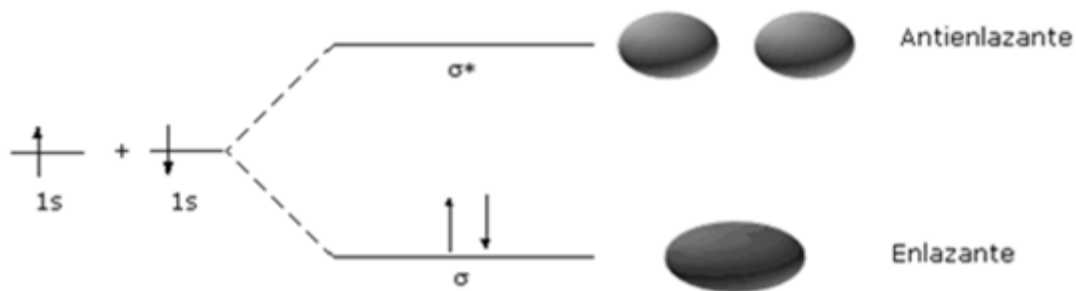


Figura 2. Teoría del Orbital Molecular (T. O. M.) Fuente: (28)

Los estados excitados singulete y triplete de mínima energía se llaman  $S_1$  y  $T_1$ , respectivamente. En general, un estado  $T_1$  tiene menos energía que en estado  $S_1$ .<sup>(1)</sup>

### LEY DE BEER

Ley de absorción, también llamada ley de Beer-Lambert o simplemente ley de Beer, indica cuantitativamente la forma en que el grado de atenuación depende de la concentración de las moléculas absorbentes y de la longitud del trayecto en el que ocurre la absorción. Cuando la luz atraviesa un medio que contiene un analito absorbente, disminuye su intensidad como consecuencia de la excitación de la molécula

del analito. Cuanto más largo sea el medio por el que pasa la luz (longitud del trayecto de la luz), en el caso de una solución del analito a concentración dada, existirán más moléculas o átomos absorbentes en el trayecto y, por tanto, mayor será la atenuación. Además, para una longitud de trayecto dada de la luz, cuanto mayor sea la concentración de los átomos o moléculas absorbentes, tanto mayor será la atenuación.

Según la ley de Beer, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente  $c$  y a la longitud de trayecto  $b$  del medio de absorción, como se expresa a continuación:

$$A = abc$$

Aquí,  $a$  es la constante o medida de proporcionalidad llamada *coeficiente de absortividad*. Dado que la absorbancia es una cantidad sin unidades la absortividad debe tener unidades que eliminen a las de  $b$  y  $c$  (comúnmente dl/g cm).

Cuando se expresa la concentración de la ecuación anterior con moles por litro, y  $b$  en centímetros, la constante de proporcionalidad se llama *absortividad molar* y recibe el símbolo especial  $\epsilon$ . Así:

$$A = \epsilon bc$$

Donde  $\epsilon$  tiene las unidades  $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . La absortividad molar es la propiedad de una sustancia que nos dice cuanta luz absorbe a una longitud de onda determinada. <sup>(1)(3)</sup>

## LEY DE ADITIVIDAD DE LAS ABSORBANCIAS

Si varias especies químicas absorben radiación a una misma longitud de onda y no hay interacción química entre dichas especies, la absorbancia total de la solución es debida a la suma de las absorbancias individuales, lo que se conoce como *aditividad de las absorbancias*. <sup>(4)</sup>

La aditividad de las absorbancias es una propiedad útil, puesto que proporciona un medio para el estudio de mezclas de especies de absorbentes.

En un sistema en donde dos componentes (o moléculas) absorben dentro de un mismo intervalo, los espectros de absorción de las mismas, pueden superponerse en diferentes grados; como se muestra en la figura 3.

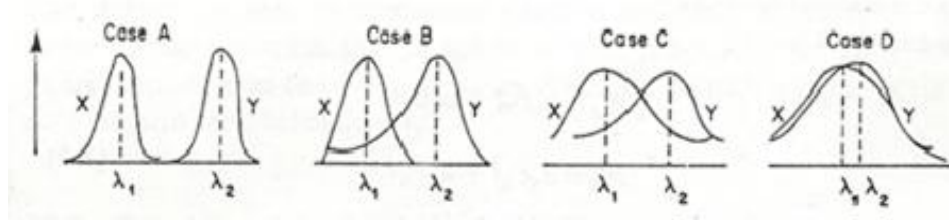


Figura 3. Análisis de un sistema binario de absorción. Fuente: (4)

Caso A: Situación donde las curvas no se superponen y los dos componentes (X y Y) se determinan directamente con la longitud de onda. Esta situación es común en la región infrarroja, pero es menos común en la región visible/UV, debido a las bandas de absorción que se producen son muy amplias.

Caso B: surge de la superposición parcial de los espectros de absorción. Mientras las mediciones en  $\lambda_2$  dan directamente Y, cualquier intento de medir la absorbancia de X debe incluir alguna contribución debida a la cola de la absorción de Y.

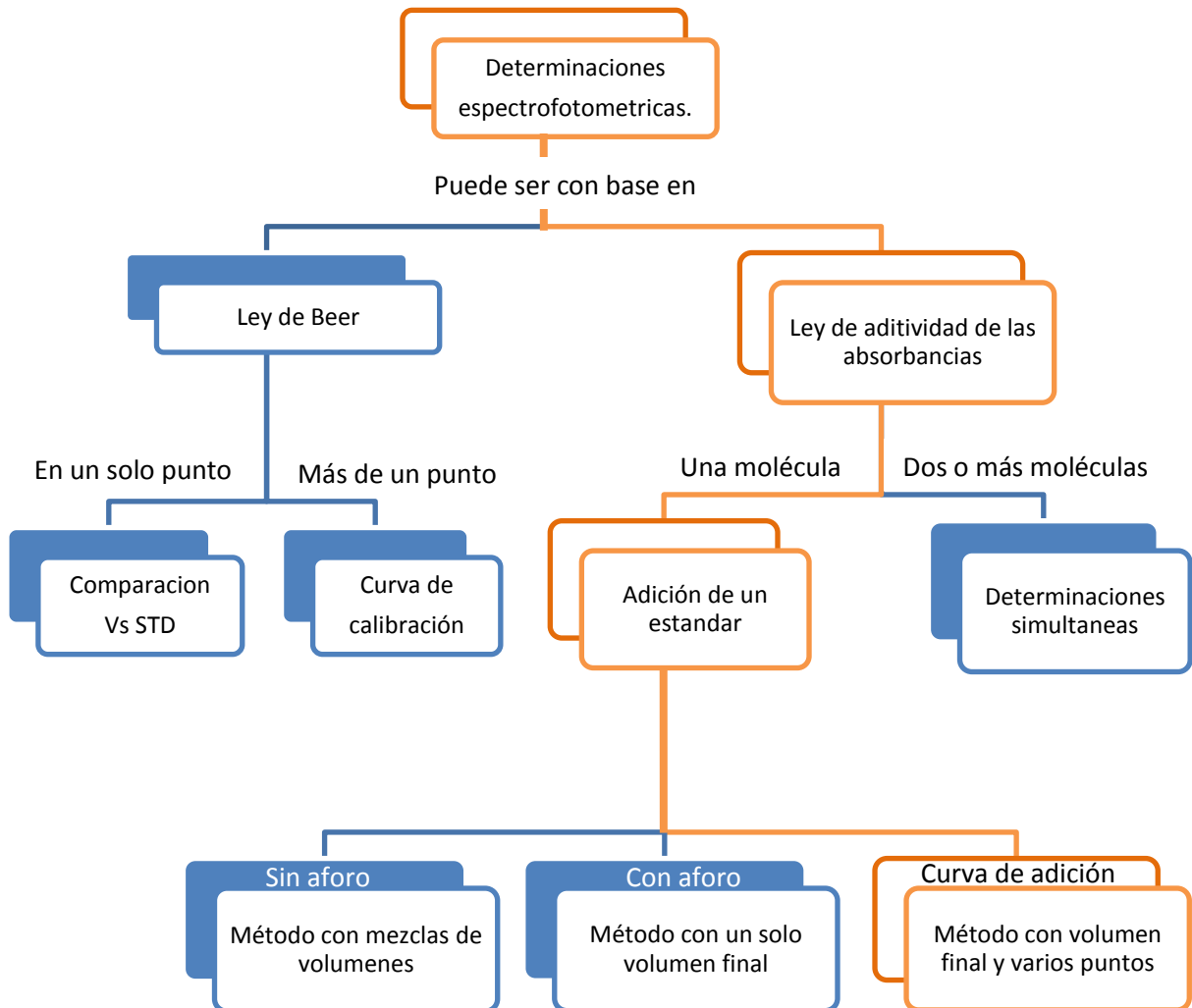
Caso C: Representa el caso general de la superposición de las curvas de absorbancia, pero con el máximo de absorción suficientemente desplazado para permitir el análisis exacto.

Caso D: Es para los materiales con curvas de absorción muy similares o cercanas, y no es susceptible al análisis.

Para  $n$  componentes absorbentes en una solución, la absorbancia total de la mezcla, para una longitud de onda queda establecida de acuerdo con el principio de aditividad de las absorbancias, será:

$$A_{\lambda} = \sum A_i = A_1 + A_2 + \dots + A_n = (e_1)l bC_1 + (e_2)l bC_2 + \dots + (e_n)l bC_n \quad (4)$$

## APLICACIONES DE LA LEY DE ADITIVIDAD DE LAS ABSORBANCIAS



**Figura 4. Aplicaciones de la ley de aditividad de la las absorbancias.**

La ruta marcada sin sombra, muestra el tipo de determinación en el que se centra el presente proyecto. Fuente: Elaboración propia

## B. CURVA DE ADICIÓN

Es frecuente que muchos de los componentes de la muestra se agreguen para simular el ambiente del analito, así, el medio en el que se encuentra este se llama *matriz de la muestra*. La matriz puede contener especies con propiedades químicas similares a las del analito y pueden reaccionar con los mismos reactivos o pueden ocasionar una respuesta del instrumento que no se distinga fácilmente del mismo. Estos efectos que interfieren en la determinación del analito, reciben el nombre de *efecto de matriz*. Cuando la matriz es compleja o no se conoce, puede utilizarse el método de adición de estándar para resolver este efecto. <sup>(1)(3)</sup>

Es posible evitar la complicación que supone adaptar las matrices de los patrones a la de la muestra mediante la estandarización de esta última, a lo que se denomina método de curva de adición.

La versión más sencilla de curva de adición es la que se muestra en la figura 5, la técnica de adición de estándar, donde se diluye un volumen  $V_0$  de muestra hasta un volumen final  $V_f$  y se mide la señal  $S_{mues}$ .

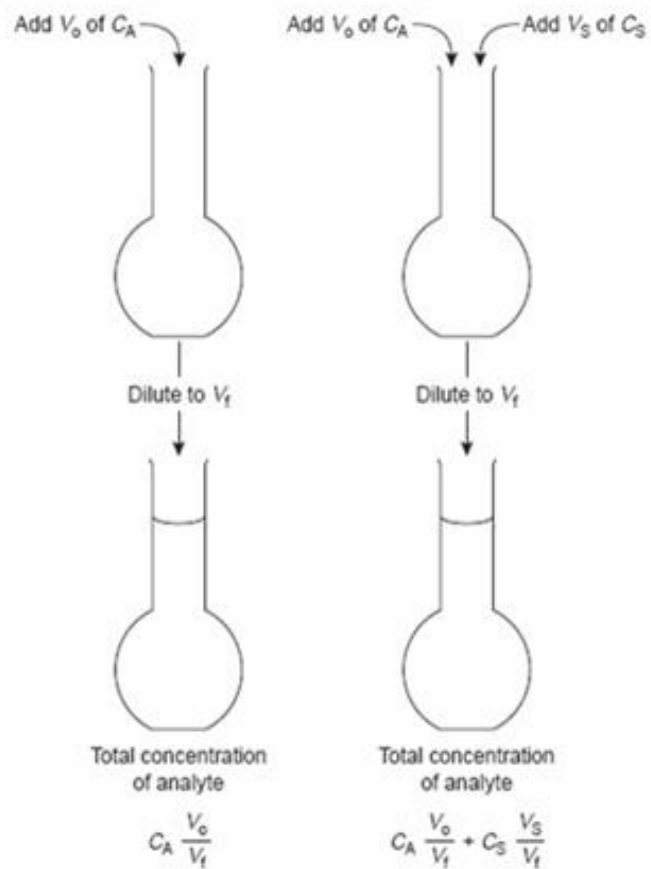


Figura 5. Método de adición de estándar, en el cual, alícuotas de la muestra son diluidas en un mismo volumen final. Fuente: (5)

En una segunda alícuota idéntica de la muestra se agrega un volumen  $V_S$  conocido de una disolución patrón con una concentración de analito  $C_S$ , hasta el mismo volumen

final y se registra su señal,  $S_{fort}$ . Las dos ecuaciones siguientes relacionan  $S_{mues}$  y  $S_{fort}$  con la concentración de analito  $C_A$  de la muestra original:

$$S_{mues} = kC_A \frac{V_x}{V_f} \quad (a)$$

$$S_{fort} = k \left( C_x \frac{V_x}{V_f} + C_s \frac{V_s}{V_f} \right) \quad (b)$$

Aplicando la ley distributiva:

$$S = \frac{kC_x V_x}{V_f} + kC_s \frac{V_s}{V_f} \quad (c)$$

Reacomodando:

$$S = \frac{kC_x V_x}{V_f} + \frac{kC_s}{V_f} V_s \quad (d)$$

Obteniendo una ecuación que obedece a la de una línea recta, donde  $\frac{kC_x V_x}{V_f} = b$ ,  $\frac{kC_s}{V_f} = m$  y  $V_s = x$  y que gráficamente se representa en la figura 6.

La adición de patrón con un punto se adapta fácilmente a la adición de patrón en varios puntos, preparando una serie de muestras a las que se añaden cantidades crecientes de patrón. Se prepara así una curva de calibración en la que se representa  $S_{fort}$  en relación con la medida adecuada de la cantidad de patrón añadida. La figura 6 muestra un ejemplo de curva de calibración con adición de

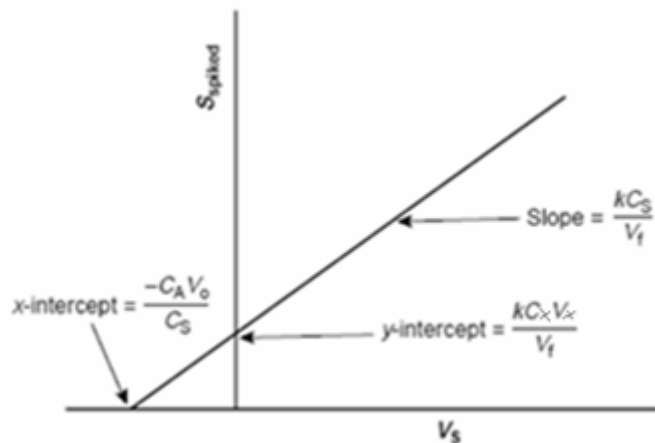


Figura 6. Ejemplo de curva de calibración por el método de adición de estándar. En la gráfica, la señal es graficada contra el volumen de estándar adicionado. Fuente: (5)

estándar según la ecuación  $b$ . En la figura 6 se representa  $S_{\text{fort}}$  en relación con el volumen añadido de solución patrón,  $V_s$ . Cuando  $k$  es constante, la curva de calibración es lineal y resulta fácil demostrar que el valor absoluto de la abscisa en el origen es  $C_A V_x / C_s$ .<sup>(5)(1)(3)</sup>

En la técnica de adición de estándar, este se adiciona en volúmenes variables según la concentración requerida; y la muestra es adicionada en un volumen fijo, para la cual la fórmula utilizada es:

$$C_s = \frac{V_x C_x}{V_s}$$

donde  $V_s$  será la  $X$  testada, que se obtiene de la regresión lineal cuando  $Y=0$ .  $V_x$  es el volumen de muestra fija adicionada y  $C_x$  será la concentración de la muestra de donde se parte para la preparación de la curva.<sup>(5)</sup>

## **OTRAS MODALIDADES DE LA CURVA DE ADICIÓN**

Otras modalidades de la curva de adición que se presentan son:<sup>(6)</sup>

- Variación continua de muestra a un volumen total constante y volumen de estándar fijo.

Esta técnica se desarrolla de la misma manera que para la curva de adición de estándar pero los roles se intercambian, pues es el estándar el que permanece fijo y la muestra la que es adicionada de manera variable.

Se elabora una solución de estándar y de muestra con concentraciones similares y posteriormente se toman las alícuotas correspondientes para la muestra variable y el mismo volumen de alícuota para el estándar. En todas las soluciones, los matraces volumétricos utilizados para la curva son todos de la misma capacidad y de esta manera la concentración de cada uno se incrementara de manera constante, obteniendo así, la curva de adición conveniente. Para este método se aplica la siguiente fórmula:

$$Cx = \frac{V_s C_s}{V_x}$$

donde  $V_x$  será la X testada, que se obtiene de la regresión lineal cuando  $Y=0$ .  $V_s$  es el volumen de estándar fijo adicionado y  $C_s$  será la concentración de estándar.

- Variación continua de muestra y estándar a un volumen final constante

En esta técnica, se prepara una solución estándar y una solución de muestra de diferentes concentraciones preferentemente en relación 1:2 y posteriormente la curva de adición, en el cual la combinación de volúmenes de estándar y muestra, se mantiene constante, es decir la suma de los volúmenes de la muestra y el estándar siempre dará el mismo volumen y darán un volumen final constante. La solución puede ir desde concentración pura de estándar hasta concentración pura de muestra. En este método la ecuación aplicada es:

$$Cx = C_s \left( \frac{V_f}{V_x} + 1 \right)$$

donde  $V_x$  será la X testada, que se obtiene de la regresión lineal cuando  $Y=0$ .  $V_f$  es el volumen final de estándar adicionado a la solución y  $C_s$  será la concentración de estándar. <sup>(6)</sup>

### C. ANTIHISTAMÍNICOS

Los antihistamínicos son fármacos generalmente usados para aliviar las reacciones de hipersensibilidad inmediata. También son usados como sedantes, antieméticos y adjuntos a la analgesia preoperatoria o postoperatoria. <sup>(7)</sup>

La histamina es un mediador químico que el cuerpo libera en las reacciones alérgicas. Aunque existen al menos tres tipos de receptores de la histamina, H1 (histamina 1), H2 (histamina 2) y H3 (histamina 3). Tradicionalmente el término antihistamínico se utilizó para describir agentes farmacológicos que actúan como antagonistas de los receptores  $H_1$ , relacionados con la rinitis o dermatitis alérgica.



Todos los antihistamínicos disponibles antagonizan la histamina en grado similar con independencia de la clase química a la que pertenezcan. Todas estas drogas inducen un cierto grado de sedación y ejercen actividad anticolinérgica. Las diferencias clínicas y farmacológicas se relacionan en mayor medida con variaciones de los efectos adversos y acciones antagonistas no histamínicas, como los efectos atropínicos, las acciones sobre el sistema nervioso central y las propiedades anestésicas locales. Para una selección adecuada del agente por utilizar es esencial el conocimiento de estos efectos; entre los antihistamínicos más comunes podemos mencionar maleato de clorfeniramina, clorhidrato de difenhidramina, maleato de azatadina, loratadina, succinato de doxilamina y fenofenadina <sup>(8)</sup>.

Las indicaciones clínicas para el uso de las diversas drogas antihistamínicas son considerablemente variables. La mayoría de estos agentes son *eficaces para el tratamiento de la rinitis perenne, la rinitis alérgica estacional, la rinitis nasomotora, la conjuntivitis alérgica, la urticaria y el angioedema, las reacciones alérgicas a la sangre y el plasma, y el dermatografismo*, y como tratamiento coadyuvante de la terapia convencional en las *reacciones anafilácticas*. Es probable que algunas drogas antihistamínicas sean eficaces para aliviar los síntomas de *reacciones alérgicas locales a picaduras de insectos, alergias físicas y reacciones medicamentosas y séricas menores asociadas con prurito*. Ciertos antihistamínicos selectos, como el clorhidrato de difenhidramina, reducen la rigidez y los temblores de la *parálisis agitante* y los *síntomas extrapiramidales inducidos por drogas*. Algunos también son eficaces para el manejo *efectivo y profiláctico* de la *cinetosis*. Los agentes con mayor fuerza sedante a veces se prescriben en casos de *insomnio* e *insomnio* asociado con ciertos trastornos médicos; para tales casos se han desarrollado diferentes formas farmacéuticas, así como la combinación de los antihistamínicos con un descongestivo, un supresor de la tos y un analgésico <sup>(8)</sup>. El efecto colateral más frecuente es la sedación, que se manifiesta con somnolencia y una disminución de la capacidad de concentración.

## LORATADINA

Desde hace 2 décadas las enfermedades alérgicas como la rinitis alérgica, urticaria crónica, dermatitis atópica y conjuntivitis que sufren los mexicanos han sido tratadas con Loratadina<sup>(29)</sup>. Presenta efectos secundarios como dolor de cabeza, boca seca, dolor de estómago, urticaria o somnolencia, como otros antihistamínicos.

Presenta varios genéricos que tienen un costo variado según su forma farmacéutica y si se presentan o no en combinación con otro fármaco; pero para nuestro propósito de estudio fue fácil adquirirla en una farmacia Similar a un costo de 30 pesos para tabletas con Ambroxol, 30 pesos para la solución oral de loratadina con ambroxol y de manera gratuita por donación del ISSSTE, Clínica Zaragoza, para las tabletas con solo Loratadina.

Una característica importante de la Loratadina y que permite su análisis por método de curva de adición son sus bajas concentraciones, pues la hace candidata a sufrir efecto de matriz.<sup>(30)</sup>

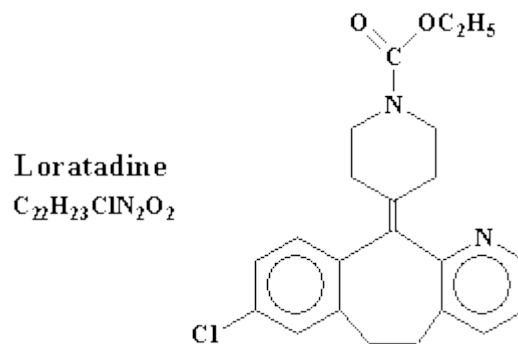


Figura 7. Estructura química y fórmula condensada de Loratadina. Fuente: (9)

Nombre sistemático IUPAC: ácido 4-(8-cloro-5,6-dihidro-11H-benzo[5,6]-cicloheptal[1,2-b]piridin-11-ilideno)-1-piperidinocarboxílico.

Fórmula:  $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$

Peso molecular: 382.88 g/mol

Cristales que se funden alrededor de 135°C. Agente tricíclico o sedante de acción prologada. No ejerce actividad anticolinérgica. Soluble en alcohol (1:10); insoluble en agua.<sup>(9)</sup>

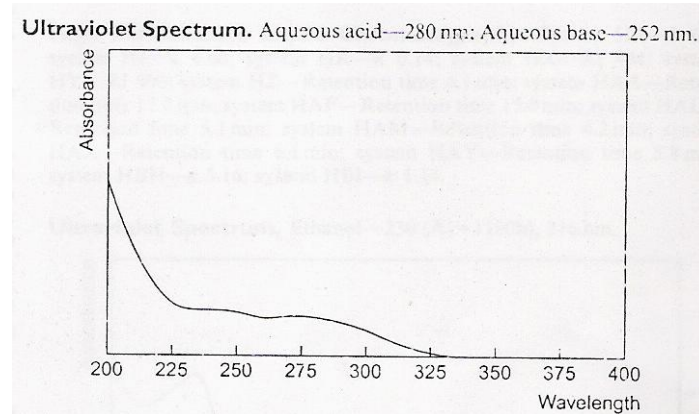


Figura 8. Espectro ultravioleta de Loratadina.  
Solución acida-280nm. Solución básica-252nm.  
Fuente: (9)

## FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA

Constante de disociación:  $pK_a$  5.0.

Coefficiente de partición: 5.20

Biodisponibilidad de casi el 100%

La unión a proteínas 97-99%

Metabolismo hepático (CYP2D6 y 3A4-mediada)

Vida media de eliminación en plasma: 8 horas.

Excreción: 40% como metabolitos conjugados en la orina.

Se absorbe por completo después de ser administrado por vía oral, sin embargo, su efecto antihistamínico persiste durante 24 horas. El inicio de acción es muy temprano, estimándose en 30 minutos aproximadamente. Posteriormente es metabolizada extensamente en el hígado y excretada a través de orina y heces.

La Loratadina es un agente antihistamínico tricíclico potente, de acción prolongada, con actividad como antagonista selectivos de los receptores  $H_1$ , periféricos.

## INDICACIONES TERAPÉUTICAS

Antihistamínico y mucolítico. Está indicado para el alivio sintomático de los procesos alérgicos respiratorios asociados con tos no productiva y presencia de moco en el tracto respiratorio.

También está indicado en el tratamiento de pacientes con procesos broncopulmonares alérgicos que cursen con aumento de la viscosidad y adherencia del moco, en lo que es necesario mantener libre de secreciones las vías respiratorias. Sus principales indicaciones son: rinitis alérgica, asociación con tos, bronquitis, bronquiectasias, sinusitis, neumonía, bronconeumonía, atelectasia por tapón mucoso, traqueotomía, así como agente profiláctico pre y posquirúrgico, especialmente en ancianos en quienes se sospecha alguna condición alérgica.

## INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS Y DE OTRO GÉNERO

Cuando se administra concomitantemente con alcohol, la Loratadina no presenta efectos potenciadores como los medidos por los estudios de desempeño psicomotor.

Se ha reportado un incremento en las concentraciones plasmáticas de Loratadina después de la administración concomitante de ketoconazol, eritromicina o cimetidina en estudios clínicos controlados, pero no se han observado cambios clínicamente significativos (incluyendo electrocardiográficos). Se debe tener precaución cuando se administren conjuntamente otros fármacos que inhiban el metabolismo hepático hasta que se puedan realizar estudios de interacción definitiva.

## DOSIS Y VÍA DE ADMINISTRACIÓN

Oral.

**Adultos y niños con peso = 30 kg:** Administrar una tableta cada 12 horas.

**Niños con peso < 30 kg mayores de 6 años:** Administrar (½) tableta cada 12 horas.

**Adultos y niños mayores de 12 años:** Dos cucharaditas de LORATADINA (10 ml = 10 mg) una vez al día.

**Niños de 2 a 12 años:**

**Dosis ponderal:** 0.2 mg/kg/día.

**Peso corporal > 30 kg** = 10 ml (10 mg) una vez al día.

**Peso corporal < 30 kg** = 5 ml (5 mg) una vez al día.

En pacientes con falla hepática o insuficiencia renal se debe ajustar la dosis a 5 ml (5 mg) diarios o 10 ml (10 mg) en días alternos.

LORATADINA no es hemodializable y no se sabe si lo es por diálisis peritoneal. <sup>(10)(11)</sup>

#### **D. ANÁLISIS DE VARIANZA**

El análisis de varianza, o más brevemente ANDEVA, se refiere en general a un conjunto de situaciones experimentales y procedimientos estadísticos para el análisis de respuestas cuantitativas de unidades experimentales. <sup>(12)</sup>

El análisis de varianza se puede definir como una técnica mediante la cual la variación total presente en un conjunto de datos que se divide en varios componentes, cada una de las cuales tiene asociada una fuente de variación específica, de manera que en el análisis es posible conocer la magnitud de las contribuciones de cada fuente de variación a la variación total. <sup>(13)</sup>

El problema más sencillo de ANDEVA se conoce indistintamente como ANDEVA de un solo factor, de clasificación única o de un solo criterio, donde interviene el análisis ya sea de datos obtenidos al muestrear más de dos poblaciones numéricas (distribuciones), o datos de experimentos en los que han empleado más de dos tratamientos. La característica que diferencia los tratamientos o poblaciones entre sí se llama *factor bajo estudio*, y los tratamientos o poblaciones diferentes se conocen como *niveles del factor*. <sup>(12)</sup>

En nuestro caso se desea evaluar si existe alguna diferencia en la efectividad de tres métodos de curva de adición, así como el análisis de tres formas farmacéuticas diferentes. El método que se presenta para este propósito es el análisis de varianza.

El análisis de varianza de dos sentidos se relaciona con los experimentos en que se usa el bloque para reducir la suma de cuadrados del error, y por lo tanto, nos referimos a las dos variables que consideramos como “tratamientos” y “bloques”. El análisis de estas variables depende que sean independientes o de que exista una interacción entre ellas, siendo este último el que usaremos.

Para formular la hipótesis que se aprobara en el caso de las dos variables, escribimos  $\mu_{ij}$  para la media de la población que corresponde al  $i$ -ésimo tratamiento y al  $j$ -ésimo bloque y se presenta como

$$\mu_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j$$

Siendo  $\mu$  la media general y  $\alpha$ , los efectos de los tratamientos. En forma correspondiente, nos referimos a los  $\beta$  como los efectos de los bloques y escribimos las hipótesis nulas que se quieren probar como:

$$\alpha_1 = \alpha_2 = \dots = \alpha_k = 0$$

Y

$$\beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_n = 0$$

La alternativa para la primera hipótesis nula, es que no todos los efectos del tratamiento  $\alpha$  equivalen a cero; la alternativa para la segunda hipótesis nula es que no todos los efectos del bloque  $\beta$  equivalen a cero. <sup>(14)</sup>

FACTOR A	FACTOR B				TOTAL
	1	2	...	b	
1	$Y_{111} Y_{112}$ $Y_{113} Y_{114}$	$Y_{121} Y_{122}$ $Y_{123} Y_{124}$	...	$Y_{1b1} Y_{1b2}$ $Y_{1b3} Y_{1b4}$	$Y_{1..}$
2	$Y_{211} Y_{212}$ $Y_{213} Y_{214}$	$Y_{221} Y_{222}$ $Y_{223} Y_{224}$	...	$Y_{2b1} Y_{2b2}$ $Y_{2b3} Y_{2b4}$	$Y_{2..}$
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
a	$Y_{a11} Y_{a12}$ $Y_{a13} Y_{a14}$	$Y_{a21} Y_{a22}$ $Y_{a23} Y_{a24}$	...	$Y_{ab1} Y_{ab2}$ $Y_{ab3} Y_{ab4}$	$Y_{a..}$
Total $Y_{.j}$	$Y_{.1}$	$Y_{.2}$	...	$Y_{.b}$	$Y_{...}$

Figura 9. Estructura típica y modelo de un diseño factorial con dos factores de estudio con interacción. Fuente: (31)

$$\text{Modelo: } Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \tau_i\beta_j + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, \dots, a, \quad j = 1, 2, \dots, b \quad \text{y} \quad k = 1, 2, \dots, n$$

### Hipótesis

1.  $H_0: \tau_i = 0$  v.s.  $H_a: \tau_i \neq 0$ ; para al menos una  $i$ .
2.  $H_0: \beta_j = 0$  v.s.  $H_a: \beta_j \neq 0$ ; para al menos una  $j$ .
3.  $H_0: \tau_i\beta_j = 0$  v.s.  $H_a: \tau_i\beta_j \neq 0$  para al menos un par  $i \neq j$ .

$$SC_{Total} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (Y_{ijk} - \bar{Y}_{...})^2$$

$$SC_A = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (\bar{Y}_{i..} - \bar{Y}_{...})^2 = bn \sum_{i=1}^a (\bar{Y}_{i..} - \bar{Y}_{...})^2$$

$$SC_B = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (\bar{Y}_{.j.} - \bar{Y}_{...})^2 = an \sum_{j=1}^b (\bar{Y}_{.j.} - \bar{Y}_{...})^2$$

$$SC_{AB} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (\bar{Y}_{ij.} - \bar{Y}_{i..} - \bar{Y}_{.j.} + \bar{Y}_{...})^2 = n \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (\bar{Y}_{ij.} - \bar{Y}_{i..} - \bar{Y}_{.j.} + \bar{Y}_{...})^2$$

$$SC_{Error} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (Y_{ijk} - \bar{Y}_{ij.})^2$$

### Grados de Libertad

$$A = a - 1$$

$$B = b - 1$$

$$AB = (a - 1)(b - 1)$$

$$Error = ab(n - 1) = abn - ab = N - ab$$

$$Total = abn - 1 = N - 1$$

Fuente	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios
Factor Fila	$I-1$	$SC_{Fila} = \frac{1}{n_i} \sum_{i=1}^I Y_{i..}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$	$CM_{Fila} = \frac{SC_{Fila}}{g^I_{Fila}}$
Factor Columna	$J-1$	$SC_{Col} = \frac{1}{n_j} \sum_{j=1}^J Y_{.j.}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$	$CM_{Col} = \frac{SC_{Col}}{g^I_{Col}}$
Interacción	$(I-1)(J-1)$	$SC_I = SC_{Sub} - SC_{Fila} - SC_{Col}$	$CM_I = \frac{SC_I}{g^I_I}$
Subtotal	$IJ-1$	$SC_{Sub} = \sum_{j=1}^J \sum_{i=1}^I \frac{Y_{ij.}^2}{n_{ij}} - \frac{Y_{...}^2}{N}$	—
Error	$N-IJ$	$SC_E = SC_{Tot} - SC_{Sub}$	$CM_E = \frac{SC_E}{g^I_E}$
Total	$N-1$	$SC_{Tot} = \sum_{j=1}^J \sum_{i=1}^I \sum_{k=1}^K Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{N}$	—

Factores Fijos	Factores Aleatorios	Factores Mixtos Filas fijo y Columnas aleatorio
$F_{Fila} = \frac{CM_{Fila}}{CM_E}$	$F_{Fila} = \frac{CM_{Fila}}{CM_I}$	$F_{Fila} = \frac{CM_{Fila}}{CM_I}$
$F_{Col} = \frac{CM_{Col}}{CM_E}$	$F_{Col} = \frac{CM_{Col}}{CM_I}$	$F_{Col} = \frac{CM_{Col}}{CM_E}$
$F_I = \frac{CM_I}{CM_E}$	$F_I = \frac{CM_I}{CM_E}$	$F_I = \frac{CM_I}{CM_E}$

Figura 10. Tabla ANDEVA de dos factores al azar, con factores fijos, aleatorios y mixtos. Fuente: (15)

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las determinaciones espectrofotométricas suelen ser determinaciones confiables, selectivas y de gran sensibilidad. Su desarrollo se puede hacer de diversas formas, una de ellas se basa en la ley de aditividad de las absorbancias, al adicionar estándar a las muestras para fortalecer la señal de absorbancia.

Asimismo, La Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, “Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas”; indica en su numeral 7.3.1.2 que “cuando en la monografía de un fármaco a analizar no se especifique el método analítico, se procederá a aplicar el método de estándar adicionado”.<sup>(16)</sup>



Sin embargo, en el estudio realizado por Bader<sup>(6)</sup>, se encuentra que hay diferentes métodos de importancia científica y docente para aplicar la metodología de curva de adición.

Ante este marco, y considerando la diversidad de metodologías para desarrollar la curva de adición, se ha decidido realizar un estudio comparativo entre diferentes modalidades del método de adición, evaluando estadísticamente, con apoyo de un análisis de varianza, las ventajas y desventajas de cada uno de ellos e identificando si existen diferencias significativas, para lo cual, se seleccionó la Loratadina como fármaco de prueba, en diferentes presentaciones farmacéuticas, por ser un fármaco de importancia terapéutica, pero sobre todo, que se encuentra en bajas dosis<sup>(10)</sup>, condición para ser analizada por este método.

### **III. OBJETIVO**

Comparar las técnicas de curva de adición por medio de su estudio de ventajas y desventajas analíticas.

#### **A. PARTICULARES**

- Evaluar por medio de un análisis de varianza diferentes métodos de curva de adición.
- Cuantificar el contenido de Loratadina en tabletas y solución.

### **IV. HIPÓTESIS**

No existen diferencias significativas entre tres diferentes técnicas de curva de adición para determinación de Loratadina por espectrofotometría UV-visible en tres presentaciones farmacéuticas y toda variación se debe a la sensibilidad y linealidad de las técnicas.

## **V. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN**

- Experimental
- Prospectivo
- Comparativo
- Transversal

### **A. POBLACIÓN DE ESTUDIO**

- Tabletas Loratadina con Ambroxol 5 mg /30 mg. Marca: Laritol EX. Fecha de caducidad: ENE-12.
- Solución oral Loratadina con Ambroxol 100 mg/600mg en 100 mL. Marca: Vardel. Fecha de caducidad: NOV-11.
- Tabletas Loratadina 10 mg. Marca: GI. Fecha de caducidad: FEB-12.

### **B. CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Tabletas de Loratadina blancas, lisas y enteras.
- Solución oral en buen estado (No caduco).
- Empaque de la forma farmacéutica sellado.

### **C. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Tabletas de Loratadina rotas, moteadas o de un color distinto.
- Solución oral contaminada (Caduco).
- Empaque de la forma farmacéutica violado.

### **D. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

- Tabletas de Loratadina húmedas.
- Solución oral bifásica.

## **VI. MATERIALES Y REACTIVOS**

- Matraz volumétrico de 10 ml
- Matraz volumétrico de 25 ml
- Matraz volumétrico de 50 ml
- Matraz volumétrico de 100 ml
- Matraz volumétrico de 200 ml
- Matraz volumétrico de 500 ml
- Pipeta volumétrica de 5 ml
- Pipeta volumétrica de 10 ml
- Pipeta volumétrica de 20 ml
- Soporte universal
- Pinzas de doble presión
- Anillo metálico
- Embudo de tallo corto estriado
- Bureta con llave de teflón de 25 ml
- Parrilla de agitación y calentamiento
- Celdas de cuarzo
- Vasos de precipitado de 100 ml
- Papel filtro

### **A. EQUIPO**

- Espectrofotómetro de doble haz. Marca Perkin Elmer UV-Visible. Spectrometer Lambda 2.
- Balanza analítica. Marca: Adveturer Ohaus.

### **B. REACTIVOS**

- Ácido clorhídrico 0.1N (para la muestra y el estándar).

### C. SOFTWARE

- Microsoft Office Excel 2007
- Statgraphics for Windows. Versión 5.0.

## VII.METODOLOGÍA

### A. PREPARACION DE LAS MUESTRAS

- **Solución estándar a 50 ppm**

Se pesan 25 miligramos de estándar en una balanza analítica registrando su peso, llevándola a un matraz volumétrico de 25 ml y aforando con una solución de HCl 0.1 N; se toma una alícuota de 10 ml y se lleva a un matraz volumétrico de 200 ml, aforando de igual manera con HCl 0.1 N; obteniendo una solución muestra a 50 ppm.

$$\frac{25mg \text{ de loratadina}}{25 \text{ ml}} \times \frac{10 \text{ ml}}{200 \text{ ml}} = 50ppm$$

- **Solución estándar a 25 ppm**

Para la preparación del estándar se pesan 25 mg de Loratadina en una balanza analítica, para llevarla a un matraz volumétrico de 50 ml y aforar con una solución de HCl 0.1 N; se toma una alícuota de 5 ml y se lleva a un matraz volumétrico de 100 ml, aforando de igual manera con HCl 0.1 N; obteniendo una solución muestra a 25 ppm.

$$\frac{25mg \text{ de loratadina}}{50 \text{ ml}} \times \frac{5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 25ppm$$

- **Solución muestra a 50 ppm**

Se toman 10 tabletas de Loratadina y se pesan en una balanza analítica registrando su peso y calculando se valor promedio por tableta, suponiendo que esta tiene 5 mg de

Loratadina y pesando el equivalente a 25 mg de la misma, para llevarla a un matraz volumétrico de 10 ml y aforar con una solución de HCl 0.1 N; se toma una alícuota de 10 ml y se lleva a un matraz volumétrico de 500 ml, aforando de igual manera con HCl 0.1 N; obteniendo una solución muestra a 50 ppm.

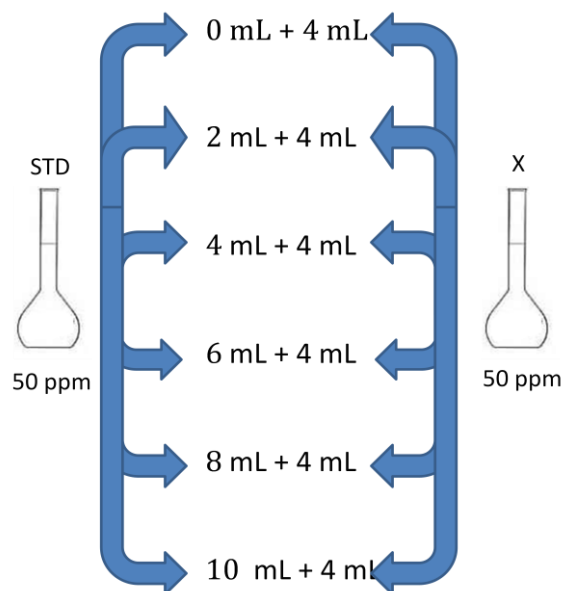
$$\frac{25\text{mg de loratadina}}{10\text{ ml}} \times \frac{10\text{ ml}}{500\text{ ml}} = 50\text{ppm}$$

El mismo procedimiento se lleva a cabo para la solución oral y para las tabletas con solo Loratadina, tomando la muestra equivalente a 25 mg de Loratadina.

## B. PREPARACION DE LAS TRES TECNICAS DE CURVA DE ADICION

- Técnica 1: Adición de muestra fija.

Una vez que se tienen las soluciones se procede a adicionar alícuotas a matraces volumétricos de 50 ml, según como se ve en la imagen:



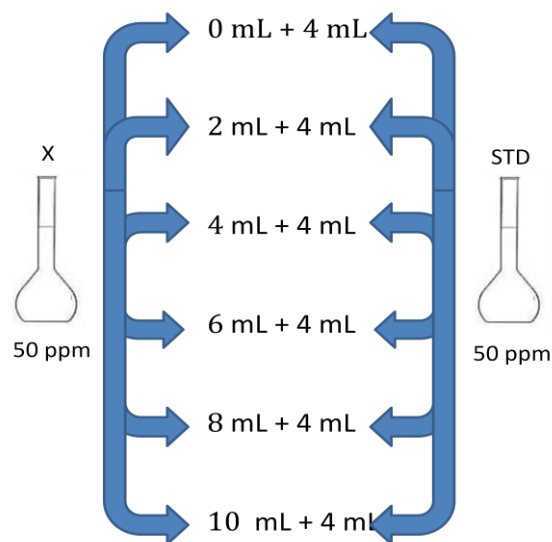
Esquema 1. Volumen de alícuotas de muestra y solución estándar a adicionar para la realización de curva de muestra fija.

Una vez preparada la curva se procede a leer en el espectrofotómetro de doble haz a una longitud de 280 nm.

Los datos obtenidos son procesados con regresión lineal, buscando la X testada y sustituyendo en las formulas correspondientes al método (página 10) para obtener el contenido por tableta de Loratadina; llevando a cabo este método por triplicado.

- Técnica 2: Adición de estándar fijo.

En este método se lleva a cabo el mismo procedimiento para la preparación de la muestra y el estándar pero se modifica el volumen de adición, tal y como se observa a continuación:



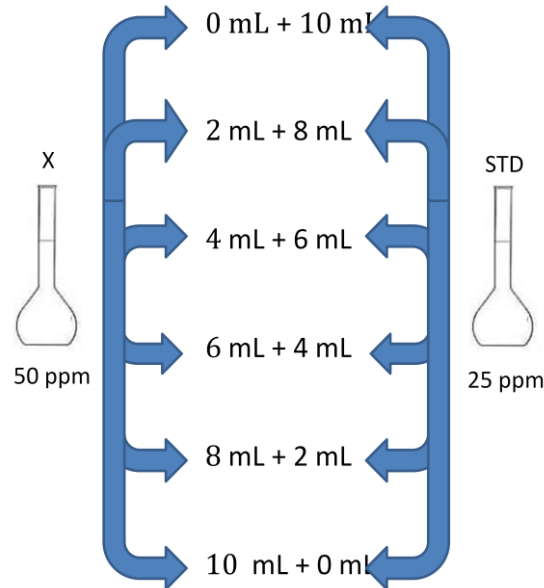
Esquema 2. Volumen de alicuotas de muestra y solución estándar a adicionar para la realización de curva de estándar fija.

Una vez preparada la curva se procede a leer en el espectrofotómetro de doble haz a una longitud de 280 nm.

Los datos obtenidos son procesados con regresión lineal y buscando la X testada y sustituyendo en las formulas correspondientes al método (página 10) para obtener el contenido por tableta de Loratadina.

- Técnica 3: Volúmenes variables de estándar y muestra a un volumen final constante.

Una vez que se tienen las soluciones se procede a adicionar las alícuotas en vasos de precipitado de 100 mL, según como se ve en la imagen:



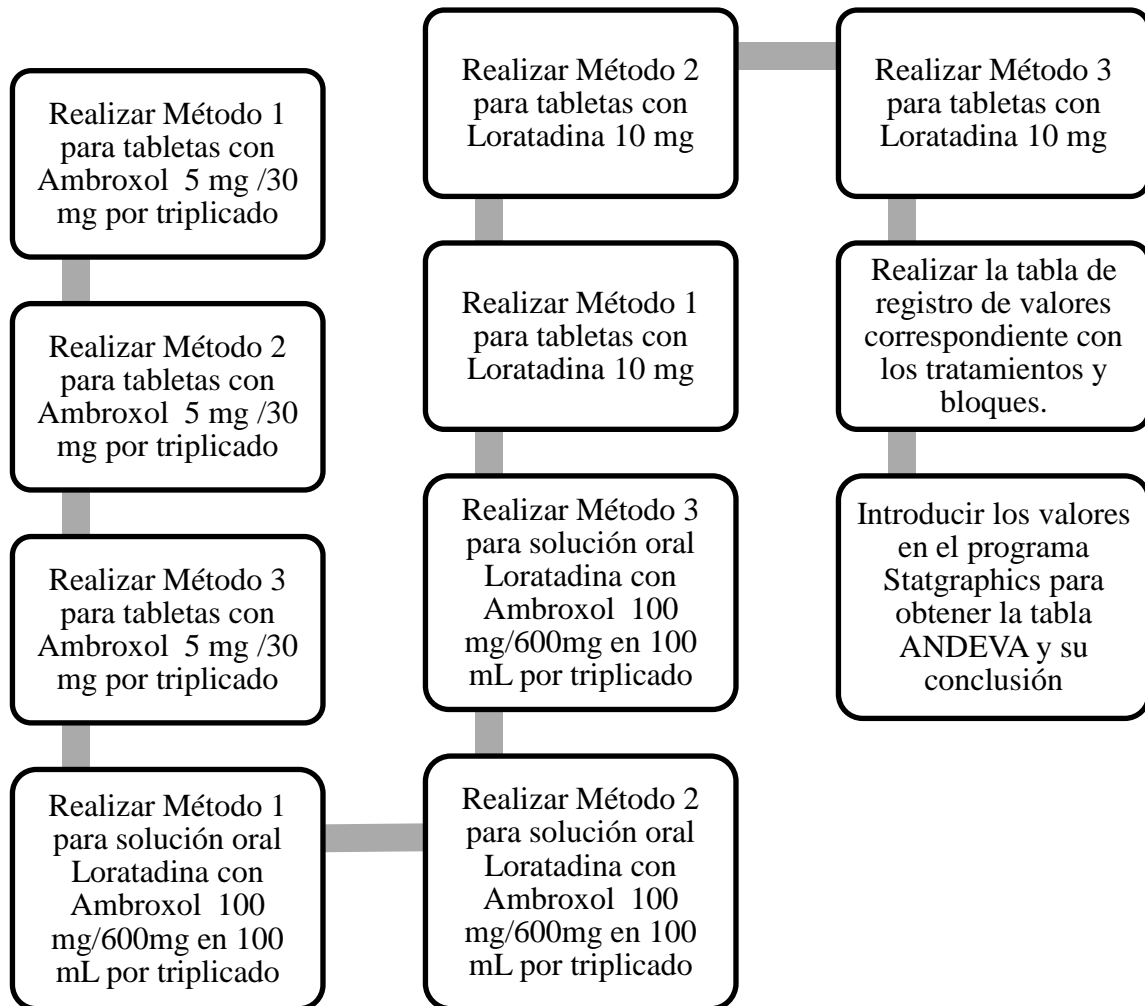
Esquema 3. Volumen de alícuotas de muestra y solución estándar a adicionar para la realización de curva de volúmenes variables.

Una vez preparada la curva se procede a leer en el espectrofotómetro de doble haz a una longitud de 280 nm.

Los datos obtenidos son procesados con regresión lineal y buscando la X testada y sustituyendo en las formulas correspondientes al método (página 11) para obtener el contenido por tableta de Loratadina.

El mismo procedimiento se lleva a cabo para la solución oral y para las tabletas con solo Loratadina, tomando la muestra equivalente a 25 mg de Loratadina.

## VIII. DIAGRAMA DE FLUJO





## IX. DISEÑO EXPERIMENTAL

A continuación se muestran las tablas guías en las cuales se realiza el registro de los valores obtenidos para la lectura de las curvas para las tres técnicas, cada una por triplicado para las tres presentaciones farmacéuticas.

**Tabla guía 1. Para el registro de los resultados de porcentaje de contenido y su posterior análisis estadístico.**

	<b>Tabletas (L/A)</b>	<b>Solución oral (L/A)</b>	<b>Tabletas (L)</b>
<b>Técnica 1</b>	Repetición 1 (%)	Repetición 1 (%)	Repetición 1 (%)
	Repetición 2 (%)	Repetición 2 (%)	Repetición 2 (%)
	Repetición 3 (%)	Repetición 3 (%)	Repetición 3 (%)
<b>Técnica 2</b>	Repetición 1 (%)	Repetición 1 (%)	Repetición 1 (%)
	Repetición 2 (%)	Repetición 2 (%)	Repetición 2 (%)
	Repetición 3 (%)	Repetición 3 (%)	Repetición 3 (%)
<b>Técnica 3</b>	Repetición 1 (%)	Repetición 1 (%)	Repetición 1 (%)
	Repetición 2 (%)	Repetición 2 (%)	Repetición 2 (%)
	Repetición 3 (%)	Repetición 3 (%)	Repetición 3 (%)

**Tabla guía 2. Para el registro de los resultados de pendientes y su posterior análisis estadístico.**

	<b>Tabletas (L/A)</b>	<b>Solución oral (L/A)</b>	<b>Tabletas (L)</b>
<b>Técnica 1</b>	Repetición 1 (m)	Repetición 1 (m)	Repetición 1 (m)
	Repetición 2 (m)	Repetición 2 (m)	Repetición 2 (m)
	Repetición 3 (m)	Repetición 3 (m)	Repetición 3 (m)
<b>Técnica 2</b>	Repetición 1 (m)	Repetición 1 (m)	Repetición 1 (m)
	Repetición 2 (m)	Repetición 2 (m)	Repetición 2 (m)
	Repetición 3 (m)	Repetición 3 (m)	Repetición 3 (m)
<b>Técnica 3</b>	Repetición 1 (m)	Repetición 1 (m)	Repetición 1 (m)
	Repetición 2 (m)	Repetición 2 (m)	Repetición 2 (m)
	Repetición 3 (m)	Repetición 3 (m)	Repetición 3 (m)

**Tabla guía 3. Para el registro de los resultados de coeficientes de determinación y su posterior análisis estadístico.**

	<b>Tabletas (L/A)</b>	<b>Solución oral (L/A)</b>	<b>Tabletas (L)</b>
<b>Técnica 1</b>	Repetición 1 ( $r^2$ )	Repetición 1 ( $r^2$ )	Repetición 1 ( $r^2$ )
	Repetición 2 ( $r^2$ )	Repetición 2 ( $r^2$ )	Repetición 2 ( $r^2$ )
	Repetición 3 ( $r^2$ )	Repetición 3 ( $r^2$ )	Repetición 3 ( $r^2$ )
<b>Técnica 2</b>	Repetición 1 ( $r^2$ )	Repetición 1 ( $r^2$ )	Repetición 1 ( $r^2$ )
	Repetición 2 ( $r^2$ )	Repetición 2 ( $r^2$ )	Repetición 2 ( $r^2$ )
	Repetición 3 ( $r^2$ )	Repetición 3 ( $r^2$ )	Repetición 3 ( $r^2$ )
<b>Técnica 3</b>	Repetición 1 ( $r^2$ )	Repetición 1 ( $r^2$ )	Repetición 1 ( $r^2$ )
	Repetición 2 ( $r^2$ )	Repetición 2 ( $r^2$ )	Repetición 2 ( $r^2$ )
	Repetición 3 ( $r^2$ )	Repetición 3 ( $r^2$ )	Repetición 3 ( $r^2$ )

ANDEVA

$H_0$ = No existe diferencia significativa entre los métodos de adición de estándar, ni en la presentación farmacéutica.

$H_a$ = Existe diferencia significativa entre los métodos de adición de estándar y en la presentación farmacéutica.

Nivel de significación:  $\alpha=0.05$

Fuente	g. l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	
Método	i-1	SC <sub>fila</sub>	CM <sub>fila</sub>	F <sub>fila</sub>
Forma farmacéutica	j-1	SC <sub>columna</sub>	CM <sub>columna</sub>	F <sub>columnas</sub>
Interacción	(i-1)(j-1)	SC <sub>interaccion</sub>	CM <sub>interaccion</sub>	F <sub>interacción</sub>
Subtotal	ij-1	SC <sub>subtotal</sub>	-	
Error	N-ij	SC <sub>error</sub>	CM <sub>g</sub>	
Total	N-1	SC <sub>total</sub>	-	

I=3

J=3

N=27 (numero de muestras) [para cada tabla de registro].

Si  $F_{cal} > F_{tab}$  entonces  $H_0$  se rechaza.

## X. RESULTADOS

A continuación se muestran los resultados para tabletas loratadina con ambroxol 5mg/30mg por tres repeticiones en cada una de las técnicas utilizadas así como sus graficas comparativas; a su vez una tabla que contiene los valores de porcentaje de contenido obtenidos para esta presentación farmacéutica.

**Tabla 1. Determinación de Loratadina en tabletas Loratadina con ambroxol 5mg/30mg, primera repetición.**

	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Vol.	ABS	ABS	ABS
0	0.2702	0.1902	0.7152
2	0.3212	0.2762	0.9462
4	0.3612	0.3232	1.1652
6	0.4052	0.4482	1.3822
8	0.4542	0.5302	1.6022
10	0.5012	0.6082	1.8212
b=	0.0228	0,0425	0.1102
r2=	0.9991	0.9909	0.9999
$\hat{x}$	-11.8728	-4.2275	-6,5405

**Tabla 2. Determinación de Loratadina en tabletas Loratadina con ambroxol 5mg/30mg, segunda repetición.**

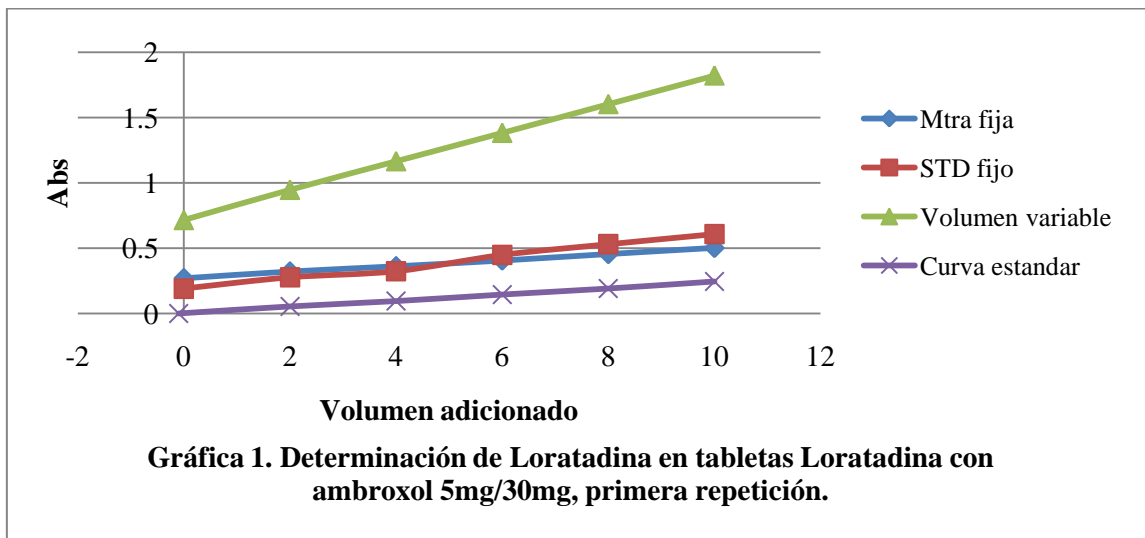
	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Vol.	ABS	ABS	ABS
0	0.2692	0.1952	0.7082
2	0.3192	0.2842	0.9502
4	0,3632	0.3612	1.1622
6	0.4112	0.4522	1.3812
8	0.4642	0.5322	1.6032
10	0.5142	0.6222	1.8262
b=	0.0244	0.0424	0.1110
r2=	0.9993	0.9996	0.9998
$\hat{x}$	-10.9808	-4.6093	-6.4584

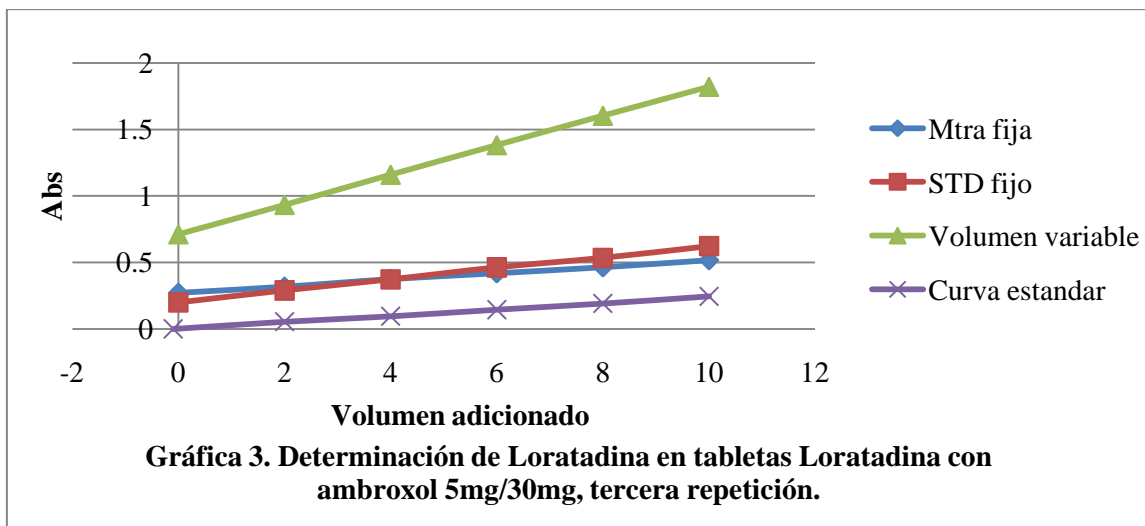
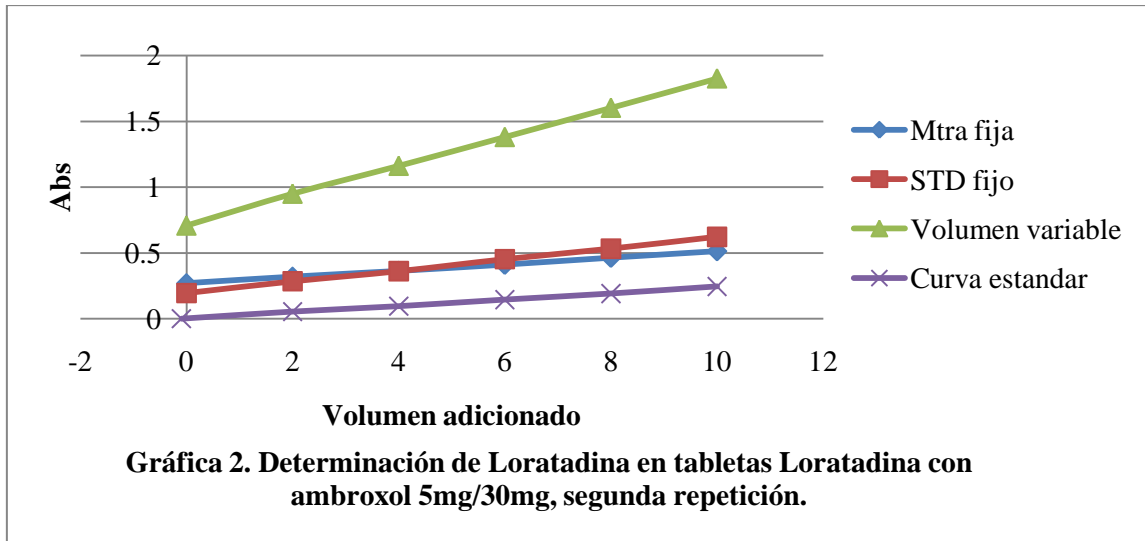
**Tabla 3. Determinación de Loratadina en tabletas Loratadina con ambroxol 5mg/30mg, tercera repetición.**

	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Vol.	ABS	ABS	ABS
0	0.2722	0.1982	0.7122
2	0.3182	0.2892	0.9332
4	0.3752	0.3722	1.1602
6	0.4192	0.4622	1.3832
8	0.4642	0.5342	1.6042
10	0.5172	0.6222	1.8222
b=	0.0244	0.0421	0.1112
r2=	0.9988	0.9992	0.99996
$\bar{x}$	-11.1532	-4.8092	-6.4103

**Tabla 4. Determinación de porcentaje de contenido de Loratadina en tabletas Loratadina con ambroxol 5mg/30mg.**

	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Repet.1	33.69%	97.45%	27.23%
Repet.2	36.42%	89.37%	28.23%
Repet.3	35.86%	85.66%	28.83%





A continuación se muestran los resultados para solución oral de loratadina con ambroxol 100mg/600mg en 100 ml por tres repeticiones en cada una de las técnicas utilizadas así como sus graficas comparativas; a su vez una tabla que contiene los valores de porcentaje de contenido obtenidos para esta presentación farmacéutica.

**Tabla 5. Determinación de Loratadina en Solución oral Loratadina con Ambroxol 100 mg/600mg en 100 mL, primera repetición.**

	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Vol.	ABS	ABS	ABS
0	0.2562	0.1982	0.6902
2	0.3102	0.2812	0.9542
4	0.3582	0.3502	1.1992
6	0.4082	0.4182	1.343
8	0.4562	0.4982	1.7072
10	0.5082	0.5742	1.9282
b=	0.0250	0.0371	0.1228
r2=	0.9997	0.9992	0.9915
$\hat{x}$	-10.3282	-5.4067	-5.5302

**Tabla 6. Determinación de Loratadina en Solución oral Loratadina con Ambroxol 100 mg/600mg en 100 mL, segunda repetición.**

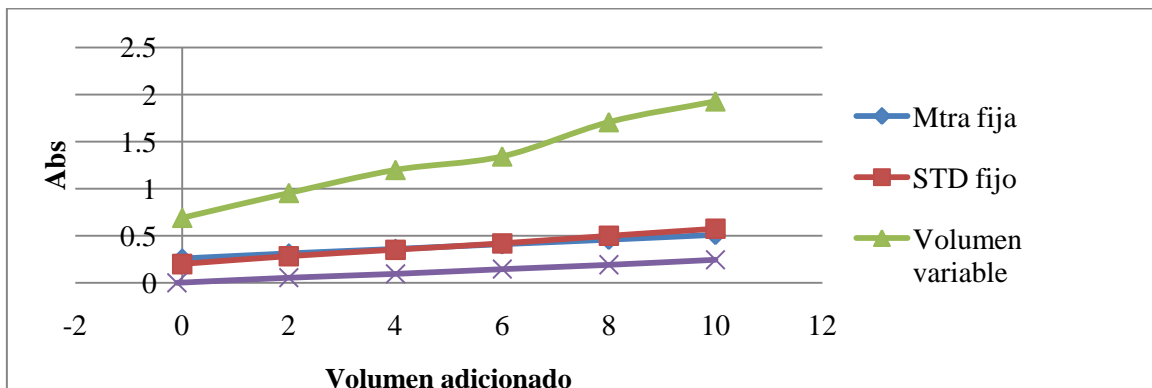
	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Vol.	ABS	ABS	ABS
0	0.2542	0.2002	0.6912
2	0.3032	0.2812	0.9492
4	0.3432	0.3522	1.2012
6	0.3962	0.4042	1.4542
8	0.4452	0.4902	1.6902
10	0.4992	0.5842	1.9282
b=	0.0243	0.0371	0.1237
r2=	0.9983	0.9936	0.9997
$\hat{x}$	-10.3192	-5.3130	-5.6573

**Tabla 7. Determinación de Loratadina en Solución oral Loratadina con Ambroxol 100 mg/600mg en 100 mL, tercera repetición.**

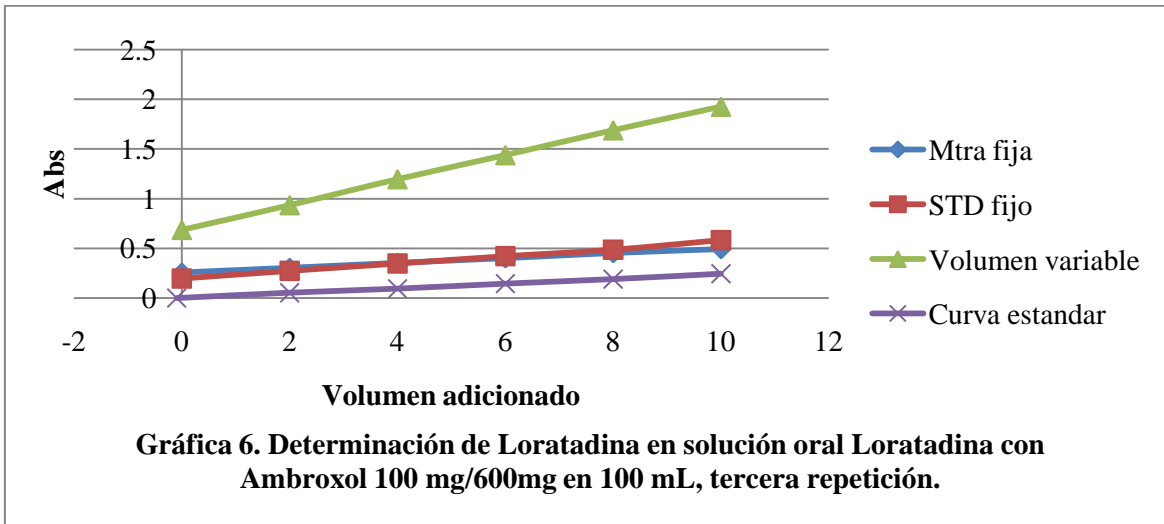
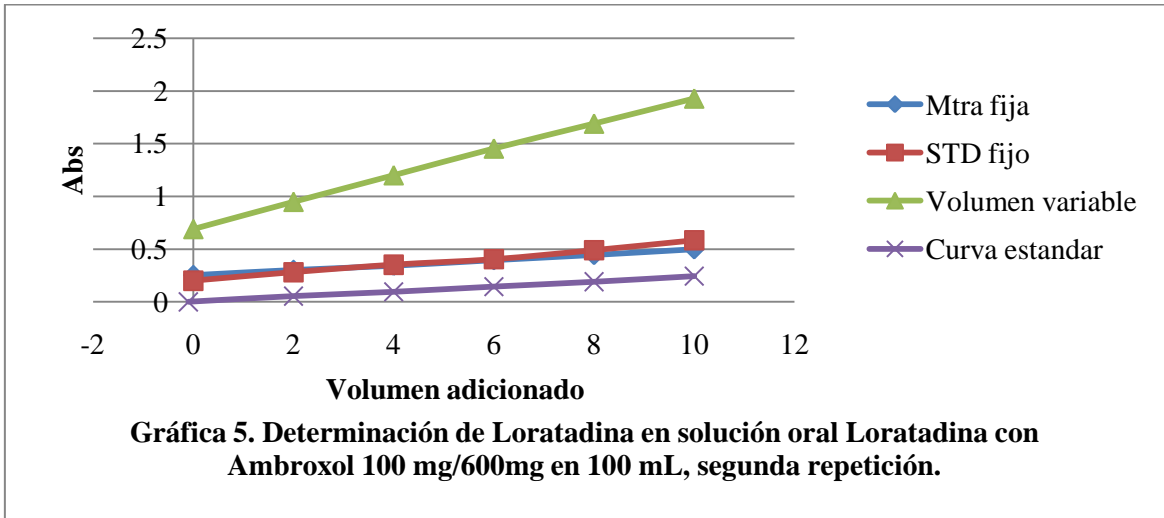
	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Vol.	ABS	ABS	ABS
0	0.2572	0.1982	0.6882
2	0.3042	0.2752	0.9362
4	0.3542	0.3482	1.1972
6	0.4022	0.4222	1.4392
8	0.4542	0.4872	1.6892
10	0.4942	0.5842	1.9262
b=	0.0240	0.0377	0.1242
r2=	0.9991	0.9976	0.9998
$\bar{x}$	-10.6957	-5.2063	-5.5711

**Tabla 8. Determinación de porcentaje de contenido de Loratadina en solución oral Loratadina con Ambroxol 100 mg/600mg en 100 mL.**

	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Repet.1	38.73%	74.23%	40.70%
Repet.2	38.76%	75.54%	38.66%
Repet.3	37.40%	77.09%	40.03%



**Gráfica 4. Determinación de Loratadina en solución oral Loratadina con Ambroxol 100 mg/600mg en 100 mL, primera repetición.**





A continuación se muestran los resultados para tabletas loratadina 5mg por tres repeticiones en cada una de las técnicas utilizadas así como sus graficas comparativas; a su vez una tabla que contiene los valores de porcentaje de contenido obtenidos para esta presentación farmacéutica.

**Tabla 9. Determinación de Loratadina en tabletas Loratadina 5mg, primera repetición.**

	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Vol.	ABS	ABS	ABS
0	0.2922	0.1962	0.3792
2	0.3372	0.2852	0.5542
4	0.3902	0.3922	0.7152
6	0.4332	0.4882	0.8672
8	0.4832	0.5772	1.0372
10	0.5252	0.6682	1.1982
b=	0.0235	0.0476	0.0814
r2=	0.9992	0.9992	0.9997
$\wedge x$	-12.4305	-4.1216	-4.7287

**Tabla 10. Determinación de Loratadina en tabletas Loratadina 5mg, segunda repetición.**

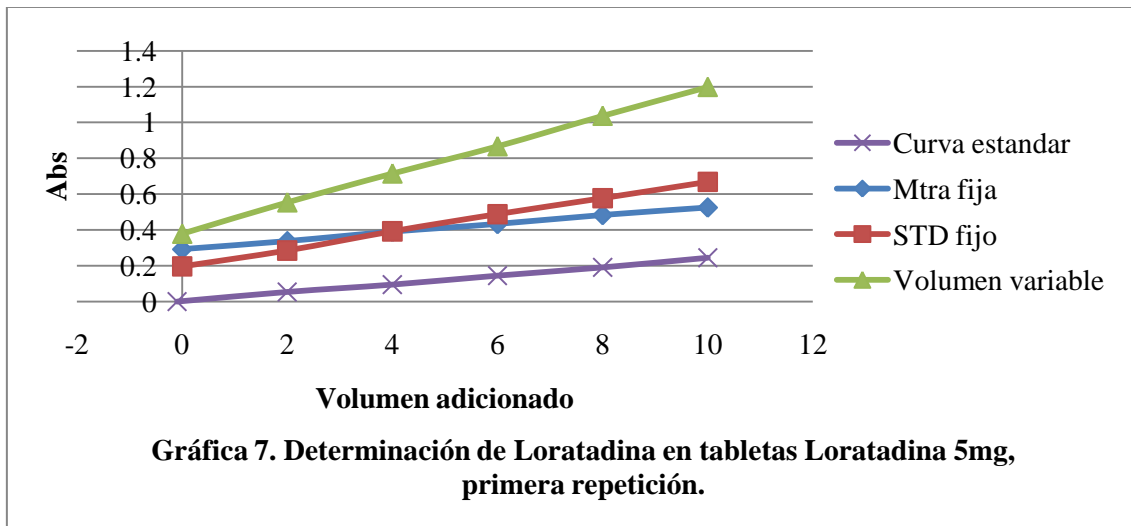
	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Vol.	ABS	ABS	ABS
0	0.2892	0.1982	0.3852
2	0.3382	0.2932	0.5512
4	0.3862	0.3902	0.7032
6	0.4382	0.4832	0.8572
8	0.4832	0.5892	1.0412
10	0.5312	0.6702	1.2052
b=	0.0242	0.0477	0.0818
r2=	0.9997	0.9993	0.9992
$\wedge x$	-11.9504	-4.1571	-4.6600

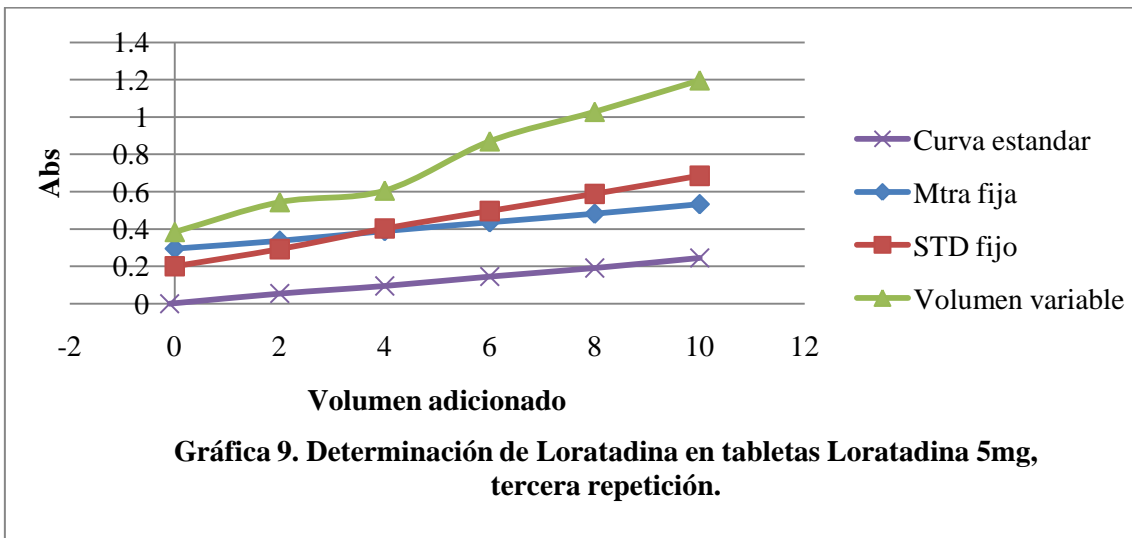
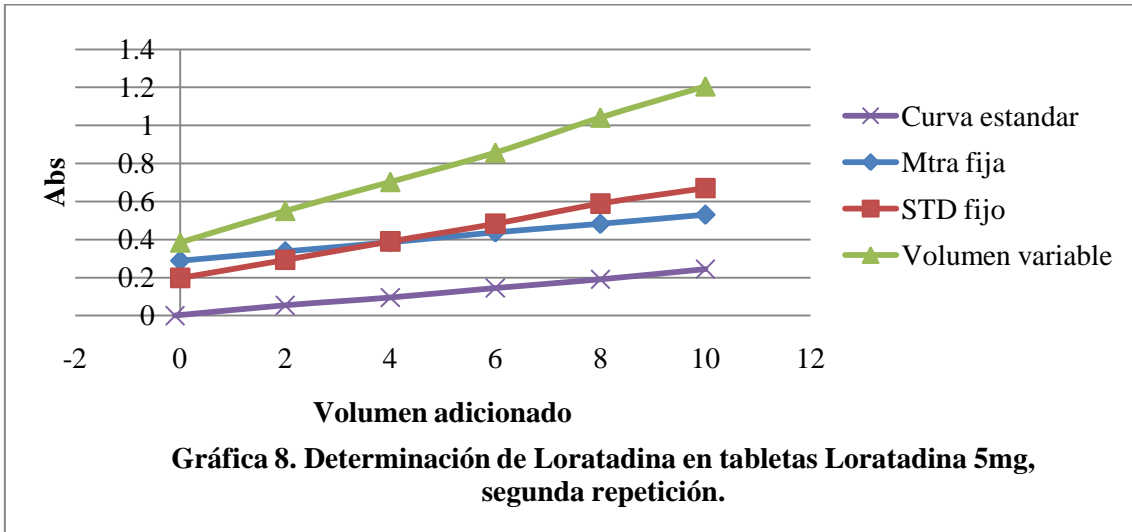
**Tabla 11. Determinación de Loratadina en tabletas Loratadina 5mg, tercera repetición.**

	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Vol.	ABS	ABS	ABS
0	0.2952	0.2002	0.3842
2	0.3372	0.2922	0.5442
4	0.3892	0.4022	0.606
6	0.4362	0.4962	0.8702
8	0.4822	0.5882	1.0282
10	0.5332	0.6852	1.1972
b=	0.0239	0.0487	0.0826
r2=	0.9994	0.9994	0.9826
$\hat{x}$	-12.2472	-4.1175	-4.1810

**Tabla 12. Determinación de porcentaje de contenido de Loratadina en tabletas Loratadina 5 mg.**

	Mtra. fija	STD fijo	Volúmenes variables
Repet.1	32.17%	97.86%	27.76%
Repet.2	33.46%	97.02%	28.54%
Repet.3	32.65%	97.96%	34.66%

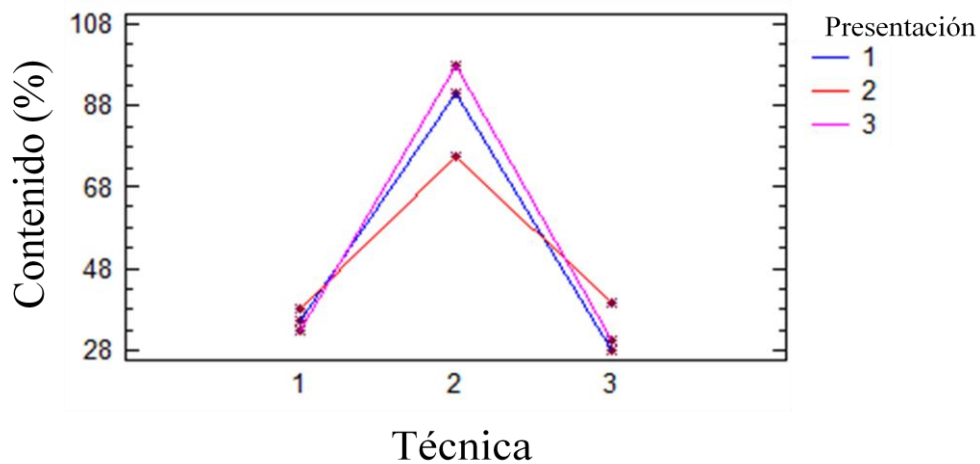




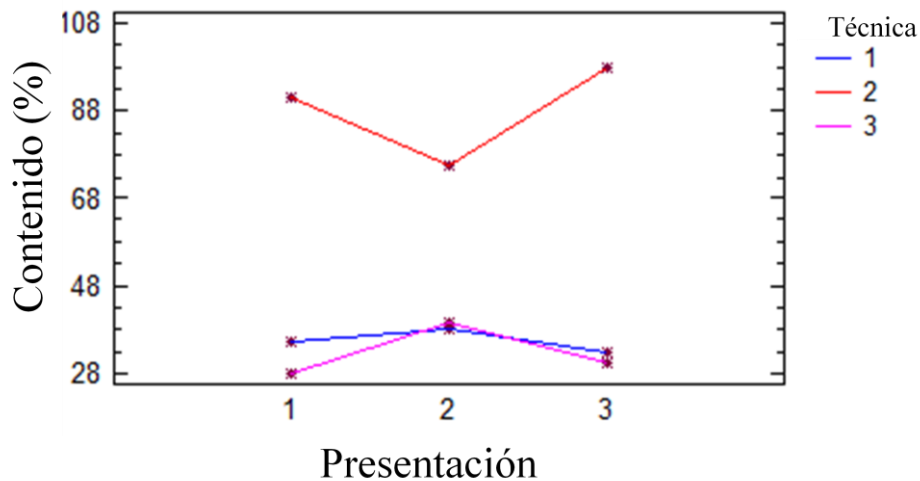
**Tabla 13. Análisis de varianza para la determinación de porcentaje de contenido de Loratadina.**

Fuente	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrados medios	F-Ratio	P-value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Técnica	17478.3	2	8739.13	1361.24	0.0000
B:Presentación	30.1881	2	15.0941	2.35	0.1238
INTERACCIÓN					
AB	1008.53	4	252.132	39.27	0.0000
RESIDUAL	115.559	18	6.41996		
TOTAL	18632.5	26			

Todas las razones están contrastadas contra el error.



Gráfica 10. Interacción entre las técnicas empleadas y las presentaciones en la determinación de porcentaje de contenido.

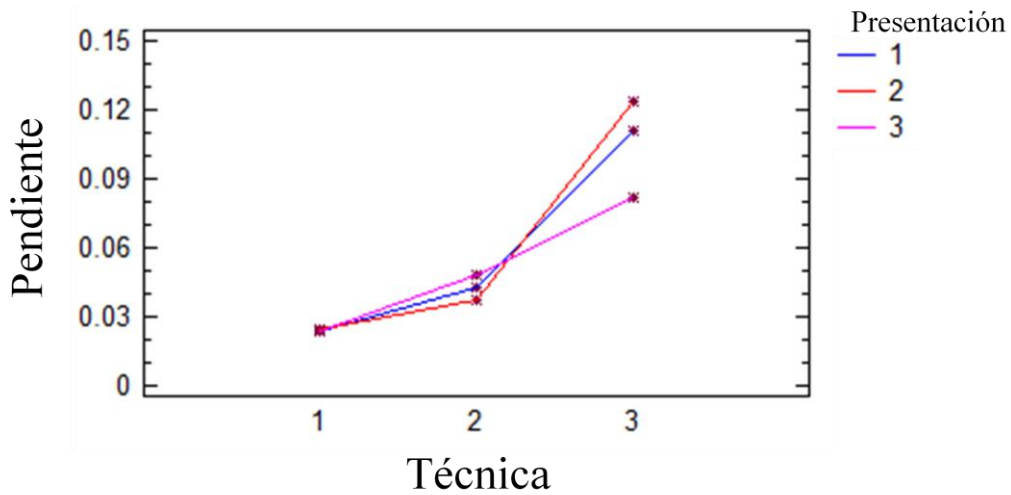


Gráfica 11. Interacción entre las presentaciones y las técnicas empleadas en la determinación de porcentaje de contenido.

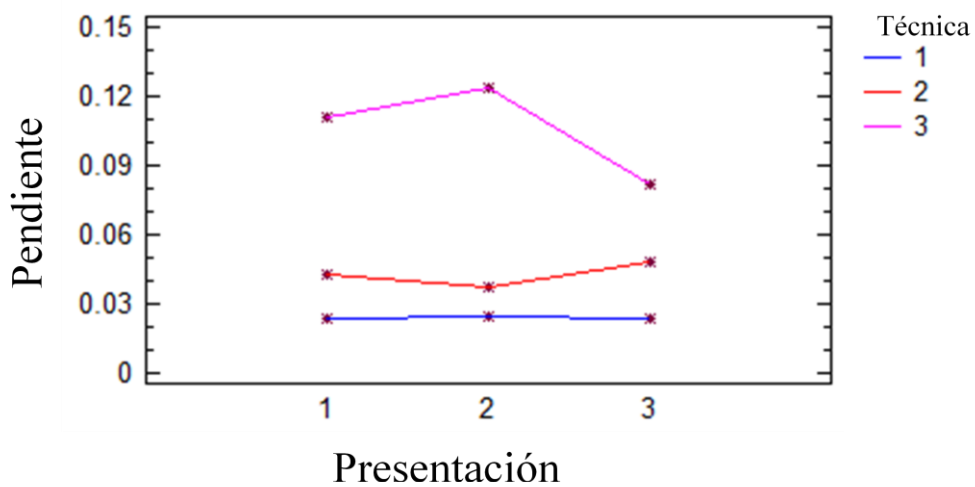
**Tabla 14. Análisis de varianza para la determinación de sensibilidad de las técnicas.**

Fuente	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrados medios	F-Ratio	P-value
EFFECTOS PRINCIPALES	0.0327576				
A:Técnica	0.0005331	2	0.0163788	50310.28	0.0000
B:Presentación	27	2	0.000266563	818.80	0.0000
INTERACCIÓN	0.0023690				
AB	6	4	0.000592264	1819.24	0.0000
RESIDUAL	0.0000058				
	6	18	3.25556E-7		
TOTAL	0.0356656	26			

Todas las razones están contrastadas contra el error.



Gráfica 12. Interacción entre las técnicas empleadas y las presentaciones en la determinación de sensibilidad.

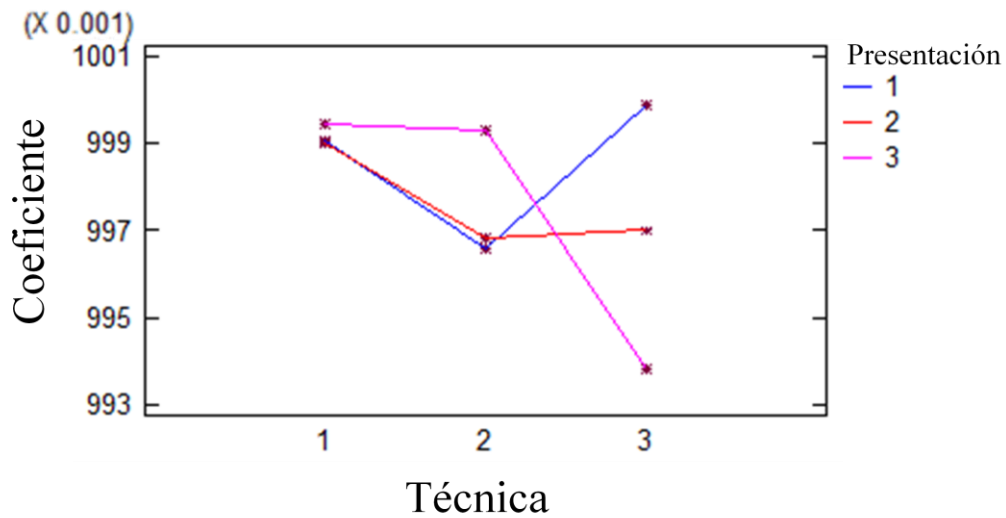


Gráfica 13. Interacción entre las presentaciones y las técnicas empleadas en la determinación de sensibilidad.

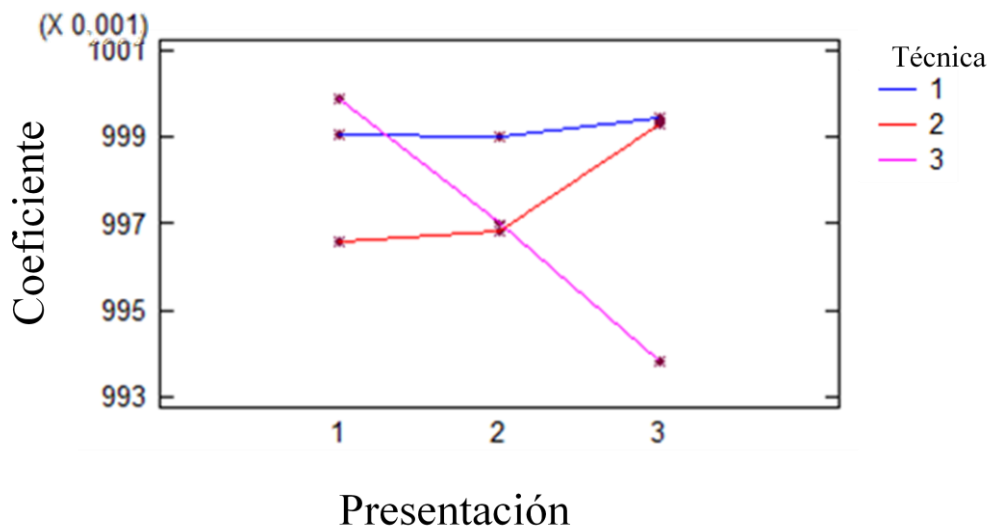
**Tabla 15. Análisis de varianza para la determinación de linealidad de las técnicas.**

Fuente	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrados medios	F-Ratio	P-value
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Técnica	0.0000245541	2	0.000012277	0.73	0.4937
B:Presentación	0.00000538741	2	0.0000026937	0.16	0.8524
INTERACCIÓN					
AB	0.0000639259	4	0.0000159815	0.96	0.4552
RESIDUAL	0.000300953	18	0.0000167196		
TOTAL	0.000394821	26			

Todas las razones están contrastadas contra el error.



Gráfica 14. Interacción entre las técnicas empleadas y las presentaciones en la determinación de linealidad.



Gráfica 15. Interacción entre las presentaciones y las técnicas empleadas en la determinación de linealidad.

## **XI. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

Se desarrollaron tres diferentes técnicas del método de curva de adición: estándar fijo, muestra fija y volúmenes variables. A su vez se realizó una curva estándar, obteniendo de esta un valor de X testada, es decir una concentración de Loratadina que fue restada a cada uno de los valores registrados de absorbancia, para corregir así el error obtenido.

Los datos de absorbancias obtenidos en la lectura fueron tratados con Microsoft Office Excel para la obtención de  $r^2$ , m y porcentaje de contenido; a su vez estos fueron tratados con Statgraphics 5.0 para obtener estudio por ANDEVA.

De los datos obtenidos se realizaron graficas de comparación entre técnicas por cada presentación farmacéutica utilizada. Se obtuvieron porcentos de contenido, pendientes y coeficientes de determinación (27 en total de cada uno) con los cuales se realizaron tablas de análisis de varianza para sensibilidad, linealidad y porcentaje de contenido con la finalidad de conocer su interacción y los factores de los que depende cada determinación y técnica.

Los datos obtenidos para la técnica tres, presentan los mayores valores de absorbancia pues no hay dilución, aunque en la técnica dos, es donde se presenta un rango mayor, pues aunque inician con un valor más bajo con respecto a la técnica uno, son los que terminan más altos con respecto al mismo, lo cual nos indica que la técnica tres es aquella que nos registra un porcentaje de contenido más bajo, y que la técnica uno presenta una mejor uniformidad, debido a que la muestra permanece constante, evitando un error de concentración no conocida. Las pendientes de las tres técnicas para cada presentación son semejante, lo que nos indica una sensibilidad similar y buena linealidad; a su vez los coeficientes de determinación y la x testada presentan una misma tendencia y un rango muy similar en el registro de valores, tal y como se observa en las tablas de la 1 a la 3, 5 a la 7 y 9 a la 11.

Es interesante observar que la técnica dos, registra un mayor porcentaje de contenido para las tabletas y solución oral, y la técnica tres con menor por ciento, como se observa en las tablas 4, 8 y 12; lo cual se atribuye principalmente a la variabilidad que se

presenta en la técnica tres, pues no se maneja una adición de alícuotas con material volumétrico, es decir no se realizan diluciones, si no que la mezcla se lleva a cabo en vasos de precipitados y con buretas que pueden no estar correctamente calibradas y llevarnos a un error. Además en la técnica dos se mantiene constante la solución estándar, lo que permite una curva con concentraciones crecientes mas específica.

En cuanto al impacto que tiene el efecto de matriz, la técnica uno es la menos afectada, pues su curva se encuentra más paralela a la curva estándar desarrollada. La técnica tres de volumen variable es aquella que refleja un mayor impacto, considerando que su curva se encuentra más perpendicular o inclinada con respecta a la estándar, como se observa en las graficas 1 a la 9, lo que se atribuye a la falta de dilución, si no hay medio un medio basto no se podrá representar correctamente el efecto de matriz. En estas también se puede observar el factor de corrección que se obtuvo por la curva estándar y el cual se aplico a todos los datos de absorbancia obtenidos.

Para estudiar las interacciones existentes en la determinación de los porcentajes de contenido, se realizó el análisis de varianza para los 27 datos obtenidos de las tres técnicas con sus tres repeticiones por cada presentación farmacéutica, mismas que se presenta en la tabla 13, en la cual podemos observar según los valores de P-value que hay efecto de la técnica y de la interacción de esta con la presentación pues su valor es menor a 0.05. Por otro lado se encuentra que la presentación farmacéutica, como factor de estudio, no causa efecto directo en el estudio.

La interacción como la que se presenta en la grafica 10, nos indica que la técnica dos presenta un mayor porciento de contenido para las tres presentaciones farmacéuticas y por lo tanto presenta un menor efecto de matriz, pues se ha representado de una mejor manera la dilución del medicamento facilitando su determinación.

En el grafico 11 se observa que para una presentación liquida como la solución oral la cuantificación es más fácil que en un sólido como las tabletas pues se observa en la grafica que la presentación tres, tabletas de loratadina, es la que tiene un mayor porciento de contenido, lo cual se atribuye a que el principio activo se encuentra solo acompañado de excipientes y no otro como el ambroxol. Las técnicas uno y tres,



muestra fija y volúmenes variables respectivamente, registran un menor porcentaje de contenido, lo que pudo deberse a las serie de diluciones que se realiza en ambas técnicas. Los mejores resultados para porcentaje de contenido son dados en la técnica dos, estándar fijo, para la presentación 3 tabletas de loratadina, según se observa en el grafico 11, pues el punto para esta técnica con esta presentación es el más alto en el grafico de interacción.

Para evaluar la sensibilidad de las técnicas, se presenta el análisis de varianza realizado con las pendientes obtenidas de las curvas, en el cual podemos interpretar que existe un efecto significativo de la técnica, la presentación y la interacción de ambas, pues para cada uno de los valores de P- value es del 0.0000. Gracias al valor de F-ratio podemos observar que la técnica, como factor, es la que presenta un efecto más grande en el estudio pues su valor es 60 veces mayor al de la presentación. Estos valores los podemos observar en la tabla 14; la posible causa es que la sensibilidad depende directamente de la técnica utilizada para cada presentación, es decir, no se puede utilizar cualquier técnica si se desea una sensibilidad alta para cierta presentación farmacéutica.

En la gráfica 12 se observa, según la interacción, que la técnica tres es aquella que presenta una mayor sensibilidad durante el estudio, y la técnica uno es aquella que presenta menor, similar a la técnica dos.

En la grafica 13 se observa que la técnica con mayor homogeneidad es la técnica uno, es decir que se tiene una mayor semejanza entre los valores obtenidos durante las repeticiones, seguida por la técnica dos y por último la tres. La presentación dos es a su vez la más sensible.

El coeficiente de determinación de las rectas, nos permite evaluar la linealidad de los sistemas utilizados, y en la tabla 15 se tiene el análisis de varianza elaborado para los valores de dichos coeficientes para todas las curvas realizadas, el cual nos indica que ni el factor técnica, el factor presentación, o el factor interacción, tienen un efecto significativo, pues su valor de P-value es en todos los casos mayor a 0.05.

En la grafica 14 se observa que para la presentación tabletas de Loratadina con ambroxol, la linealidad depende mucho de la técnica utilizada pero la mejor es la técnica tres volúmenes variables; para la presentación dos lo es la técnica uno muestra

fija, y para la presentación tres la técnica dos estándar fijo es la mejor, pues es la más constante.

La linealidad para la técnica uno es mejor, y para la técnica tres es la más dispersa, como se demuestra en la grafica 15. La linealidad más alta, es decir, con menor error, es para la presentación uno tabletas de loratadina con ambroxol con la técnica tres volúmenes variables. Así mismo, se puede observar que la variable de respuesta linealidad del método, se favorece cuando el fármaco a cuantificar se encuentra sólo, como se evalúa en lo registrado para la técnica uno y dos.

## **XII. CONCLUSIONES**

Técnica 1: Muestra fija.

- Ventajas.
  - Presenta la mejor linealidad así como la mejor homogeneidad.
  - La presentación solución oral de loratadina, así como tabletas de loratadina presentan una mejor linealidad con esta técnica
- Desventajas
  - Tiene un bajo registro de porciento de contenido.

Técnica 2: Estándar fijo.

- Ventajas
  - Presenta un mayor registro en el porcentaje de contenido con respectos a la técnica uno y técnica tres.
  - Para las presentación tabletas de loratadina con ambroxol y solución oral de loratadina con ambroxol presenta un mayor porcentaje de contenido
- Desventajas
  - Tiene una baja linealidad, sin embargo no es mala comparada con la técnica 3 volúmenes variables.

Técnica 3: Volúmenes variables.

- Ventajas
  - Presenta la mejor sensibilidad
  - Para la presentación de tabletas de loratadina con ambroxol presenta mayor sensibilidad con respecto a las otras dos presentaciones.
  
- Desventajas:
  - Tiene un bajo registro de porcentaje de contenido así como una baja linealidad.

La hipótesis antes planteada es válida debido a que las diferentes técnicas de curva de adición no presentan una diferencia significativa, en ellas se obtiene una misma tendencia y siempre valores válidos para la cuantificación de un medicamento, sin embargo se tiene que tomar en cuenta los factores que se deseen observar en un análisis, es decir si se desea centrarse en comprobar una mayor sensibilidad en el equipo o a tener una mayor linealidad en el registro de datos si es así, tomar en cuenta las ventajas y desventajas antes obtenidas para cada uno de las técnicas.

### **XIII. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS**

- Se recomienda realizar el estudio con otro fármaco y sus respectivas presentaciones farmacéuticas; las distintas técnicas con el mismo fármaco o bien otra técnica y otro fármaco para tener una visión más amplia de las ventajas y desventajas de este método.
  
- A su vez se recomienda validar las técnicas de este método.

#### **XIV. LISTA DE REFERENCIAS CONSULTADAS.**

- (1) Harris D. Análisis químico cuantitativo. 3ª ed. España: Reverté; 2007.
- (2) Pérez F A, Velásquez M G. Fundamentos del Análisis Farmacéutico. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 1998.
- (3) Skoog D, West D, Holler F, Crouch S. Química analítica. 8ª ed. México: Thomson; 2005.
- (4) Thomas M. Ultraviolet and Visible Spectroscopy. 2ª ed. England: Analytical chemistry by open learning; 1996.
- (5) Harvey D. Modern Analytical Chemistry. USA: McGraw-Hill; 2000.
- (6) Bader M. A Systematic Approach to Standard Addition Methods in Instrumental Analysis. Journal of Chemical Education. 1980; 57 (10): 703-706.
- (7) Blanchard R, Loeb S. 2002 Drug handbook. USA: Blanchard & Loeb Publishers; 2002.
- (8) Gennaro A. Remington Farmacia. 20ª ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2003.
- (9) Moffat A, Osselton M, Widdop B. Clarke's Analysis of Drug and Poisons. Volumen I y II. 3ª ed. Great Britain: Pharmaceutical Press; 2004.
- (10) Reyes M A. PLM Diccionario de especialidades farmacéuticas. 51ª ed. México: Thomson; 2005.
- (11) Sweetman S. Martindale The Complete Drug Reference. 35ª ed. China: Pharmaceutical Press; 2007.
- (12) Devore J. Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias. 5ª ed. México: Thomson; 2001.
- (13) Marques de Cantú M J. Probabilidad y estadística para ciencias químico-biológicas. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 1988.

- (14) Freund M. Estadística matemática con aplicaciones. 6ª ed. México: Prentice Hall; 2000.
- (15) Dávila T, Marques dos Santos M J, López Reynoso J M. Cuaderno de Problemas de Probabilidad y Estadística. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2005.
- (16) NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas. Diario Oficial de la Federación, 26 de enero de 1998.
- (17) Ayres G H. Análisis Químico Cuantitativo. 2ª ed. Madrid: Harla; 1970.
- (18) Bermejo F. Química Analítica General cuantitativa e instrumental. Volumen I y II. 7ª ed. Madrid: Paraninfo; 1991.
- (19) Day R, Underwood A. Química Analítica Cuantitativa. 5ª ed. México: Prentice – Hall; 1999.
- (20) Dick J G. Química analítica. México: El Manual Moderno; 1979.
- (21) Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 9ª ed. Volumen I y II. México: Secretaría de salud; 2008.
- (22) Flaschka H A. Química Analítica Cuantitativa. Volumen I y II. México: Editorial continental SA; 1980.
- (23) Fritz J S. Química Analítica Cuantitativa. México: Limusa; 1979.
- (24) Knevel A M, Digangi F E. Jenkins quantitative pharmaceutical chemistry. 7ª ed. USA: Mc Graw-Hill; 1977.
- (25) Orozco D. Análisis Químico Cuantitativo. México: Porrúa; 1981.
- (26) The Merck Index. 20<sup>th</sup> ed. USA: Editorial Merck and Co. Inc.; 1996.
- (27) United States Pharmacopeia Convention. USP XXX. United States Pharmacopoeia. 30<sup>th</sup> ed. Rockville: Mark electronic; 2007

(28) Moreno A, López J. Teoría de los Orbitales Moleculares [Internet]. Córdoba. [Consultado el: 6 de agosto de 2010]. Disponible en: [http://rabfis15.uco.es/weiqo/Tutorial\\_weiqo/Hoja8P1.html](http://rabfis15.uco.es/weiqo/Tutorial_weiqo/Hoja8P1.html)

(29) García Gabriel. Loratadina, 20 años en México de este antihistamínico para el control de alergias. Diario de la salud, Medicina Digital [Internet] 2008 [Consultado el: 6 de agosto de 2010]. Disponible en: <http://www.medicinadigital.com/index.php/medicamentos/9612-loratadina-20-aen-mco-de-este-antihistamco-para-el-control-de-alergias.html>

(30) Larsen, I. Hartmann, N, A. Estimating precision for the method of standard additions. Analytical Chemistry. 1973; Vol. 45 (8): 1511-1513.

(31) Marque Dos Santos, M. J., Cervantes, A. Diseño de experimentos, Curso practico. México: Proyecto PAPIME EN216403 y EN203503. Universidad Nacional Autonoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2007.

(32) International Conference On Harmonisation (ICH) of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. ICH Harmonized Tripartite Guideline. Q2 (R1): Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, 2005.

(33) U.S. Department of Health and Human Services. Guidance of Industry Bioanalytical Method Validation. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). [Internet] 2001 [Consultado el: 6 de agosto de 2010]. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070107.pdf>.

(34) NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2006, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos. Diario Oficial de la Federación, 26 de Enero de 1998.